SKRIPSI

DETEKSI *Gardnerella vaginalis* PADA WANITA MENOPAUSE MENGGUNAKAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Diajukan sebagai syarat dalam meraih Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr.Kes) pada Program studi Diploma Empat (D-IV) Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky

THERESYA SIKTEUBUN
B1D120007

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2026

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

"Deteksi *Gardnerella vaginalis* Pada Wanita Menopause Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)"

THERESYA SIKTEUBUN

B1D120007

Dibimbing Oleh

Pembimbing I

Dr Nirmawati Angria, S. Si., M.Kes

Pembimbing II

Ayusti Dirga, S.Si., M.Sc

Penguji

Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2026

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

DETEKSI *Gardnerella vaginalis* PADA WANITA MENOPAUSE MENGGUNAKAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Disusun dan diajukan oleh :

THERESYA SIKTEUBUN

Nomor Induk Mahasiswa B1D120007

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Pada tanggal 19 Agustus 2025

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Tim Penguji	**Tanda Tangan**
1. Dr Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes	(.....)
2. Ayusti Dirga, S.Si., M.Sc	(.....)
3. Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si	(.....)

Mengetahui,

Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan	Ketua Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Kesehatan
Prof. Dr. Dra. apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si	**Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes**
NUPTK: 1350727628230013	NUPTK: 6950765666230332

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)

UNIVERSITAS MEGAREZKY

SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT

Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 462 401 - 496401 Fax. 496814 Website : http://universitasmegarezky.ac.id-Email: info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN

No. 1230/T/07.091056/VIII/2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Syamsyuriyana Sabar, S.Kep., Ns., M.Kep

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Theresya Sikteubun

NIM : B1D120007

Prodi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : Deteksi *Gardnerella vaginalis* Penyebab Keputihan Pada Wanita Menopause Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 26%** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 12 Agustus 2025

Ketua,

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep

NIDN: 09 151186 02

HALAMAN PERSEMBAHAN

Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apapun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur

(Filipi 4:6)

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Diri saya sendiri yang telah bertahan dan berjuang hingga sampai di titik ini
2. Papa, Mama, Kakak & Adik yang senantiasa memberikan kasih sayang, dukungan, motivasi, usaha, semangat serta doa yang terus dipanjatkan
3. Sahabat-sahabat yang selalu mendukung, memotivasi dan menemani selama studi ini
4. Semua teman serta orang baik yang telah membantu saya baik secara langsung maupun tidak langsung selama studi ini

MOTTO

“ Dan apa saja yang kamu minta dalam doa dengan penuh kepercayaan, kamu akan menerimanya ”

(Matius 21:22)

PER MARIAM AD JESUM

CURRICULUM VITAE



Nama lengkap	: Theresya Sikteubun
NIM	: B1D120007
Tempat/Tangal Lahir	: Ambon, 03 September 2002
Agama	: Katolik
Jenis Kelamin	: Perempuan
Program Studi	: DIV Teknologi Laboratorium Medis

Nama Orang Tua

Ayah	: Wensislaus Sikteubun
Ibu	: Agustina Parera
Alamat	: jln Karel Sadsuitubun

Riwayat Pendidikan :

1. SD Naskat Ama Ori Passo
2. SMP Negeri 9 Ambon
3. SMK Negeri 6 Ambon
4. Diploma - IV Universitas Megarezky Makassar

Prinsip Hidup : Kerjakan apa yang diDoakan dan Doakanlah apa yang diKerjakan

Kesan & Pesan : Saya bangga dapat menyelesaikan skripsi ini. ini bukanlah akhir tetapi awal dari perjuangan yang lebih besar

ABSTRAK

Theresya Sikteubun, 2025. Deteksi *Gardnerella vaginalis* Pada Wanita Menopause Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dibimbing oleh **Dr. Nirmawati Angria** dan **Ayusti Dirga**

Keputihan adalah kondisi yang sering dialami oleh wanita sepanjang siklus kehidupannya mulai dari masa remaja, masa reproduksi maupun masa menopause. Menopause merupakan fase fisiologi yang ditandai dengan penurunan kadar esterogen yang berpengaruh terhadap perubahan ekosistem vagina, termasuk peningkatan risiko infeksi bakteri seperti *Gardnerella vaginalis*. *Gardnerella vaginalis* merupakan salah satu bakteri anaerob fakultatif yang sering dikaitkan dengan *bacterial vaginosis* (BV) yaitu kondisi ketidakseimbangan flora normal vagina yang ditandai dengan berkurangnya *Lactobacillus* dan meningkatnya bakteri anaerob lainnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi adanya *Gardnerella vaginalis* pada wanita menopause menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR). Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan pendekatan *cross sectionalstudy*. Pengambilan sampel pada penelitian ini di kota Ambon dan pemeriksaan sampel dilakukan di laboratorium *Hasanuddin University Medical Reaserch Center* (HUM-RC). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan dari 15 sampel swab vagina wanita menopause, ditemukan 14 (93 %) sampel positif yang di tandai dengan terbentuknya pita DNA pada ukuran 206 bp. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdeteksi bakteri *Gardnerella vaginalis* pada wanita menopause.

Kata kunci : *Gardnerella vaginalis*, Wanita Menopause, PCR

ABSTRACT

Theresya Sikteubun, 2025. *Detection of Gardnerella Vaginalis in Menopausal Women Using Polymerase Chain Reaction (PCR). Supervised by* ***Nirmawati Angria and Ayusti Dirga.***

Vaginal discharge is a common condition experienced by women throughout their life cycle, from adolescence through the reproductive years to menopause.Menopause is a physiological phase characterized by decreased estrogen levels, which impacts changes in the vaginal ecosystem, including an increased risk of bacterial infections such as Gardnerella vaginalis. Gardnerella vaginalis is a facultative anaerobic bacteria often associated with bacterial vaginosis (BV), a condition characterized by an imbalance in the normal vaginal flora, characterized by a decrease in Lactobacillus and an increase in other anaerobic bacteria. The aim of this study is to detect Gardnerella vaginalis in menopausal women using polymerase chain reaction (PCR). This was a descriptive, cross-sectional study. Sampling for this study was conducted in Ambon City, and sample examination was conducted at the Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC) laboratory. The results showed that of 15 vaginal swab samples from menopausal women, 14 (93%) tested positive, as indicated by a 206 bp DNA band. Therefore, it can be concluded that Gardnerella vaginalis bacteria were detected in menopausal women.

Keywords: Gardnerella vaginalis, Menopausal Women, PCR

UNIVERSITAS MEGAREZKY
UNIMERZ

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan **Skripsi** ini yang berjudul: **"Deteksi *Gardnerella vaginalis* Pada Wanita Menopause Menggunakan *Polymerase cha in Reaction* (PCR)"**

Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan **Program Sarjana Terapan Kesehatan DIV Teknologi Laboratorium Medis pada Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky Makassar.** Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, skripsi ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan **ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta Papa Wensislaus Sikteubun dan Mama Agustina Parera,** yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moril maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Papa dan Mama, penyusunan **Skripsi** ini tidak akan pernah terwujud.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. **Bapak Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.
2. **Ibu Alm. Hj. Suryani, SH., MH sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. **Bapak Moch. Noer Alim Qolby, S.H., LLM Sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.

4. **Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky**, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. **Ibu Prof. Dr. Dra. Apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si sebagai Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky**, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. **Ibu Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes sebagai Ketua Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis dan Pembimbing I** , atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif serta yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
7. **Ibu Ayusti Dirga, S.Si., M.Sc sebagai Pembimbing II**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Ibu Nurfitri Arfani, S.S., M.Si sebagai Penguji Utama**, yang telah memberikan masukan dan arahan dalam penyempurnaan skripsi ini.
9. **Ibu Nurlaela Alydrus, S.Si., M.Kes sebagai Pembimbing Akademik (PA),** atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis
10. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
11. **Laboratorium *Hasannudin Universiry Medical Research Center* (HUM-RC)**, atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
12. **Sahabat seperjuangan (Gracia, Vio, dan Almarhumah Egla) juga teman terkasih Angel, Nena, Juan dan semua pihak** yang selalu memberikan dukungan, motivasi, doa serta turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan skripsi ini.
13. **Teman-teman seangkatan Diploma IV 2020 A,** atas cinta dan persaudaraan selama proses pendidikan yang telah kita lalui.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang.

Akhir kata, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 19 Agustus 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
SURAT KETERANGAN UJI TURNITIN iv
HALAMAN PERSEMBAHAN v
MOTTO vi
CURRICULUM VITAE vii
ABSTRAK viii
KATA PENGANTAR x
DAFTAR ISI xiii
DAFTAR GAMBAR xv
DAFTAR TABEL xvi
DAFTAR SINGKATAN xvii
BAB I PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 5
C. Tujuan Penelitian 5
D. Manfaat Penelitian 5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 6
A. Tinjauan Umum Keputihan 6
B. Tinjauan Umum Gardnerella Vagainalis 11
C. Tinjauan Umum Menopause 15
D. Metode Pemeriksaan Laboratorium 20
E. Polymerase Chain Reaction (PCR) 22
F. Kerangka Teori 28
G. Kerangka Konsep 28
H. Definisi Operasional 29
BAB III METODE PENELITIAN 30
A. Jenis Penelitian 30
B. Waktu dan Lokasi Penelitian 30
C. Populasi dan Sampel 30

D. Kriteria Sampel 31
E. Instrument Pemeriksaan 31
F. Prosedur Kerja 32
G. Alur Penelitian 36
H. Teknik Pengumpulan Data 37
I. Teknik Analisa Data 37
J. Etika Penelitian 37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 39
A. Hasil Penelitian 39
B. Pembahasan 43
BAB V PENUTUP 51
A. Kesimpulan 51
B. Saran 51
DAFTAR PUSTAKA 52
LAMPIRAN 56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Keputihan Fisiologi (normal)..……..…….7
Gambar 2.2. Keputihan Patologis (abnormal)...…….…….……....8
Gambar 2.3. *Gardnerella vaginalisi*……..12
Gambar 2.4. Tahapan Menopause..…….....….....18
Gambar 2.5. Bagan Kerangka Teori.…….29
Gambar 2.6. Bagan Kerangka Konsep..…….29
Gambar 4.1. Gambar Hasil Visualisasi Elektroforesis……. 39

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Karakteristik Responden Berdasarkan Usia, Keputihan, Penggunaan Pembersih Vagina dan Riwayat Penyakit Menular Seksual……..37

Tabel 4.2Hasil Visualisasi Pemeriksaan *Gardnerella vaginalis* Pada Wanita Menopause Menggunakan PCR…….38

DAFTAR SINGKATAN

BV	: *Bacterial Vaginosis*
PCR	: *Polymerase Chain Reaction*
FSH	: *Follicle-stimulating hormone*
DNA	: *Deoxyribonucleic Acid*
RNA	: *Ribonucleic Acid*
PBS	: *Phospat Buffer Salin*
BAB	: Buang Air Besar
BAK	: Buang Air Kecil
STI	: *Sexually Transmitted Infection*
WHO	: *World Health Organization*
pH	: *Potensial Hidrogen*
dNTP	: *Deoxynucleoside Triphosphate*
TBE	: *Tris Barate* EDTA
EtBr	: *Editium bromide*
NFW	: *Nuclease free water*
UV	: Ultra violet
bp	: *Base pair*
HUM-RC	: *Hasanuddin University Medical-Reserch Center*
PMS	: Penyakit Menular Seksual
KB	: Keluarga Berencana
dATP	: *Deoxyadenosine Triphosphate*
dCTP	: *Deoxycytidine Triphosphate*
dGTP	: *Deoxyguanosine Triphosphate*
dTTP	: *Deoxythymidine Triphosphate*
KCL	: Kalium Klorida
DM	: Diabetes Melitus
HIV	: *Human Immunodeficleney Virus*
BSA	: *Bovine Serum Albumin*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Keputihan adalah keluarnya cairan selain darah dari liang vagina di luar kebiasaan, baik berbau ataupun tidak disertai rasa gatal setempat (Budhi & Wahyudi, 2023). Sekitar 75% wanita di dunia pasti akan mengalami keputihan paling tidak seumur hidup sekali dan sebanyak 45% wanita mengalami keputihan dua kali atau lebih, sedangkan pada kaum wanita yang berada di Eropa angka keputihan sebesar 25% (WHO, 2021). Di Indonesia Sekitar 90% wanita berpotensi mengalami keputihan karena Negara Indonesia yang beriklim tropis. Negara dengan iklim tropis berpotensi menyebabkan mudahnya jamur berkembang biak dan mengakibatkan banyaknya kasus keputihan pada wanita. Angka kejadian keputihan di Indonesia terus meningkat tiap tahunnya hingga mencapai 70% (Melina & Ringringringulu, 2021).

Keputihan dapat terjadi secara normal (fisiologis) dan abnormal (patologis). Keputihan yang fisiologis terjadi pada kaum wanita yang pertama kali haid, biasanya terjadi diakhir siklus haid. Keputihan yang patologis adanya infeksi bakteri, jamur, dan virus. Keputihan patologis cenderung berbau busuk, berwarna kehijauan dan kadang-kadang disertai rasa gatal (Amalia dkk., 2022).

Keputihan disebabkan oleh faktor internal dan eksternal, secara eksternal lingkungan vagina yang tidak sehat akibat *hygiene* personal yang buruk seperti penggunaan cairan antiseptik, *panty liner*, celana dalam tidak sesuai ukuran yang tidak menyerap keringat, gerakan membersihkan vagina yang salah, tidak

mengeringkan vagina setelah buang air besar (BAB)/buang air kecil (BAK) serta penggunaan pembalut lebih dari 6 jam secara langsung dapat mempengaruhi flora normal penyebab infeksi mikroorganisme patogen pada vagina (Arfan dkk., 2022). Faktor internal penyebab keputihan terkait dengan pengaruh hormonal, daya tahan tubuh rendah, obesitas dan *hygiene personal* yang buruk. Pengaruh hormonal berkaitan dengan penggunaan pil KB atau kondisi stress. Gangguan hormonal mempengaruhi kondisi pH vagina sehingga akan menyebabkan mikroorganisme mudah tumbuh (Intan dkk., 2022).

Selain itu, infeksi vagina ditandai oleh ketidakseimbangan jumlah bakteri alami (flora normal) di dalam vagina. *Bacterial vaginosis* dapat terjadi pada wanita pada segala usia dan merupakan penyebab umum keluhan vagina pada wanita usia reproduksi. Penyebab utama *bacterial vaginosis* adalah *Gardnerella vaginalis* (Wedayanti, 2023).

Gardnerella vaginalis sendiri merupakan bakteri anaerob batang variabel gram yang mengalami hiperpopulasi sehingga menggantikan flora normal vagina dari yang tadinya bersifat asam menjadi bersifat basa. Perubahan ini terjadi akibat berkurangnya jumlah *Lactobacillus* yang menghasilkan hidrogen peroksida. *Lactobacillus* sendiri merupakan bakteri anaerob batang besar yang membantu menjaga keasaman vagina dan menghambat mikroorganisme anaerob lain untuk tumbuh di vagina (Sudarsana dkk., 2022).

Gardnerella vaginalis penyebab keputihan ini dapat dialami oleh setiap wanita sepanjang siklus kehidupannya mulai dari masa remaja, masa reproduksi maupun masa menopause (Salamah dkk., 2020). Semua wanita

melewati fase yang disebut menopause, yang biasanya terjadi setelah usia 45 tahun. Seorang wanita dapat didiagnosis menopause jika ia tidak mengalami menstruasi selama lebih dari satu tahun. Kesehatan fisik dan mental seorang wanita akan terpengaruh ketika menstruasinya berhenti. Sebagian besar gejala menopause disebabkan oleh perubahan fisik dan psikologis yang disebabkan oleh penurunan estrogen. Perubahan ini bergantung pada tingkat adaptasi seorang wanita terhadap perubahan yang dialaminya (Nazila dkk., 2023).

Pada masa menopause, hilangnya produksi estrogen oleh ovarium mengakibatkan terjadinya penurunan proliferasi sel epitel dan penipisan epitel dinding vagina. Ketebalan epitel vagina meningkat seiring dengan peningkatan pemberian fitoestrogen. Defisiensi estrogen mengakibatkan perubahan maturasi sel epitel. Perubahan maturasi membuat lapisan epitel sebagian besar terdiri dari sel parabasal menipis sehingga kandungan glikogen akan menurun. Penurunan glikogen pada epitel vagina perempuan menopause menyebabkan peningkatan pH vagina menjadi lebih basa, sehingga berakibat meningkatkan risiko infeksi vagina atau vaginitis atrofi. Infeksi *Trichomonas*, *Candida albicans* dan *Gardnerella vaginalis* adalah tiga kasus terbanyak pada *bakterial vaginosis* (Purnamasari dkk., 2021).

Selama menopause, penurunan kadar estrogen memengaruhi ekosistem vagina, mengakibatkan perubahan dalam komposisi mikrobiota. Perubahan ini seringkali ditandai oleh penurunan jumlah *Lactobacillus* dan peningkatan mikroorganisme oportunistik, yang meningkatkan risiko infeksi seperti *bacterial vaginosis* (BV) dan vulvovaginal candidiasis. Selain itu, perubahan

mikrobiota dapat memengaruhi gejala seperti kekeringan dan iritasi vagina, yang merupakan bagian dari sindrom genitourinary menopause. Menopause juga dapat menyebabkan kondisi peradangan kronis akibat disbiosis mikrobiota, yang berkontribusi pada risiko infeksi saluran kemih berulang dan gangguan kesehatan lainnya (Purnamasari dkk, 2025).

Pada usia menopause keputihan bisa dapat terjadi meskipun vagina kehilangan kelembapannya karena rendahnya kadar hormon esterogen, lendir dari vagina tetap diproduksi tetapi jumlahnya lebih sedikit. Lendir tersebut dapat sesekali keluar dan inilah yang dianggap sebagai keputihan (Wardani dkk, 2022). Menurut penelitian Budhi & Wahyudi (2023) menyatakan bahwa status menopause berhubungan dengan kejadian *bacterial vaginosis* pada pasien keputihan.

Metode yang paling sering untuk diagnosis *bacterial vaginosis* yaitu dengan kriteria amsel, kriteria nugent, kriteria Spiegel dan kultur bakteri. Gold standar diagnosis *bacterial vaginosis* sendiri adalah skor nugent pada pewarnaan gram secret vagina, namun metode ini memerlukan waktu dan keahlian khusus (Kuncoro, 2022). Salah satu metode untuk mendeteksi *Gardnerella vaginalis* juga dapat dilakukan dengan menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) karena PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu metode molekuler dengan cara enzimatis untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida (gen target) tertentu secara invitro dan memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi serta lebih cepat dalam mendiagnosis.

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi *Gardnerella vaginalis* penyebab keputihan pada wanita menopause menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu "Apakah terdeteksi *Gardnerella vaginalis* pada wanita menopause menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR)"?.

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini yaitu untuk mendeteksi *Gardnerella vaginalis* pada wanita menopause menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Manfaat Teoritis

   Memberikan sumber informasi secara ilmiah mengenai cara yang tepat dalam mendeteksi dan mendiagnosis infeksi bakteri *Gardnerella vaginalis* serta memberikan pengalaman bagi peneliti dalam mengaplikasikan berbagai teori perkuliahan yang didapatkan selama di kampus.

2. Manfaat Praktis

   Penelitian ini dapat memberi wawasan kepada pembaca terkait uji biologi molekuler yang diterapkan untuk mendeteksi *Gardnerella vaginalis*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Keputihan

1. Definisi

Keputihan atau Flour albus (*white discharge*, *leukorrhea*) adalah keluarnya cairan selain darah dari liang vagina di luar kebiasaan, baik berbau ataupun tidak, serta disertai rasa gatal setempat. Cairannya berwarna putih, tidak berbau, dan jika dilakukan pemeriksaan laboratorium tidak menunjukkan ada kelainan. Penyebab keputihan dapat secara normal yang dipengaruhi oleh homon tertentu. Keputihan bukan merupakan golongan penyakit tersendiri, tetapi merupakan salah satu tanda dan gejala dari suatu penyakit organ reproduksi wanita yang harus diobati (Fitriyya & Hidayah, 2021).

2. Klasifikasi

Menurut Hastuty dkk. (2023), klasifikasi keputihan dapat dibedakan menjadi dua jenis, yaitu :

a. Keputihan Fisiologi (normal)

Keputihan fisilogi umumnya muncul saat akan dan selesai menstruasi, diantara hari 10 - 16 siklus haid atau fase sekresi. Keputihan ini dapat terjadi pada saat stress, hamil, ereksi, lelah dan ketika mengkonsumsi obat yang mengandung hormone salah satunya yakni pil KB. Keputihan fisiologis dapat ditandai dengan warna jernih, tidak

beraroma khas dan tidak menimbulkan sensasi gatal di daerah kewanitaan.



Gambar 2.1. Keputihan Fisiologi (normal)
(Nugrahmi dkk., 2024)

b. Keputihan Patologis (abnormal)

Semua infeksi alat kelamin dapat menyebabkan keputihan patologis (infeksi bibir kemaluan, vagina, serviks, jaringan penyokong dan infeksi dari Penyakit Menular Seksual atau PMS). Ciri-ciri keputihan abnormal ditandai dengan jumlah sel darah putih yang banyak, produksi terus-menerus, perubahan warna seperti susu, kekuningan, keabuan hingga kehijauan, sensasi gatal, nyeri, panas, dan beraroma khas. Berbeda dengan keputihan biasa, keputihan yang tidak normal dapat digolongkan sebagai penyakit. Keputihan patologis juga dapat disebabkan karena kurangnya perawatan terhadap alat genetalia seperti menggunakan pembilas secara berlebihan, memakai celana dengan bahan yang tidak menyerap keringat, jarang mengganti celana dalam dan tidak sering mengganti pembalut pada saat menstruasi.



Gambar 2.2. Keputihan patologis (abnormal)
(Nugrahmi dkk., 2024)

3. Tanda - tanda Keputihan

Menurut Suminar dkk., (2022) gejala yang ditimbulkan dapat bervariasi tergantung pada apa yang menjadi penyebab keputihan yang dialami. Beberapa wanita ditemukan bahwa mereka tidak mengalami gejala apapun. Akan tetapi adapula yang menderita keputihan mengalami beberapa gejala berikut :

a. Terasa gatal pada area vagina bagian dalam atau bagian luar.
b. Terdapat cairan yang berwarna putih kekuningan dari saluran vagina, terkadang berbusa dan memiliki bau yang menyengat/tidak sedap.
c. Mengalami rasa seperti panas dan perih saat baung air kecil.
d. Merasa tidak nyaman pada organ intim.

4. Faktor - faktor Penyebab Keputihan

Menurut Marhaeni (2016), faktor - faktor penyebab keputihan dibedakan menjadi dua yaitu :

a. Faktor - faktor penyebab keputihan fisiologis
   1) Bayi yang baru lahir kira - kira 10 hari, keputihan ini disebabkan oleh pengaruh hormone esterogen dari ibunya.

2) Masa sekitar menarche atau pertama kalinya haid datang, keadaan ini ditunjang oleh hormone esterogen.
3) Masa di sekitar ovulasi karena produksi kelenjar - kelenjar rahim dan pengaruh dari hormon esterogen serta progesterone.
4) Seorang wanita yang terangsang secara seksual. Rangsangan seksual ini berkaitan dengan kesiapan vagina untuk menerima penetrasi senggama, vagina mengeluarkan cairan yang digunakan sebagai pelumas dalam senggama.
5) Kehamilan yang mengakibatkan meningkatnya suplai darah ke vagina dan mulut rahim, serta penebalan dan melunaknya selaput lender vagina.
6) Akseptor kontrasepsi pil yang mengandung hormone esterogen dan progesteron yang dapat meningkatkan lender servik menjadi lebih encer.
7) Pengeluaran lender yang bertambah pada wanita yang sedang menderita penyakit kronik.

b. Faktor - faktor penyebab keputihan patologis

1) Kelelahan fisik

Ketika seseorang kelelahan fisik mereka mengalami peningkatan pengeluaran energi, yang memaksa tubuh untuk bekerja terlalu banyak dan menguras tubuh. Meningkatnya pengeluaran energi menekan sekresi hormon esterogen yang pada gilirannya menyebabkan penurunan kadar glikogen. *Lactobacillus* doderlein

memetabolisme glikogen. Jika jumlah asam laktat yang dihasilkan sedikit pertumbuhan bakteri, jamur, dan parasit akan lebih mudah terjadi karena sisa metabolisme ini yang berfungsi untuk menjaga pH vagina tetap asam.

2) Ketegangan psikis

Ketegangan psikis adalah ketika seseorang mengalami beban pikiran yang meningkat sebagai akibat dari situasi yang tidak menyenangkan atau sulit diatasi. Hormon adrenalin meningkat saat beban pikiran meningkat, yang menyebabkan pembuluh darah menyempit dan kurang elastis. Kondisi ini menghambat aliran hormon esterogen ke organ tertentu termasuk vagina. Asam laktat yang dihasilkan berkurang yang memungkinkan pertumbuhan bakteri, jamur, dan parasit yang menyebabkan keputihan.

3) Kebersihan diri

Kebersihan diri merupakan suatu tindakan untuk menjaga kebersihan dan kesehatan untuk kesejahteraan fisik dan psikis. Keputihan yang abnormal banyak dipicu oleh cara wanita dalam menjaga kebersihan dirinya, terutama alat kelamin. Salah satu kebiasaan kebersihan diri yang dapat menyebabkan keputihan adalah menggunakan pakaian dalam yang ketat dan terbuat dari bahan nilon, cara cebok yang tidak tepat untuk membersihkan alat kelamin, menggunakan sabun dan pewangi vagina, dan menggunakan pembalut kecil yang terus menerus di luar siklus menstruasi.

B. Tinjauan Umum Gardnerella Vagainalis

1. Definisi

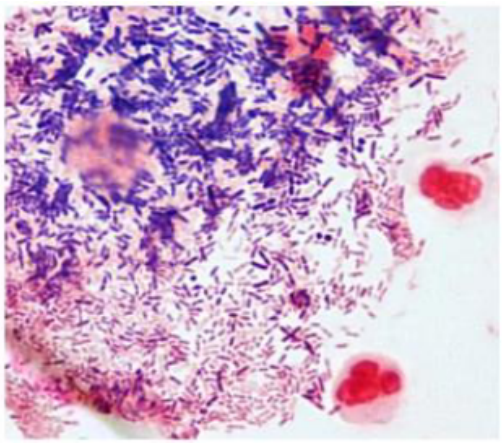
Gardnerella vaginalis adalah bakteri anaerobik dominan yang merupakan komponen alami flora normal vagina. Nama *Gardnerella* diambil dari nama Hermann L. Gardner, ilmuwan yang menemukan bakteri tersebut pada tahun 1955. Biasanya, *spesies Lactobacillus* mendominasi flora vagina. Namun, ketika organisme seperti *Gardnerella* tumbuh berlebihan dan mendominasi, ketidakseimbangan ini menyebabkan bakterial vaginosis (BV) (Kairys *et al*., 2023).

Bacterial vaginosis (BV) adalah suatu kondisi perubahan ekosistem vagina yang ditandai dengan pergeseran keseimbangan flora normal vagina dimana dominasi *Lactobacillus* digantikan oleh bakteri anaerob seperti *Bacteroides sp*., *Mobilluncus sp*., *Gardnerella vaginalis*, dan *Mycoplasma hominis*. *Bacterial vaginosis* merupakan kondisi yang umum dijumpai pada wanita usia reproduktif. Perubahan *Lactobacillus spp* ini menyebabkan penurunan konsentrasi hidrogen peroksidase (H_2O_2), yang biasanya ditunjukkan dengan produksi sekret vagina yang banyak, berwarna abu-abu hingga kuning, tipis, homogen, berbau amis, dan peningkatan pH. Vaginosis ini bisa bergejala ataupun tanpa gejala (Lubis dkk., 2017).

2. Morfologi

Gardnerella vaginalis adalah *coccobacillus* (0,5-1,5 µm) yang bervariasi gram, tidak berkapsul, tidak bergerak (0,5-1,5 µm) yang dapat tumbuh dalam kondisi mikro-aerobik. *G.vaginalis* merupakan bagian dari

mikroflora vagina wanita bagian bawah. Bakteri ini merupakan agen penyebab penting untuk *bacterial vaginosis* (BV). *G.vaginalis* adalah agen etiologi tunggal untuk BV. Isolat klinis dari *G.vaginalis* adalah katalase dan oksidase negatif, hemolisis beta darah dan, fermentasi glukosa dan maltosa (Mohammadi *et al*., 2021).



Gambar 2.3. Pewarnaan Gram pada *Gardnerella vaginalis*
(Wikayanti dkk., 2022)

3. Klasifikasi *Gardnerella vaginalis*

Kingdom : *Bacteria*

Subkingdom : *Posibacteria*

Filum : *Actinobacteria*

Subkelas : *Actinobacteridae*

Ordo : *Bifidobacteriales*

Famili : *Bifidobacteriaceae*

Genus : *Gardnerella*

Spesies : *Gardnerella vaginalis*

(*Integrated Taxonomic Information System*, 2019)

4. Patogenesis

Patogenesis BV diawali dengan masuknya bakteri-bakteri tersebut melalui hubungan seksual, infeksi akibat operasi seperti histerektomi, atau akibat higenitas yang kurang dalam merawat ekosistem vagina. Bakteri tersebut kemudian akan menempel pada permukaan vagina dan mulai melepaskan campuran asam lemak rantai pendek, seperti asam butirat dan suksinat, yang dapat memodulasi respons imun dengan memberikan efek negatif yang dapat mempengaruhi kemotaksis neutrofil dan monosit serta aktivitas fagositosis. Bakteri tersebut juga memproduksi amina biogenik yang dapat memfasilitasi dominasi bakteri vagina BV pada vagina (Utami & Wahyuni, 2021).

Bakteri *Gardnerella vaginalis* penyebab BV dengan memprodukasi sitolisins yang menyebabkan kematian sel. Selain itu, bakteri tersebut menghasilkan sialidase, profil, dan putresin, yang semuanya dapat berkontribusi pada pengurangan faktor pelindung mukosa seperti musin. Bakteri ini membutuhkan nutrisi seperti seng, mangan, dan zat besi, yang berpengaruh pada laju reproduksinya. Selanjutnya, sistem kekebalan tubuh akan menanggapi zat-zat tersebut dengan mengeluarkan antimikrobial peptide, seperti *Cathelicidin*, dari vagina. Peptide ini bertindak sebagai racun dan menggerakkan neutrofil dan monosit atau makrofag untuk pergi mengaktifkan sel inflamasi untuk melepaskan sitokin proinflamasi. Sebelum respon imun terjadi, epitel pada permukaan vagina terlebih dahulu melakukan pengelupasan sel-sel untuk menghilangkan mikroorganisme

yang melekat pada permukaannya. Selain menghilangkan bakteri yang melekat, pengelupasan sel-sel vagina yang kaya glikogen menguntungkan bagi *Lactobacillli* selaku tuan rumah dengan menyediakan sumber nutrisi untuk *Lactobacilli*, yang juga membantu tubuh dalam melawan bakteri patogen melalui pengeluaran bakteriosin serta menjaga keseimbangan pH vagina. Sehingga eksistensi dari *Bacterial vaginosis* dalam ekosistem vagina dapat dikendalikan (Utami & Wahyuni, 2021).

5. Tanda dan Gejala

Bacterial vaginosis ditandai dengan pergeseran dari flora vagina yang dominan *Laktobasilus* ke flora vagina yang *Laktobasilus*nya menurun drastis dan banyak terdapat bakteri anaerob fakultatif dan ketat. Terlepas dari perubahan yang dramatis, beberapa wanita dengan BV tidak menunjukkan gejala apapun. Namun BV dapat menimbulkan gejala seperti terdapat duh kelamin berwarna putih keabuan, berbau amis, gatal atau rasa terbakar dan meningkatkan pH pada vagina (Muzny & Schwebke, 2016).

6. Faktor Resiko

Terdapat beberapa faktor risiko yang dapat memicu terjadinya insidensi *bakterial vaginosis* adalah aktivitas seksual aktif, ras, usia, bergonta-ganti pasangan, penggunaan alat kontrasepsi dalam rahim (AKDR), vaginal douching dan washing, penggunaan cairan antiseptik berlebihan, personal *hygiene* yang buruk, stres dan merokok. Wanita yang berkulit hitam lebih sering terkena BV daripada wanita berkulit putih dan

wanita yang merokok lebih berisiko terkena BV daripada wanita yang tidak merokok (Jones, 2019).

7. Komplikasi

Jika *bacterial vaginosis* tidak diobati, maka dapat menyebabkan komplikasi seperti endometritis, vagina *cuff cellulites*, penyakit radang panggul, servisitis, dan kelahiran prematur. Karena banyaknya komplikasi yang dapat ditimbulkan oleh BV, sangat penting untuk memahami penyebabnya dan faktor risikonya (Siahaan dkk., 2016).

8. Pengobatan

Pengobatan *bacterial vaginosis* biasanya menggunakan antibiotik seperti metronidazole dan klindamisin. Untuk keputihan yang ditularkan melalui hubungan seksual terapi juga diberikan kepada pasangan seksual dan dianjurkan tidak berhubungan selama masih dalam pengobatan (Sudarsana dkk., 2022).

C. Tinjauan Umum Menopause

1. Definisi Menopause

Istilah "menopause" berasal dari bahasa Yunani, dari kata "menos", yang berarti "bulan", dan "pause", yang berarti "berhenti." Secara umum, istilah ini berarti berhentinya siklus menstruasi. Dalam arti sehari-hari, istilah menopause lebih merujuk pada proses daripada titik tertentu dalam siklus menstruasi. Secara medis, menopause adalah istilah yang mengacu pada satu titik, yaitu tanggal menstruasi terakhir wanita (Romadhona, 2022).

Menopause merupakan berakhirnya masa subur wanita atau masa reproduksinya, atau berakhirnya menstruasi bulanan. Menurut ilmu kedokteran, seseorang dikatakan menopause jika mereka tidak mengalami perdarahan selama 12 bulan. Wanita yang mengalami menopause adalah kondisi yang normal, menstruasi berhenti karena ovarium kedua secara fisologis tidak lagi menanggapi sinyal hormon didalam tubuh (Romadhona, 2022).

Fase menopause dibagi menjadi dua yaitu pramenopause dan postmenopause. Pramenopause merupakan fase transisi menuju menopause dimana mulai terjadi perubahan hormone dan terjadi siklus menstruasi secara tidak teratur. Sedangkan postmenopause merupakan fase dimana wanita tidak mengalami menstruasi lebih dari 12 bulan (Yulizawati & Yulika, 2022).

2. Tahapan Menopause

Menurut Batmomolin dkk., (2023), tahapan menopause dibagi menjadi 4 tahap yaitu sebagai berikut :

a. Tahap premenopause

Masa haid yang tidak teratur selama beberapa bulan atau tahun dengan masih adanya aktivitas ovarium baik penghasil sel telur maupun hormon yang mensekresi disebut masa premenopause. Premenopause merupakan bagian terakhir dari masa reproduksi, sebelum menuju masa menopause.

b. Tahap perimenopause

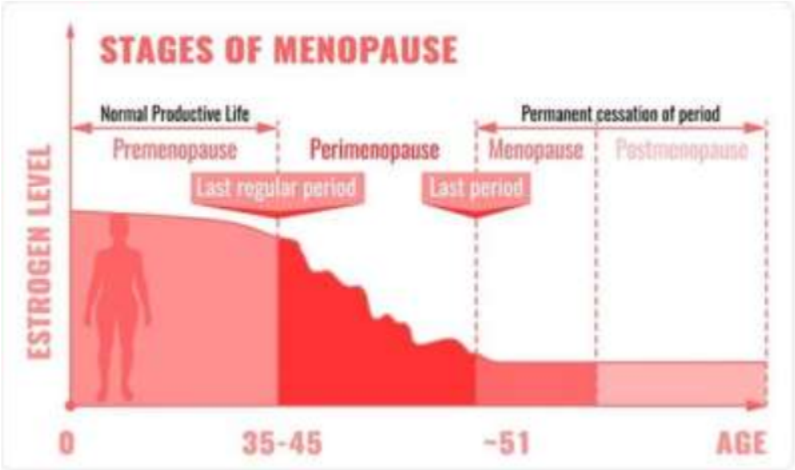
Setelah beberapa bulan atau tahun premenopause, wanita akan memasuki masa transisi menopause yang biasa disebut perimenopause. Wanita akan mengalami menstruasi yang tidak berovulasi dengan beberapa siklus diantaranya ada yang mengalami panjang siklus >7 hari berbeda dari biasanya, dan sisanya akan menemukan ≥ 2 siklus yang 68 dilewati dan interval amenorhea (≥60 hari).

c. Tahap menopause

Setelah melewati masa perimenopause, masa transisi berikutnya adalah masa menopause yang berkisar dari periode menstruasi terakhir (final menstrual period) sampai 12 bulan, selama masa ini tidak ditemukan adanya darah atau bercak pada keputihan.

d. Tahap postmenopause

Setelah menopause selesai, masa reproduksi terakhir adalah pascamenopause, yang terjadi ketika tidak adanya menstruasi dan terus berlangsung hingga akhir hayat. Bila wanita mengalami beberapa kali perdarahan pada masa postmenopause, berarti ada kondisi yang tidak normal dan perlu pemeriksaan lebih lanjut.



Gambar 2.4. Tahapan Menopause
(Batmomolin dkk., 2023)

3. Tanda dan Gejala Menopause

Menurut Zaitun dkk., (2020), tanda-tanda dan gejalanya adalah sebagai berikut:

a. Gejolak panas

b. Jantung berdebar-debar

c. Gangguan tidur

d. Depresi

e. Mudah tersinggung, merasa takut,gelisah dan mudah marah

f. Sering sakit kepala

g. Cepat lelah, sulit berkonsentrasi, mudah lupa, kurang tenaga

h. Kesemutan

i. Gangguan libido

j. Obstipasi

k. Berat badan bertambah

l. Nyeri tulang dan otot

4. Faktor Yang Mempengaruhi Menopause

Adapun faktor yang mempengaruhi menopause menurut Romadhona (2022) sebagai berikut :

a. Cemas

Seorang perempuan lebih cenderung mengalami kecemasan dalam hidupnya, maka bisa di perkirakan bahwa dirinya akan mengalami menopause lebih dini. Sebaliknya, apabila seorang wanita yang lebih santai dan rileks dalam menjalani hidup biasanya masa-masa menopausenya akan lebih lambat.

b. Usia

Pada saat pertama haid (menarche) Wanita yang mendapatkan menstruasi pada usia 16 atau 17 tahun akan mengalami 16 menopause lebih dini, sedangkan wanita yang menstruasi lebih dini seringkali akan mengalami menopause sampai pada usia mencapai 50 tahun.

c. Merokok

Menurut beberapa studi yang pernah dilakukan, wanita perokok akan mengalami masa menopause pada usia yang lebih muda yaitu 43 hingga 50 tahun. Merokok akan mempengaruhi cara tubuh dalam memproduksi atau membuang hormon estrogen. Penelitian meyakini bahwa komponen tertentu dari rokok berpotensi membunuh sel telur.

d. Pemakaian Kontrasepsi

Pada wanita yang menggunakan alat kontrasepsi hormonal akan lebih lama atau tua memasuki masa menopause.

e. Sosial Ekonomi

Keadaan sosial ekonomi mempengaruhi faktor fisik, kesehatan, dan pendidikan. Apabila faktor tersebut baik, akan mengurangi beban fisiologis dan psikologis.

f. Budaya dan Lingkungan

Pengaruh budaya dan lingkungan dibuktikan sangat mempengaruhi perempuan untuk dapat atau tidak bisa menyesuaikan diri dengan fase klimakterium.

g. Diabetes

Diabetes merupakan salah satu penyakit autoimun yang dapat menyebabkan menopause dini. Pada penyakit autoimun, antibodi yang terbentuk akan menyerang FSH.

h. Status Gizi

Konsumsi makanan yang sembarangan ataupun pola hidup yang tidak sehat akan mempengaruhi menopause lebih awal.

i. Stres

Stres merupakan salah satu faktor yang menentukan kapan wanita akan mengalami menopause. jika sering merasa stres maka cenderung akan lebih cepat mengalami menopause.

D. Metode Pemeriksaan Laboratorium

Menurut Coleman & Gaydos (2018) ada dua metode diagnostik *bacterial vaginosis* yaitu diagnosis klinis atau apusan basah (kriteria Amsel) dan diagnosis pewarnaan gram (kriteria Nugent).

1. Kriteria klinis atau apusan basah (kriteria Amsel)

   Kriteria Amsel umumnya digunakan untuk menegakkan diagnosis BV menggunakan mikroskop saline. Diagnosis memerlukan adanya setidaknya tiga dari empat kriteria (yaitu, cairan homogen encer; peningkatan pH vagina >4,5; 20% sel petunjuk pada mikroskop garam; dan bau amis setelah penambahan 10% kalium hidroksida ke slide sekret [tes bau]).

2. Pewarnaan Gram (kriteria Nugent)

   Pewarnaan Gram adalah standar emas untuk diagnosis BV dan telah digunakan di laboratorium sejak tahun 1965. Hasil pewarnaan gram yang konsisten dengan BV meliputi Morfotipe *Gardnerella,* termasuk kokus, fusiform, dan batang melengkung, dan tereduksi morfotipe *laktobasilus*. Pewarnaan Gram lebih spesifik untuk BV dengan reproduktifitas interobserver dan intraobserver yang tinggi dibandingkan dengan kriteria Amsel namun, ini memakan waktu. Tiga morfotipe bakteri dengan derajat reproduktifitas tertinggi adalah *Lactobacillus* (batang Gram positif besar), *Gardnerella* dan *Bacteroides* (batang Gram positif atau variabel Gram kecil), dan *Mobiluncus* (batang Gram negatif atau variabel Gram melengkung). Sistem penilaian standar untuk diagnosis BV, yang disebut skor Nugent, paling sering digunakan. Dengan skor Nugent, slide diperiksa untuk mengetahui kuantitas batang Gram-positif dan laktobasilus (yaitu, flora normal) dan morfotipe Gram-negatif atau variable Gram (flora BV). Hasilnya diberikan dengan skor 0-3 (flora normal), 4-6 (flora menengah atau

campuran), dan 7-10 (BV). Skor Nugent biasanya hanya digunakan dalam lingkungan penelitian. Penilaian morfotipe juga sangat subjektif dan dipengaruhi oleh keterampilan individu. Kerugian lain dari skor Nugent termasuk ketidakmampuan untuk mengidentifikasi beberapa morfotipe bakteri baru yang dikaitkan dengan BV.

E. Polymerase Chain Reaction (PCR)

1. Definisi PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

   Reaksi berantai polimerase (PCR) adalah teknik amplifikasi asam nukleat laboratorium yang digunakan untuk mendenaturasi dan mengubah sifat segmen pendek rangkaian asam deoksiribonukleat (DNA) atau asam ribonukleat (RNA) menggunakan enzim DNA polimerase I, isolat dari Thermus Aquaticus, yang dikenal sebagai Taq DNA. Pada tahun 1985, PCR diperkenalkan oleh Mullis dan rekannya dan mereka menerima hadiah Nobel. Ini adalah alat monumental yang digunakan dalam ilmu biomolekuler karena kemampuannya yang mendalam untuk memeriksa dan mendeteksi komponen DNA yang diperkuat (Khehra *et al*., 2023).

2. Sejarah PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

   Pada saat mengembangkan PCR pada tahun 1983, Mullis saat itu bekerja pada Cetus Corporation, salah satu dari perusahaan bioteknologi pertama di Emeryville, California. Disana ia bertanggung jawab untuk mengembangkan teknk sintesis DNA rantai pendek. Mullis menceritakan bahwa ia membayangkan tantang teknik PCR saat sedang mengemudi mobilnya pada suatu malam. Didalam pikirannya mulis membayangkan

tentang kemungkinan adanya suatu cara yang baru untuk menganalisis perubahan (mutasi) dalam DNA ketika tiba - tiba ia terpikir akan sebuah metode untuk mengamplifikasi setiap bagian dari DNA melalui duolikasi yang dilakukan berulang-ulang menggunakan enzim DNA *Polymerase* (Kusnadi & Arumingtyas, 2020).

DNA *Polymerase* adalah produk alami dari semua makhluk hidup. Ketika sel membelah selama proses mitosis dan meiosis, enzim ini berfungsi untuk menduplikasi DNA. *Polymerase* menempel pada untai DNA tunggal dan kemudian membuat untai komplementernya. Mullis percaya bahwa teknologi molekuler dapat memungkinkan DNA target untuk dilipatgandakan secara in vitro. Dengan menggunakan teknik PCR ini, amplifikasi DNA di luar sel dapat menjadi lebih mudah daripada berbagai prosedur konvensional untuk kloning, analisis, dan modifikasi nukleotida. Sebelumnya, mengisolasi sebagian DNA hanya dapat dilakukan melalui teknik kloning, yang membosankan dan memakan waktu. Mullis menggambarkan keberhasilannya dalam American Scientific sebagai berikut: "Berawal dengan satu molekul dari materi genetik DNA, PCR dapat menghasilkan 100 miliar molekul yang sama dalam sehari. Reaksinya sangat mudah untuk dilakukan. Hanya memerlukan tidak lebih dari satu tabung reaksi. Sedikit bahan kimia yang sederhana dan sumber panas" (Kusnadi & Arumingtyas, 2020).

Keberhasilan peneliti-peneliti Cetus membuat reaksi PCR sesuai dengan performa yang diinginkan daan dapat diulangi dengan keberhasilan

yang sama, maka saat itulah sebenarnya dunia biologi molekuler mendapatkan teknik penggandaan DNA yang sangat hebat dan sangat membantu pengembangan penelitian biologi molekuler (Kusnadi & Arumingtyas, 2020).

3. Prinsip Dasar PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Prinsip dasar metode ini adalah perbanyakan fragmen DNA menggunakan enzim polymerase pada temperatur yang tinggi yang dilakukan secara berulang. Pada proses PCR dibutuhkan oligonukleotida pendek (primer DNA) yang berperan dalam mengawali proses ini. Primer akan menempel atau hybrid pada untai tunggal DNA saat temperatur diturunkan setelah terjadi pemisahan untai ganda DNA. Produk hasil PCR dapat diamati menggunakan teknik elektroforesis agarose. PCR melibatkan tiga tahap siklus temperatur yang berurutan yaitu denaturasi template (94 – 95 ˚C), annealing (penempelan) pasangan primer pada untai ganda DNA target (50 – 60 ˚C) dan pemanjangan (72 ˚C) (Puspitaningrum dkk., 2018).

4. Komponen PCR

Menurut Yusuf (2018) Pada proses PCR diperlukan beberapa komponen utama antara lain:

a. DNA cetakan, yaitu fragmen DNA yang akan dilipatgandakan. DNA cetakan yang digunakan sebaiknya berkisar antara 105– 106 molekul. Dua hal penting tentang cetakan adalah kemurnian dan kuantitas.

b. Oligonukleotida primer, yaitu suatu sekuen oligonukleotida pendek (18 –28 basa nukleotida) yang digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA. dan mempunyai kandungan G + C sebesar 50 – 60%.

c. Deoksiribonukelotida trifosfat (dNTP), terdiri dari dATP, dCTP, dGTP, dTTP. dNTP mengikat ion Mg2+ sehingga dapat mengubah konsentrasi efektif ion. Ini yang diperlukan untuk reaksi polimerasi.

d. Enzim DNA Polimerase, yaitu enzim yang melakukan katalisis reaksi sintesis rantai DNA. Enzim ini diperoleh dari Eubacterium yang disebut Thermus aquaticus, spesies ini diisolasi dari taman Yellowstone pada tahun 1969. Enzim polimerase taq tahan terhadap pemanasan berulang-ulang yang akan membantu melepaskan ikatan primer yang tidak tepat dan meluruskan wilayah yang mempunyai struktur sekunder.

e. Komponen pendukung lain adalah senyawa buffer. Larutan buffer PCR umumnya mengandung 10 – 50mM Tris-HCl pH 8,3-8,8 (suhu 20 ºC); 50 mM KCl; 0,1% gelatin atau BSA *(Bovine Serum Albumin*); Tween 20 sebanyak 0,01% atau dapat diganti dengan Triton X-100 sebanyak 0,1%; disamping itu perlu ditambahkan 1,5 mM $MgCl_2$.

5. Tahapan-Tahapan PCR

Menurut Yusuf (2018) terdapat 3 tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat :

a. 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 ºC dan 97,5ºC.

b. 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 temperature penempelan yang digunakan adalah antara 36 ºC sampa i dengan 72 ºC, namun suhu yang biasa dilakukan itu adalah antara 50 ºC– 60 ºC.

c. Pemanjangan Primer (Extention)

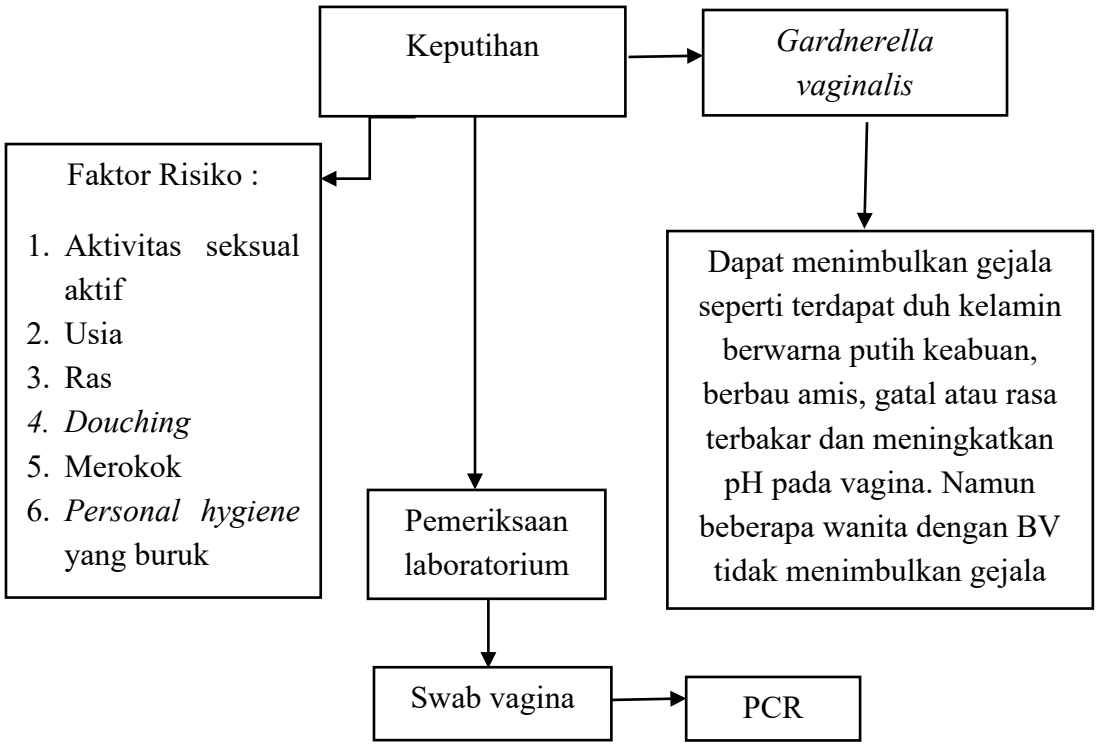
Selama tahap ini Taq polymerase memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72ºC diperkirakan 35 – 100 nukleotida/detik, bergantung pada buffer, pH, konsentrasi garam dan molekul DNA target. Dengan demikian untuk produk PCR dengan panjang 2000 pasang basa, 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.

6. Faktor Keberhasilan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Menurut Setyawati & Zubaidah, (2021), faktor - faktor yang menentukan keberhasilan PCR diantaranya adalah sebagai berikut :

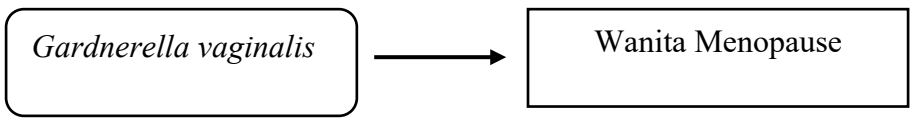
a. Konsentrasi dan kualitas DNA,
b. Temperatur annealing dari kedua primer
c. Konsentrasi $MgCl_2$
d. Enzim polymerase
e. Konsentrasi dan kualitas primer
f. Jumlah siklus PCR
g. *Deoksinukleotida triphosphate* (dNTP), dan faktor lain seperti larutan buffer.

F. Kerangka Teori



Gambar 2.5 Bagan Kerangka Teori

G. Kerangka Konsep



Keterangan :

: Variable Bebas

: Variabel Terikat

Gambar 2.6 Bagan Kerangka Konsep

H. Definisi Operasional

1. Keputihan adalah kondisi dimana keluarnya cairan berwarna putih, tidak berbau dari liang vagina dan merupakan kondisi yang dialami oleh setiap wanaita.
2. *Gardnerella vaginalis* adalah bakteri anerobik yang merupakan komponen alami flora normal vagina dan juga agen penyebab penting untuk *bacterial vaginosis.*
3. Wanita menopause adalah wanita yang sudah tidak mengalami haid >12 bulan dan merupakan fase yang dialami oleh setiap wanita dan biasanya terjadi pada usia diatas 45 tahun.
4. Metode PCR ialah metode memperbanyak sekuen DNA khusus yang diinginkan dengan ukuran tertentu dengan mekanisme pergantian suhu

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif dengan pendekatan *cross sectionalstudy* yaitu untuk mendeteksi *Gardnerella vaginalis* pada wanita menopause dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

B. Waktu dan Lokasi Penelitian

1. Waktu Penelitian

   Waktu penelitian ini di lakukan pada bulan Juli 2025.

2. Lokasi penelitian

   Pengambilan sampel di lakukan di kota Ambon . Pemeriksaan sampel penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Reaserch Center* (HUM-RC) untuk deteksi *Gardnerella vaginalis.*

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

   Pada penelitian ini yang menjadi populasi adalah seluruh wanita menopause yang ada di passo yang memenuhi kriteria inklusi.

2. Sampel

   Sampel pada penelitian ini adalah swab vagina wanita menopause. Jumlah sampel pada penelitian ini adalah sebanyak 15 sampel.

3. Teknik pengumpulan sampel

   Teknik pengumpulan sampel pada penelitian ini yaitu *purposive sampling*. *Purposive sampling* adalah suatu teknik pengumpulan sampel

dimana peneliti memilih elemen sampel berdasarkan penilaian sendiri atau pertimbangan tertentu.

D. Kriteria Sampel

1. Kriteria inklusi
   a. Wanita menopause yang ditandai sudah tidak mengalami menstruasi
   b. Wanita usia >45 Tahun
   c. Bersedia sebagai subjek dalam penelitian dengan menandatangani inform concent
2. Kriteria eksklusi
   A. Wanita dengan riwayat infeksi lain seperti DM, HIV, dll
   B. Tidak bersedia sebagai subjek dalam penelitian ini

E. Instrument Pemeriksaan

1. Alat

Adapun alat yang digunakan untuk pengambilan sampel swab vagina : steril swab stick, coolbox, untuk deteksi molekuler : mikropipet Adjustable Socorex Bio-rad (singel chanel 0,5-10 µl, 2-20 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl), inkubator (Heidolph 1000), sentrifuge mini (BIOFUGE-pico), laminar air flow (ESCO), vortex (Heidolph reax control), spin down (profuge 6K), PCR (Veriti 96 well Thermal cycler), botol schott uran, neraca analitik (Kren), gelas ukur, microwave (electrolux), cetakan gel, comb (sisiran gel), geldoc transluminiato (Bio-rad).

2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitan ini yaitu sampel swab vagina, handscoon, *Phosphat Buffer Salin* (PBS), filter tip (100-1000 µl, 20-200 µl) gel agarose, *Tris Barate* EDTA (TBE), *editium bromide* (etBr), kit ekstraksi, *ethanol absolut*, DNA cetakan hasil isolasi, enzim Tag polymerase, *Nuclease free water* (NFW) atau ddH_2O, marker 100 bp DNA Ladder, DNA target 206 bp, *ice pack gel,* primer Forward GCGGGCTAGAGTGCA dan Reverse CTTCTCAGCGTCAGTAACAGC (Kusters *et al*, 2015).

F. Prosedur Kerja

1. Pengambilan sampel swab vagina

Pada tahap pengambilan sampel swab vagina, terlebih dahulu diberikan kertas lembar informed concent dan lembar kuisioner kepada responden. Setelah mendapatkan persetujuan dari responden, peneliti memberikan swab stick steril kepada responden lalu menjelaskan cara pengambilan swab vagina yang benar kepada responden seperti mencuci tangan dengan air mengalir bilas lalu keringkan kemudian pakai handscoon, juga kseseimbangan selama prosedur pengambilan sampel kemudian putar transtube untuk membuka segel, tarik tutup yang tersambung dengan swab keluar dari tabung. Jangan meletakkan swab atau menyentuhkan ujung swab dengan benda apapun. Pegang swab dibagian tutup dengan satu tangan dan arahkan ujung swab vagina, buka kulit di luar vagina setelah itu masukkan ujung swab ke introitus arahkan ujung swab ke punggung bagian bawah lalu

relaksasikan otot-otot vagina. Masukkan swab secara perlahan kedalam vagina tidak lebih dari dua inci. Jika swab sulit masuk putar swab sambil dorong perlahan. Pastikan swab menyentuh dinding-dinding vagina sehingga secret terserap oleh swab putar selama 10 - 15 detik kemudian keluarkan swab tanpa menyentuh kulit masukkan swab kedalam tabung dan tutup dengan rapat kedalam larutan *Phospat Buffer Salin* (PBS) dan beri label pada setiap sampel.

2. Ektraksi

Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode spin colum. Disiapkan tabung eppendorf yang bersih, masukkan sebanyak 200 µl sampel swab ke dalam tabung mikrosentriufuge 1,5 ml steril. Ditambahkan 20 µl proteinase K, lalu divortex 10 detik. Kemudian, inkubasi pada suhu 60 ºC selama 5 menit menggunakan inkubator. Ditambahkan buffer GSB (geneid) sebanyak 200 µl lalu divortex kemudian diinkubasi kembali pada temperature yang sama selama 2 menit. Selanjutnya tambahkan ethanol absolute (96%) 200 µl dan vortex selama 10 detik. Ganti eppendorf dengan microsentrifuge kemudian dipipet semua campuran sampel ke dalam spin colum yang telah disiapkan. Selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit, lalu buang collection tube yang berada dibawah spin colum dan ganti dengan collection tube yang baru. Kemudian tambahkan 400 µl washing 1 lalu disentrifuge kembali dengan kecepatan yang sama selama 30 detik, lalu buang cairan yang ada pada collection tube, selanjutnya pasang kembali lalu ditambahkan 600 µl wash buffer (geneid)

sentrifuge selama 30 detik, buang cairan pada collection tube dan sentrifuge kembali selama 3 menit. Pindahkan ke collection tube baru selanjutnya tambahkan elution buffer sebanyak 50 µl diamkan selama 1 menit kemudian sentrifuge dengan kecepatan yang sama selama 30 detik. Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung mikrocentrifuge disimpan pada -4 ºC untuk digunakan sebagai template PCR (Theresya, 2025).

3. Amplifikasi PCR

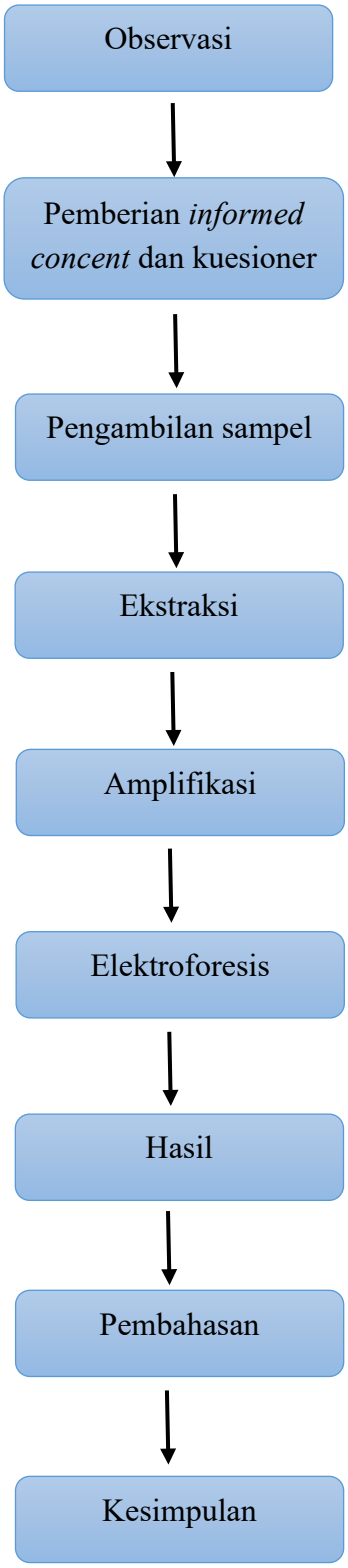
Disiapkan tabung mikrosentrifuge 1,5 ml steril, masukkan 130 µl *Enzym Taq polymerase ready to use* . Ditambahkan 10 Mm primer forward dan reverse masing-masing sebanyak 10 µl kemudian tambahkan 50 µl NFW ke dalam tabung tersebut, divotex ± 5 detik lalu pipet 20 µl larutan ke dalam masing tabung PCR 0,2 ml. Ditambahkan 5 µl sampel DNA (hasil ekstraksi) kedalam tabung PCR tersebut. Dihomogenkan sebelum dimasukkan ke dalam mesin PCR (pastikan semua tabung tertutup rapat). Setting temperature mesin PCR sesuai protocol. Amplifikasi PCR meliputi langkah-langkah berikut: pra denaturasi(10 menit pada suhu 95 °C), di ikuti oleh 35 siklus denaturasi (30 detik pada suhu 95 °C), annealing (1 menit pada suhu 55 °C), dan extension (1 menit Pada suhu 72 °C), post extension (5 menit pada suhu 72°C). hasil amplifikasi kemudian dilanjutkan ke tahap elektroforesis (Theresya 2025).

4. Elektroforesis

Disiapkan cetakan dan sisir elektroforesis. Dibuat agarose dalam botol schott duran ditambahkan 1,5 gr bubuk agarose kemudian

ditambahkan 100 ml TBE 0,5x. dipanaskan di dalam microwave sampai seluruh bubuk larut sempurna, didiamkan hingga panasnya sekitar 60 ºC (dapat diraba oleh tangan). Selanjutnya ditambahkan 5 µl ethidium bromide lalu dihomogenkan, setelah itu dituang dalam cetakan yang telah disiapkan. Didiamkan selama 1 jam atau sampai gel memadat sempurna. Dilepaskan sisir sehingga berbentuk kemudian dipindahkan gel ke dalam chamber elektroforesis yang berisi TBE 0,5x. Dimasukkan marker pada well pertama sebanyak 5 µl dan sampel hasil PCR sebanyak 5 µl dimasukkan ke dalam tiap well (sumur) yang tersedia. Kemudian chamber ditutup sesuai kutub negatif dan positif. Elektroforesis dilakukan 80 menit, kemudian running. Setelah itu, gel agarose diangkat dan dimasukkan kedalam alat UV Reader/Gel Documentation System untuk melihat pola pita DNA yang terbentuk (Theresya, 2025).

G. Alur Penelitian



H. Teknik Pengumpulan Data

1. Data Primer

   Sumber data primer dalam penelitian ini adalah data yang dikumpulkan berdasarkan data yang ada di lapangan. Data primer yaitu data-data yang diperoleh secara langsung dari hasil pemeriksaan laboratorium terhadap bakteri *Gardnerella vaginalis* pada sampel swab vagina wanita menopause.

2. Data Sekunder

   Data sekunder adalah data yang diperoleh secara tidak langsung, data sekunder dalam penelitian ini diperoleh dari data umum seperti buku-buku, karya tulis ilmiah, internet, dan jurnal.

I. Teknik Analisa Data

Teknik analisa data dari penelitian ini dengan menggunakan pendekatan secara deskriptif dengan menggunakan tabel gambar yang berupa hasil positif atau negatif *Gardnerella vaginalis* pada DNA target 206 bp.

J. Etika Penelitian

1. Menghormati harkat dan martabat manusia yaitu: peneliti mempersiapkan formulir subjek *(informed consent).*
2. Menghormati privasi dan kerahasiaan subyek penelitian yaitu:
   a. Penelitian tidak boleh menampilkan informasi mengenai identitas baik nama maupun alamat asal subyek dalam kuisioner dan alat ukur apapun untuk menjaga anonimitas dan kerahasian indentitas subyek.

b. Dapat menggunakan koding (inisial) sebagai pengganti indentitas reponden

3. Keadilan dan inkluvitas, yaitu:
   a. Penelitan dilakukan secara jujur, hati-hati, professional, berperikemanusiaan dan memperhatikan faktor-faktor ketetapan, keseksamaan, kecermatan, intimatis, psikologis serta perasaan religius subyek penelitian.
   b. Lingkungan penelitian dikondisikan agar memenuhi prinsip keterbukaan yaitu kejelasaan prosedur penelitian.
   c. Prinsip keadilan menekankan sejauh mana kebijkan penelitian membagikan keuntungan dan beban secara merata atau menurut kebutuhan, kemampuan, kontribusi dan pilihan bebas masyarakat.
4. Memperhitungkan manfaat dan kerugian yang ditimbulkan yaitu:

   Apabila interfensi penelitian berpotensi mengakibatkan cedera atau stress tambahan maka subjek dikeluarkan dari kegiatan penelitian untuk mencegah terjadinya cedera, kesakitan, stress, maupun kematian subjek penelitian.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 28 juli 2025 di *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC), dengan jumlah 15 sampel swab wanita menopause. Sampel yang telah dikumpul selanjutnya akan dideteksi *Gardnerella vaginalis* dengan menggunakan metode PCR. Hasil PCR tersebut kemudian dielektroforesis untuk melihat ada tidaknya pita/band yang menemukan keberadaan dari *Gardnerella vaginalis*. Berikut data karakteristik sampel peneliti berdasarkan :

Tabel 4.1 Karakteristik Responden Berdasarkan Usia, Keputihan, Penggunaan Pembersih Vagina dan Riwayat Penyakit Menular Seksual

No	Kategori	Jumlah (N)	Persentase (%)
1	**Usia**		
	45-55 Tahun	7	47
	56-65 Tahun	8	53
	Total	**15**	**100**
2	**Keputihan dalam 6 bulan terakhir**		
	Ya	0	0
	Tidak	15	100
	Total	**15**	**100**
3	**Penggunaan pembersih vagina**		
	Ya	2	13
	Tidak	13	87
	Total	**15**	**100**
4	**Riwayat PMS**		
	Ya	0	0
	Tidak	15	100
	Total	**15**	**100**

Berdasarkan tabel 4.1 karakteristik responden berdasarkan usia, yaitu pada usia 45-55 tahun sebanyak 7 orang dengan presentase 47%, dan pada usia 56-65 sebanyak 8 orang dengan presentase 53%, total keseluruhan responden berdasarkan usia sebanyak 15 sampel dengan presentase 100%. Karakteristik responden yang mengalami keputihan tidak biasa dalam 6 bulan terakhir menunjukkan bahwa seluruh responden pada penelitian ini tidak mengalami keputihan tidak biasa dalam 6 bulan terakhir. Karakteristik responden yang menggunakan douche atau pembersih vagina, untuk yang menggunakan douche atau pembersih vagina berjumlah 2 orang dengan presentase 13%, yang tidak menggunkan douche atau pembersih vagina berjumlah 13 orang dengan presentase 87%, total keseluruhan responden yang menggunakan douche atau pembersih vagina sebanyak 15 sampel dengan presentase 100%. Karakteristik responden yang memiliki riwayat penyakit menular seksual menunjukkan bahwa seluruh responden pada penelitian ini tidak memiliki riwayat penyakit menular seksual.

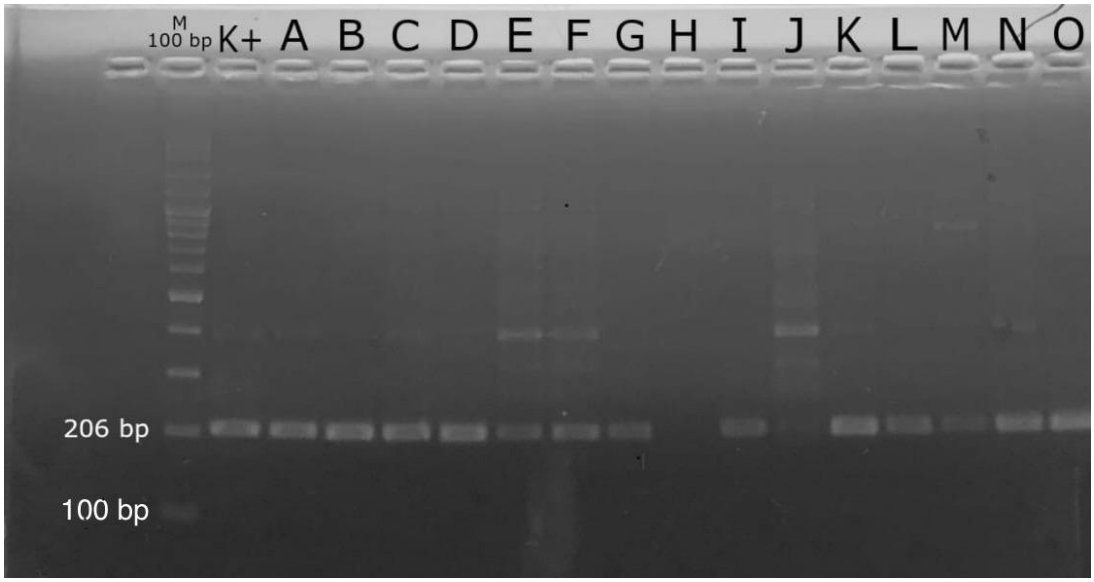
Tabel 4.2 Hasil Visualisasi Pemeriksaan *Gardnerella vaginalis* Pada Wanita Menopause Menggunakan PCR

No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan	Keterangan
1	A	Terdapat pita	Positif
2	B	Terdapat pita	Positif
3	C	Terdapat pita	Positif
4	D	Terdapat pita	Positif
5	E	Terdapat pita	Positif

No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan	Keterangan
6	F	Terdapat pita	Positif
7	G	Terdapat pita	Positif
8	H	Tidak terdapat pita	Negatif
9	I	Terdapat pita	Positif
10	J	Terdapat pita	Positif
11	K	Terdapat pita	Positif
12	L	Terdapat pita	Positif
13	M	Terdapat pita	Positif
14	N	Terdapat pita	Positif
15	O	Terdapat pita	Positif

(Sumber: data primer, 2025)

Berdasarkan Tabel 4.2 hasil pemeriksaan deteksi *Gardnerella vaginalis* pada wanita menopause menggunakan metode PCR kemudian divisualisasikan dengan melakukan elektroforesis dibawah sinar UV (Ultra Violet) dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 4.1 Gambar Hasil Visualisasi Elektroforesis

Keterangan :
M = Marker/Penanda
100 bp = Ukuran Marker yang digunakan
A-O = Kode sampel
K+ = Kontrol positif
K- = Kontrol negatif
206 bp = Target *Gardnerella vaginalis*

Berdasarkan Gambar 4.1 menunjukan hasil visualisasi gel-doc yaitu terbentuk pita DNA dengan target 206 bp pada 14 sampel dengan kode yaitu A, B, C, D, E, F, G, I, J, K, L, M, N, dan O dan tidak terbentuk pita DNA pada 1 sampel dengan kode yaitu H . Sehingga dapat diketahui bahwa dari 15 sampel yang diperiksa terdapat adanya *Gardnerella vaginalis* pada 14 sampel dan tidak terdapat adanya *Gardnerella vaginalis* pada 1 sampel. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya band atau pita DNA pada hasil Elektroforesis tersebut.

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2025 dengan 15 wanita menopause di laboratorium *Hasanuddin University Medical Reserch Center* (HUM-RC) fakultas kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, sebagai tempat untuk analisis sampel swab vagina. Kemudian sampel yang digunakan oleh peneliti adalah sampel swab vagina wanita menopause, selanjutnya disimpan pada suhu 0 ºC pada saat sampel dibawa dari Kota Ambon, setelah tiba di laboratorium disimpan pada freezer -20 ºC dengan tujuan mempertahankan stabilitas sampel. Keseluruhan pengerjaan sampel swab vagina yakni isolasi/ekstraksi DNA, *Polymerase chain reaction* (PCR), serta elektroforesis dilakukan di laboratorium *Hasanuddin Universiy Medical Research Center* (HUM-RC).

Tujuan dari penelitian ini yaitu mendeteksi adanya bakteri *Gardnerella vaginalis* pada sampel swab vagina wanita menopause menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dipilih karena memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dibandingkan dengan metode konvensional lainnya. Deteksi *Gardnerella vaginalis* dilakukan dengan tiga tahapan yaitu ekstraksi DNA untuk memperoleh DNA murni, kemudian amplifikasi PCR untuk mengkopi atau melipatgandakan DNA dan elektroforesis untuk melihat ada tidaknya pita/band yang terbentuk.

Berdasarkan Tabel 4.1 Karakteristik responden berdasarkan usia dikategorikan menjadi dua golongan, yaitu pada usia 45-55 tahun dengan

jumlah responden 7 (47%) dan pada usia 56-65 tahun dengan jumlah responden 8 (53%). Hal ini sesuai dengan rentang usia menopause yang umumnya terjadi antara usia 45-55 tahun, dengan rata-rata global sekiatr 51 tahun WHO (2022). Pada usia ini, terjadi penurunan hormon esterogen yang signifikan yang berkontribusi terhadap perubahan flora normal vagina dan menurunkan keasaman lingkungan vagina sehingga meningkatkan risiko kolonisasi bakteri patogen seperti *Gardnerella vaginalis* Baron *et al* (2020).

Berdasarkan tabel 4.1 menunjukkan bahwa 15 responden (100%) tidak mengalami keputihan yang tidak biasa dalam 6 bulan terakhir. Hal ini menunjukkan bahwa wanita menopause dalam penelitian ini berada dalam kondisi kesehatan yang baik. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Nugroho & Susanti (2019) yang melaporkan bahwa wanita menopause memiliki risiko lebih rendah mengalami keputihan dibandingkan wanita usia reproduksi, walaupun tetap memiliki kemungkinan mengalami infeksi vagina akibat penurunan hormon esterogen yang memengaruhi pH dan flora normal.

Berdasarkan karakteristik responden yang menggunakan douche atau pembersih vagina dikategorikan menjadi dua golongan, yaitu untuk yang menggunakan douche atau pembersih vagina dengan jumlah responden 2 (13%) dan untuk yang tidak menggunakan douche atau pembersih vagina dengan jumlah responden 13 (87%). Penelitian oleh Martino *et al* (2020) menyebutkan bahwa penggunaan vaginal *douche* secara rutin dapat mengganggu keseimbangan mikrobiota vagina, menurunkan dominasi Lactobacillus, dan meningkatkan risiko bacterial vaginosis (BV) maupun

infeksi saluran reproduksi. Hal ini sejalan dengan temuan Zhou *et al* (2021) yang melaporkan bahwa wanita menopause yang menggunakan douche cenderung memiliki pH vagina lebih tinggi dan flora pelindung yang lebih sedikit dibandingkan yang tidak menggunakan, sehingga lebih rentan terhadap infeksi.

Berdasarkan karakteristik responden yang memiliki riwayat penyakit menular seksual menunjukkan bahwa seluruh (100%) responden tidak memiliki riwayat penyakit menular seksual. Hal ini sejalan dengan peneltian Baksi *et al* (2020) yang menyatakan bahwa wanita menopause cenderung memiliki frekuensi hubungan seksual dibandingkan wanita usia reproduksi sehingga peluang penularan PMS menurun. Penelitian oleh Rowley *et al* (2019) juga melaporkan bahwa prevalensi PMS pada wanita menopause lebih rendah dibandingkan wanita usia reproduksi.

Adapun tahapan dalam mendeteksi *Gardnerella vaginalis* yaitu tahapan pertama ekstraksi DNA menggunakan kit ekstraksi Geneid dengan metode spin column. Dimana terdiri dari 4 proses yaitu proses penghancuran sel (lisis sel) yang bertujuan untuk merusak atau menghancurkan membran dan dinding sel untuk mengeluarkan isi sel (DNA). Enzim proteinase K berfungsi untuk menghancurkan komponen sel terutama protein dan buffer GSB (Geneid) yang berfungsi dalam melisiskan membran sel dan mengurangi aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim pendegradasi. Kemudian dilanjutkan ke proses binding yaitu proses pengikatan DNA menggunakan ethanol absolute 96% yang berfungsi untuk mengikat pengotor selain DNA, ethanol tidak

melarutkan DNA dan berat jenis ethanol lebih ringan dari air sehingga membuat DNA naik dan tetap berada pada spin column. Selanjutnya proses washing (pencucian) dengan menambahkan buffer W1 yang berfungsi untuk melarutkan protein serta lemak dan wash buffer berfungsi sebagai pembersih serta melarutkan sisa protein, lemak maupun pengotor lain yang masih menempel pada column. Kemudian proses terakhir yaitu elution (pemurnian DNA) menggunakan elution buffer yang berfungsi untuk melepaskan DNA yang terikat pada tabung spin column, sehingga DNA dapat menyatu pada bagian collection tube. Setelah proses ektraksi selesai maka didapatkan DNA murni dari sampel swab vagina dan disimpan kedalam frezer dengan suhu -4 °C untuk digunakan sebagai template PCR.

Selanjutnya dibuat PCR mix yang bertujuan untuk melakukan pencampuran komponen-komponen PCR. Pembuatan master mix menggunakan enzim Taq polymerase yang berfungsi sebagai katalisator untuk reaksi polimerase DNA, primer forward dan primer reverse merupakan sebuah oliglonukleotida yang pendek dan mempunyai urutan nukleotida yang sesuai dengan urutan nukleotida DNA. Dan nuclease free water (NFW) digunakan sebagai pelarut.

Tahapan selanjutnya yaitu amplifikasi PCR yang terdiri dari tiga tahapan penting yaitu denaturasi, annealing dan extention. Denaturasi adalah proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal, tahap annealing adalah penempelan primer yang dirancang yaitu primer forward dan primer

reverse dan tahap extention adalah tahapan pemanjangan DNA primer. Dimana dalam proses PCR dilakukan sebanyak 30 siklus.

Tahapan terakhir dalam mendeteksi bakteri *Gardnerella vagnalis* adalah elektroforesis. Elektroforesis merupakan salah satu metode pemisahan senyawa kimia yang didasarkan pada laju pergerakan molekul dalam aliran listrik, elektroforesis bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya DNA dalam produk PCR. Tahapan elektroforesis dimulai dengan pembuatan gel agarosa, dimana penambahan bubuk agarosa sebagai gel dan pelarutnya yaitu TBE 0,5x yang berfungsi sebagai sebagai penjaga keseimbangan io H^+ dan OH^+ yang dihasilkan elektroda. Setelah itu dipanaskan didalam microwave agar larut dan ditambahkan *ethidium bromide* yang berfungsi sebagai pewarna DNA. Kemudian marker berfungsi sebagai penanda untuk melihat posisi DNA berdasarkan ukuran, dan *loading dye* berfungsi sebagai pemberat agar sampel tidak keluar dari sumuran. Pada proses elektroforesis molekul DNA akan bergerak didalam pori-pori gel agarosa dengan bantuan medan listrik pada voltase dan waktu yang ditentukan. Hasil elektroforesis akan divisualisasikan menggunakan Gel Doc untuk dapat melihat pita band yang muncul atau mendokumentasikan hasi elektroforesis dengan memanfaatkan sinar UV untuk melihat fragmen DNA.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan untuk mendeteksi *Gardnerella vaginalis* pada wanita menopause menggunakan metode PCR didapatkan hasil positif pada 14 sampel yang ditandai dengan terbentuknya pita DNA pada 206 bp dan 1 sampel negatif.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan hasil positif pada sampel swab wanita menopause yaitu pada kode sampel (A, B, C, D, E, F, G, I, J, K, L, M, N, dan O). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sebagian besar responden berada pada rentang usia 50-65 tahun. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Marmiati (2020) yang mengatakan bahwa pada wanita usia 45 tahun ke atas peningkatan pH di identifikasi sebagai penyebab penurunan kadar estrogen sehingga menimbulkan lingkungan yang sangat cocok untuk bakteri selain *Lactobacillus*. Adanya perubahan pH pada lingkungan vagina menyebabkan perubahan flora normal vagina sehingga bakteri patogen mendominasi flora vagina normal dengan menurunkan konsentrasi *Lactobacillus* yang menyebabkan pertumbuhan bakteri anaerob (*Mobiluncus sp*, *Provetella sp*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Enterococcus* dan grup beta *Streptococcus*).

Adapun faktor resiko lain yang menunjang hasil positif yaitu meliputi penggunaan douche atau pembersih vagina sehingga memengaruhi komposisi mikrobiota vagina. Mikrobiota vagina memainkan peran penting dalam menjaga kesehatan wanita, terutama dengan melindungi dari infeksi dan menjaga ekosistem mikrobiologi yang seimbang. Mikrobiota yang sehat umumnya didominasi oleh bakteri *Lactobacillus*, yang menghasilkan asam laktat untuk mempertahankan pH vagina yang rendah dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen. Selama menopause, penurunan kadar estrogen memengaruhi ekosistem vagina, mengakibatkan perubahan dalam

komposisi mikrobiota. Estrogen memengaruhi integritas epitel vagina dan mendukung pertumbuhan *Lactobacillus*, bakteri utama yang menjaga keseimbangan mikrobiota vagina. Penurunan estrogen menyebabkan berkurangnya kadar glikogen, substrat penting untuk *Lactobacillus*, sehingga menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan bakteri anaerob yang dominan pada BV.

Gardnerella vaginalis ini adalah bakteri anaerob fakultatif yang sering dikaitkan dengan bacterial vaginosis (BV) yaitu kondisi ketidakseimbangan flora normal vagina yang ditandai dengan berkurangnya *Lactobacillus* dan meningkatnya bakteri anaerob lainnya. Bacterial vaginosis (BV) dapat menyebabkan gejala seperti keputihan berbau amis, gatal dan ketidaknyamanan pada area genital. Namun, pada beberapa kasus *Gardnerella vaginalis* juga dapat ditemukan pada individu tanpa gejala. Meskipun sebagian besar kasus bacterial vaginosis (BV) ditemukan pada wanita usia produktif, namun wanita menopause juga memiliki kerentanan tinggi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Budhi & Wahyudi, 2023) dimana Pasien dengan BV positif lebih banyak pada usia lebih dari 51 tahun yaitu 90,9%, kemudian menurun pada usia 41-50 tahun dan 20-40 tahun yaitu 70% dan 28,6%.

Selain itu pada penelitian ini, didapatkan hasil negatif pada sampel swab vagina wanita menopaus e yaitu pada kode sampel (H) yang tidak terdeteksi adanya pita DNA *Gardnerella vaginalis*. Hal ini mungkin disebabkan karena

cara atau teknik pengambilan sampel yang tidak benar atau sampel tidak di ambil dari area yang tepat yaitu di dinding vagina.

Keterbatasan dari penelitian yang dilakukan di pengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya yaitu lama waktu perjalanan sampel dikarenakan jarak tempat pengambilan sampel cukup jauh dari tempat untuk melakukan pemeriksaan sampel (HUM-RC).

Dari penelitian ini didapatkan manfaat-manfaat baik dari segi klinis, praktisi serta masyarakat. Manfaat klinisi yang didapat adalah adanya pengetahuan baru yaitu bahwa *Gardnerella vaginalis* masih terdeteksi pda sampel swab vagina wanita yang telah melewat masa subur atau Menopause hal ini dikarenakan *Gardnerella vaginalis* merupakan bakteri flora normal yang terdapat pada alat reproduksi wanita. Adapun Manfaat praktisi yang didapat yaitu pengalaman dalam melakukan deteksi *Gardnerella vaginalis* dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Sedangkan manfaat untuk masyarakat yaitu adanya kesadaran wanita dalam menjaga kebersihan vagina baik wanita dalam masa subur maupun wanita menopause, walaupun *Gardnerella vaginalis* merupakan flora normal vagina namun dengan tidak menjaga kebersihan vagina dapat menyebabkan peningkatan jumlah bateri tersebut sehingga dapat menyebabkan keputihan yang dapat mengganggu aktifitas sehari-hari.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat 14 (93%) sampel yang terdeteksi bakteri *Gardnerella vaginalis* pada wanita menopause dengan target pita DNA 206 bp.

B. Saran

Diharapkan kepada peneliti selanjutnya agar dapat melanjutkan penelitian ini dengan menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak serta menggunakan metode real-time PCR (qPCR) untuk menentukan jumlah *Gardnerella vaginalis*.

DAFTAR PUSTAKA

Amalia, E., Wulandari, N., Andriani, Y., & Wartisa, F. (2022). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Keputihan Pada Remaja Putri. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis*, *5*(2), 8–14. https://jurnal.upertis.ac.id/index.php/PSKP/article/download/938/416/

Arfan, I., Saleh, I., & Siska, S. (2022). Analisis Higiene Personal Dan Kejadian Keputihan Pada Siswi Sma Negeri 2 Seponti Kabupaten Kayong Utara. *Jumantik*, *8*(2), 78. https://doi.org/10.29406/jjum.v8i2.3557

Baron, E. J., Peterson, L. R., & Finegold, S. M. (2020). Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology (15th ed.). Elsevier.

Batmomolin, D. A., Lpmbogia, M., Harahap, R. N., Mutmainnah, D. M., Tamunu, E. N., Subagyo, I., Samutri, E., Lestari, N. R. T. R., Kurniawan, C., Triana, W., Nasution, B. H. S., Hapsari, N. V. D., Ivonne, A. V, G., Tempali, S. R., & Manueke, I. (2023). *Bunga Rampai Kesehatan Reproduksi dan Keluarga Berencana*. PT Media Pustaka Indo.

Budhi, D. S., & Wahyudi, D. (2023). Hubungan Usia dan Status Menopause dengan Kejadian Bacterial Vaginosis pada Pasien Keputihan. *Jurnal Analis Kesehatan*, *12*(1), 19. https://doi.org/10.26630/jak.v12i1.3823

Coleman, J. S., & Gaydos, C. A. (2018). Molecular diagnosis of bacterial vaginosis: An update. *Journal of Clinical Microbiology*, *56*(9), 1–9. https://doi.org/10.1128/JCM.00342-1

Fitriyya, M., & Hidayah, N. (2021). *Mencegah Keputihan Pada Wanita Dengan Personal Hygine*. Yuma Pustaka.

Hastuty, Y. D., Siregar, Y., & Putri, E. (2023). *Fakto-Faktor Yang Mempengaruhi Keputihan Pada Remaja*. Pt. Sonpedia Publishing Indonesia. https://books.google.co.id/books?id=YincEAAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Intan, Y. S. N., Istiqomah, Masfiyah, & Suparmi, S. (2022). Edukasi tentang Keputihan bagi Ibu-ibu di Kelurahan Karangmalang, Kecamatan Mijen, Kota Semarang. *Jurnal Pengabdian Sumber Daya Manusia*, *2*(1), 33–38.

Jones, A. (2019). Bacterial Vaginosis: A Review of Treatment, Recurrence, and Disparities. *Journal for Nurse Practitioners*, *15*(6), 420–423. https://doi.org/10.1016/j.nurpra.2019.03.010

Kairys, N., Carlson, K., & Garg, M. (2023). *Gardnerella Vaginalis*. https://www-ncbi-nlm-nih-gov.translate.goog/books/NBK459350/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=id&_x_tr_hl=id&_x_tr_pto

Khehra, N., Padda, I. S., & Swift, C. J. (2023). *Reaksi Berantai Polimerase (PCR)*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589663/

Kuncoro, C. S. (2022). Peran Probiotik terhadap Tingkat Rekurensi Bakterial Vaginosis. *Jurnal Health Sains*, *3*(8), 1285–1294. https://doi.org/10.46799/jhs.v3i8.544

Kusnadi, J., & Arumingtyas, E. L. (2020). *Polymerase Chain Reaction (PCR): Teknik dan Fungsi*. UB Press. https://books.google.co.id/books?id=SgcPEAAAQBAJ&printsec=copyright#v=onepage&q&f=false

Kusters, J.G., Reuland, E.A., Bouter, S.,Koenig, P., Zetsma, J.W.D. (2015) A multiplex real-time PCR assay for routine diagnosis of bacterial vaginosis.*Eur J Miocrobiol Infect Dis*. 34:1779-1785

Lubis, R. F. D. D., Nulianti, R., & Putri, E. A. (2017). Gambaran Bacterial Vaginosis (BV) pada Wanita Hamil yang Berusia 25 Hingga 35 Tahun menggunakan Pemeriksaan Laboratorium di RSIA Anugerah Bunda Khatulistiwa Pontianak. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*, *3*(2).

Mangendre, S. A. (2021). Deteksi *Trichomonas vaginalis* Pada Pekerja Seks Komersial (PSK) di Daerah Nusantara Kota Makassar menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Universitas megarezky Makassar.

Marhaeni, G. A. (2016). Keputihan Pada Wanita. *Jurnal Skala Husada*, *13*(1), 30–38. https://ejournal.poltekkes-denpasar.ac.id/index.php/JSH/article/view/67

Martino JL, Vermund SH. (2020). Vaginal douching: Evidence for risks or benefits to women's health. Epidemiol Rev. ;42(1):1-15.

Melina, F., & Ringringringulu, N. M. (2021). Gambaran Tingkat Pengetahuan Rmaja Putri Tentang Keputihan di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Yogyakarta. *Jurnal Kesehatan Samodra Ilmu (JKSI)*, *12*(2). https://stikes-yogyakarta.e-journal.id/JKSI/article/view/147

Mohammadi, N., Mohammadi-Sichani, M., & Allahdadian, M. (2021). Identification of Gardnerella vaginalis by Molecular Methods in Women Diagnosed With Bacterial Vaginosis in Isfahan, Iran . *Hormozgan Medical Journal*, *25*(4), 175–179. https://doi.org/10.34172/hmj.2021.25

Muzny, C. A., & Schwebke, J. R. (2016). Pathogenesis of Bacterial Vaginosis: Discussion of Current Hypotheses. *Journal of Infectious Diseases*, *214*(Tambahan 1), S1–S5. https://doi.org/10.1093/infdis/jiw121

Nazila, D., Salami, & T. Aditya Kemal. (2023). Hubungan Menopause Dengan Kualitas Hidup Wanita. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, *4*(3), 2738–2744. https://etd.umy.ac.id/id/eprint/233/

Nugrahmi, M. A., Kartika, M., Amelya, P. S., Pagdya, H. N. R., Rifni, S. Y. (2024). Edukasi Pendidikan Keputihan Pada Remaja Putri. *Journal of Human And Education*,4(6).

Nugroho, D., & Susanti, H. (2019). Hubungan Perilaku Menjaga Kebersihan Organ Genital dengan Kejadian Keputihan pada Wanita Menopause. Jurnal Kesehatan Reproduksi, 10(2), 101–108.

Purnamasari, Y., Saimin, J., & Mulyawati, S. A. (2021). Keragaman Mikroorganisme pada Swab Vagina Perempuan Menopause di Kota Kendari Tahun 2020 *(Microorganism Profile of Menopause Vaginal Swab in Kendari City 2020)*. *8*(April), 65–70.

Purnamasari, N. I., Diah. I., Sufiah, A. M., & Yenti, P. (2025). Gambaran Mikrobiota Vagina Wanita Menopause di Kota Kendari Sulawesi Tenggara, Indonesia. *Journal Medical Kieraha*. 7(1).

Puspitaningrum, R., Adhiyanto, C., & Solihin. (2018). Genetika Molekuler dan Aplikasinya. *Genetika Molekuler Dan Aplikasinya*, 75.

Romadhona, N. F. (2022). *Menopause Permasalahan Dan Manfaat Senam Untuk Wanita Menopause*. 48.

Rowley, J., Hoorn, S.V., Korenrom, E., Low, N., Unemo, M., Raddad, L.J.A., Chico, R.M., Smolak, A., Newman, L., Gottlieb, S., Thwin, S.S., Broutet, N., & Taylor, M.M., (2019). Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. Bulletin of the World Health Organization, 97(8), 548–562.

Salamah, U., Kusumo, D. W., & Mulyana, D. N. (2020). Faktor perilaku meningkatkan resiko keputihan. *Jurnal Kebidanan*, *9*(1), 7. https://doi.org/10.26714/jk.9.1.2020.7-14

Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, *4*(1), 36. https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65550

Siahaan, R. E., Niode, N. J., & Pandaleke, T. A. (2016). Profil vaginosis bakterial di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado periode Januari 2011-Desember 2015. *Jurnal E-Clinic (ECl)*, *4*(2). https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/eclinic/article/view/14502/14075

Sudarsana, P., Suardana, K., Puspitayani, I. G. A. M., & Arsani, N. L. K. A. (2022). Bakterial Vaginosis: Etiologi, Diagnosis dan Tatalaksana. *Ganesha Medicina Journal*, *2*(2).

Suminar, E. R., Sari, V. M., Magasida, D., Nurfita, N. R., & Agustiana, A. R. (2022). *Keputihan Pada Remaja*. K-Media.

https://books.google.co.id/books?id=agevEAAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Utami, L. P. P., & Sri Wahyuni, N. P. D. (2021). Infeksi pada Vagina (Vaginitis). *Ganesha Medicine*, *1*(1), 9. https://doi.org/10.23887/gm.v1i1.31698

Wardani, K., Irmayani, & Sundayani, L. (2022). Faktor yang Mempengaruhi Kejadian Keputihan pada Wanita Usia Subur Pekerja Batu Apung. *Midwifery Student Journal*, *1*(1), 1–14.

Wedayanti, desak putu kunti. (2023). Peran Diet Terhadap Pencegahan Vagionosis Bakteri. *Jurnal Medika Hutama*, *02*(01), 402–406.

WHO. (2021). *Reproduktive Health. World Health Organization*. https://www.who.int/westernpacific/health-topics/reproductive-health#:~:text=Reproductive

Wikayanti, R.A., Pratama, B., & Rodiani. (2022). Diagnosis dan Penatalaksanaan Vaginosis Bakterialis pada Wanita Hamil. *Majority*, *11*(1), 19–25. https://doi.org/10.59042/mj.v11i1.127

Yulizawati, & Yulika, M. (2022). *Mengenal Fase Menopause*. Indomedia Pustaka.

Yusuf, Z. K. (2018). *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR). 20(5), 110–113. http://ci.nii.ac.jp/naid/40018819470/

Zaitun, Rizkiyah, D., Nurmasyitah, Z. A. Q., & Muna, K. (2020). Penerapan dalam Menghadapi Menopause Pada Ibu Usia 40-45 Tahun di Kemukiman Unoe Kecamatan Glumpang Baro Kabupaten Pidie. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat (Kesehatan)*, *2*(1), 61–68.

Zhou X, Hansmann MA, Davis CC. (2021) . The vaginal microbiota of postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. Menopause. 28(3):1-9.

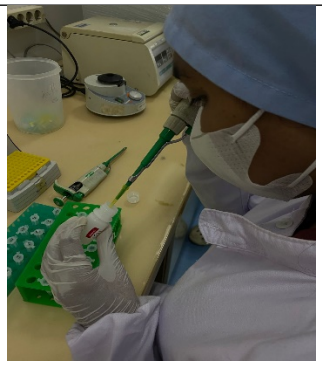
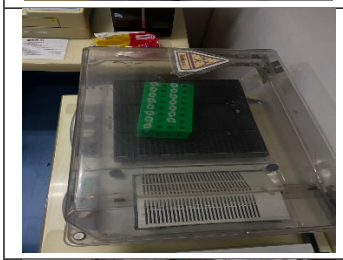
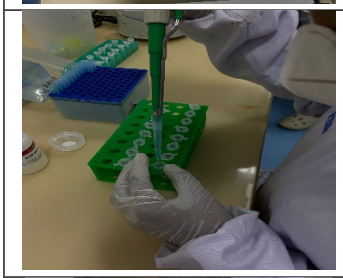
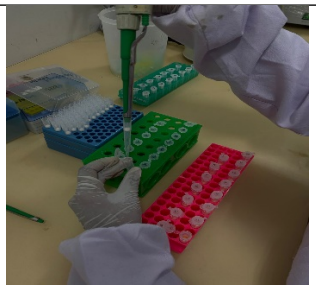
LAMPIRAN

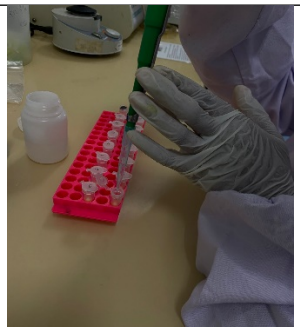
A. Pengisisan Informed Concent dan Pengambilan Sampel

Gambar	Keterangan
	Pengisian *informed concent* dan kue sioner
	Pengambilan sampel swab vagina dan dimasukkan kedalam PBS

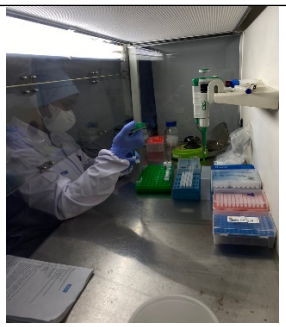
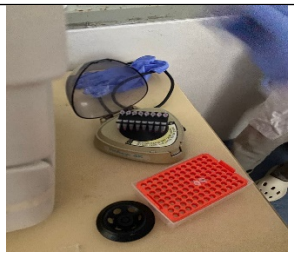
B. Ekstraksi DNA

Gambar	Keterangan
	Pemipetan sampel kedalam tabung mikrosentrifuge

	Penambahan Proteinase K
	Di inkubasi pada 60º C selama 5 menit
	Penambahan Buffer GSB
	Penambahan Ethanol Absolut (98%)
	Dipindahkan kedalam spin column

	Penambahan Buffer W1
	Penambahan Elution Buffer

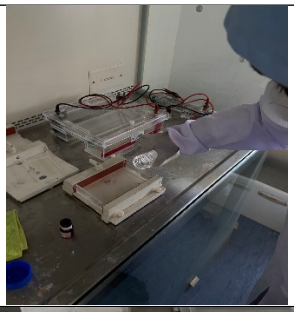
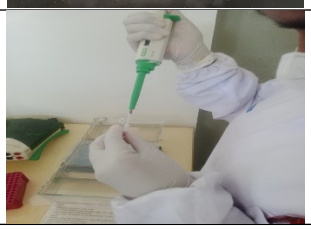
C. Amplifikasi PCR

Gambar	Keterangan
	Pembuatan Mix PCR
	Divortex sampel

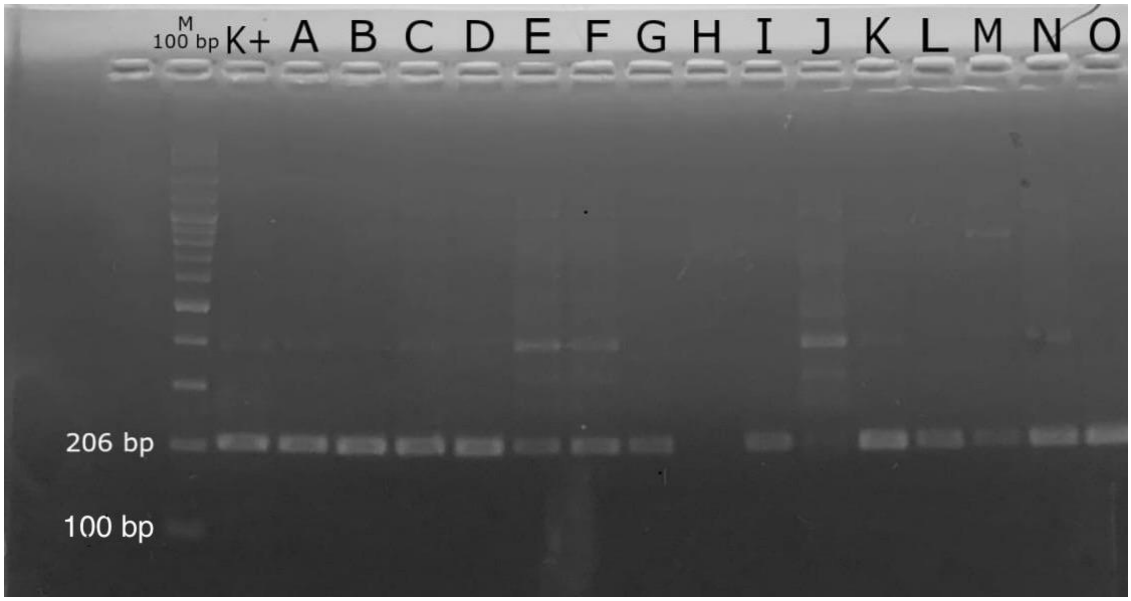
	Dimasukkan sampel ke dalam alat PCR

D. Elektroforesis

Gambar	Keterangan
	Ditimbang bubuk agarosa 1,5 gr
	Ditambahkan 100 ml TBE 0,5x
	Dipanaskan di microwave
	Penambahan Ethiudium Bromide

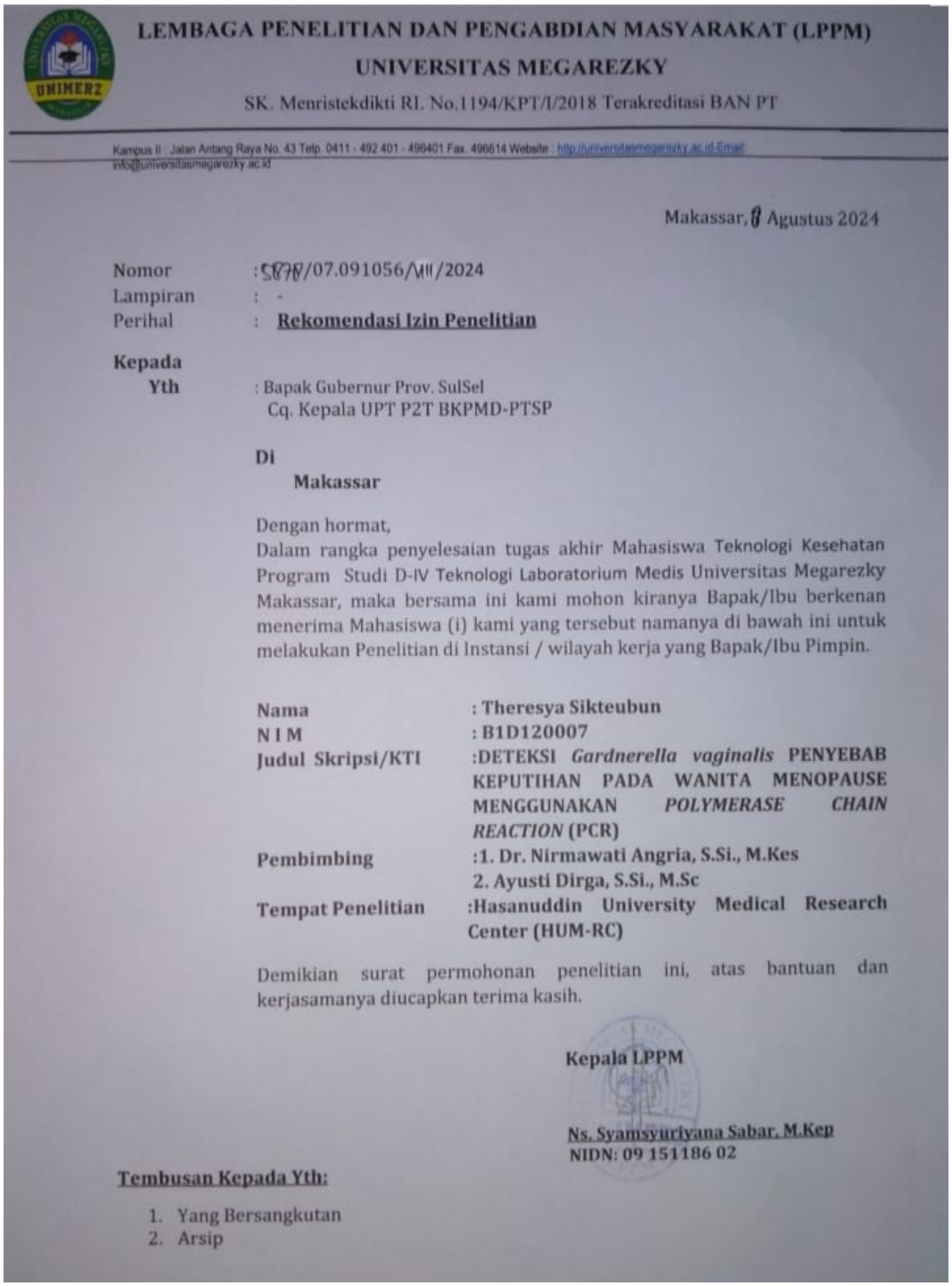
	Dituang gel agarosa kedalam cetakan
	Didiamkan sampai gel memadat
	Pemipetan DNA, kontrol + - dan marker pada sumur

E. Hasil Visualisasi Elektroforesis



LAMPIRAN

Lampiran I. Surat Izin Penelitian



LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MEGAREZKY
SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT

Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id-Email: info@universitasmegarezky.ac.id

Makassar, 8 Agustus 2024

Nomor : 5870/07.091056/VIII/2024
Lampiran : -
Perihal : **Rekomendasi Izin Penelitian**

Kepada
Yth : Bapak Gubernur Prov. SulSel
Cq. Kepala UPT P2T BKPMD-PTSP

Di
Makassar

Dengan hormat,
Dalam rangka penyelesaian tugas akhir Mahasiswa Teknologi Kesehatan Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky Makassar, maka bersama ini kami mohon kiranya Bapak/Ibu berkenan menerima Mahasiswa (i) kami yang tersebut namanya di bawah ini untuk melakukan Penelitian di Instansi / wilayah kerja yang Bapak/Ibu Pimpin.

Nama	**: Theresya Sikteubun**
N I M	**: B1D120007**
Judul Skripsi/KTI	**:DETEKSI *Gardnerella vaginalis* PENYEBAB KEPUTIHAN PADA WANITA MENOPAUSE MENGGUNAKAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)**
Pembimbing	**:1. Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes** **2. Ayusti Dirga, S.Si., M.Sc**
Tempat Penelitian	**:Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)**

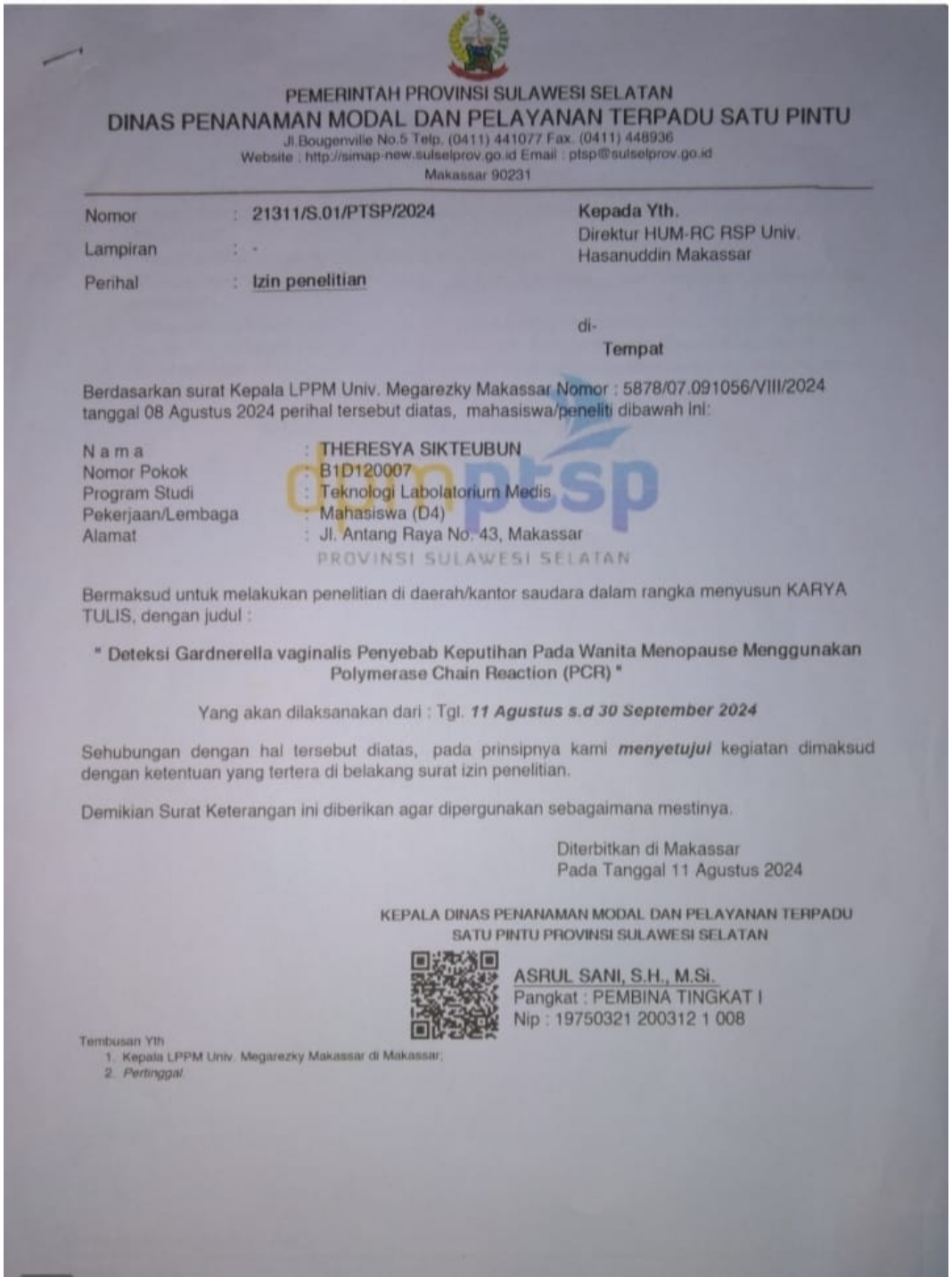
Demikian surat permohonan penelitian ini, atas bantuan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Kepala LPPM

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep
NIDN: 09 151186 02

Tembusan Kepada Yth:
1. Yang Bersangkutan
2. Arsip

Lampiran II. Surat Izin Penelitian (Penanaman Modal)



PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU
Jl.Bougenville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website : http://simap-new.sulselprov.go.id Email : ptsp@sulselprov.go.id
Makassar 90231

Nomor : 21311/S.01/PTSP/2024
Lampiran : -
Perihal : Izin penelitian

Kepada Yth.
Direktur HUM-RC RSP Univ. Hasanuddin Makassar

di-
Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 5878/07.091056/VIII/2024 tanggal 08 Agustus 2024 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a : THERESYA SIKTEUBUN
Nomor Pokok : B1D120007
Program Studi : Teknologi Labolatorium Medis
Pekerjaan/Lembaga : Mahasiswa (D4)
Alamat : Jl. Antang Raya No. 43, Makassar

PROVINSI SULAWESI SELATAN

Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara dalam rangka menyusun KARYA TULIS, dengan judul :

" Deteksi Gardnerella vaginalis Penyebab Keputihan Pada Wanita Menopause Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***11 Agustus s.d 30 September 2024***

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami ***menyetujui*** kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

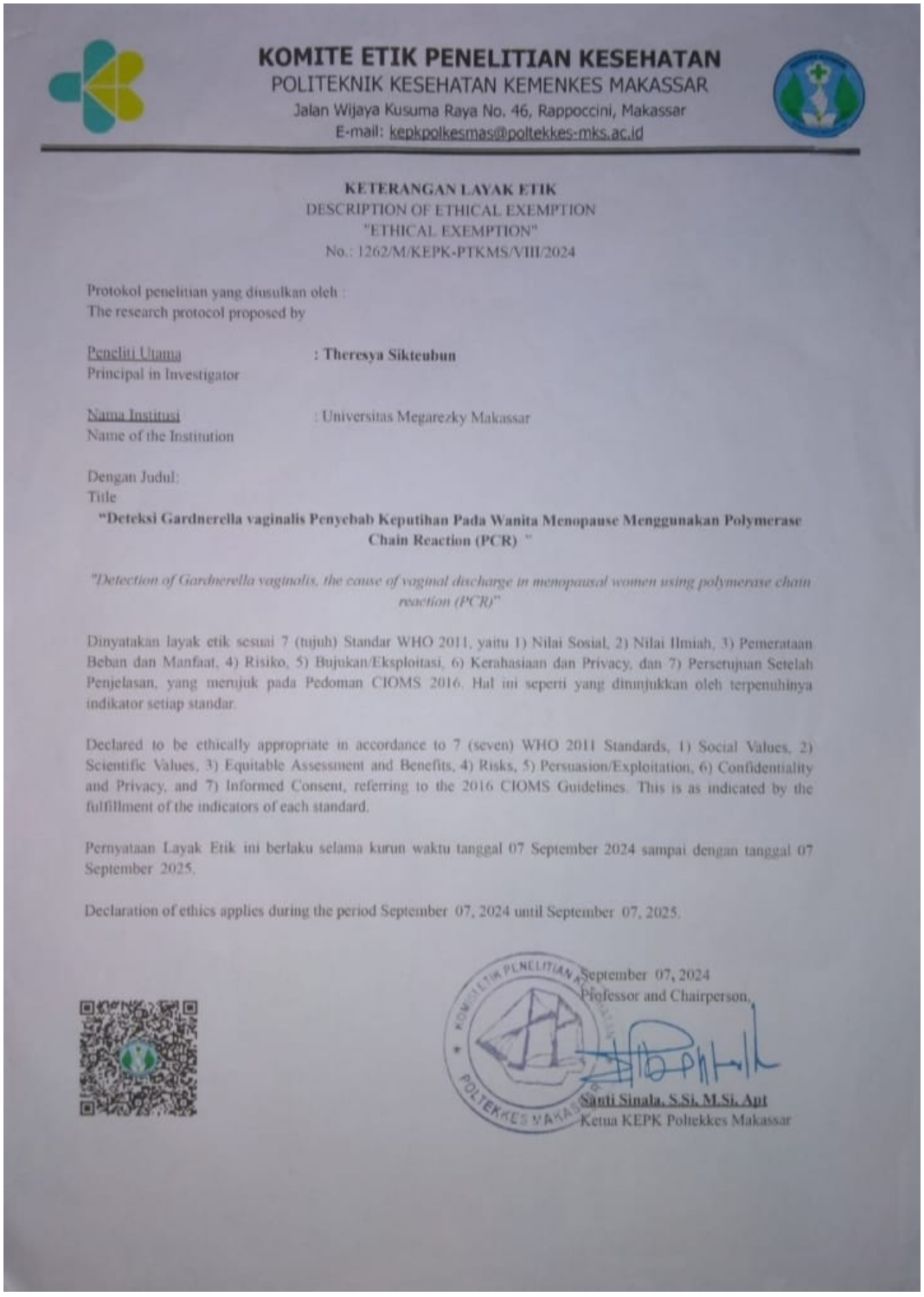
Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 11 Agustus 2024

KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN

ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA TINGKAT I
Nip : 19750321 200312 1 008

Tembusan Yth
1. Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar di Makassar;
2. *Pertinggal*

Lampiran III. Surat Keterangan Layak Etik



KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46, Rappoccini, Makassar
E-mail: kepkpolkesmas@poltekkes-mks.ac.id

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 1262/M/KEPK-PTKMS/VIII/2024

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : **Theresya Sikteubun**
Principal in Investigator

Nama Institusi : Universitas Megarezky Makassar
Name of the Institution

Dengan Judul:
Title
"Deteksi Gardnerella vaginalis Penyebab Keputihan Pada Wanita Menopause Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR) "

"Detection of Gardnerella vaginalis, the cause of vaginal discharge in menopausal women using polymerase chain reaction (PCR)"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 07 September 2024 sampai dengan tanggal 07 September 2025.

Declaration of ethics applies during the period September 07, 2024 until September 07, 2025.

September 07, 2024
Professor and Chairperson,

Santi Sinala, S.Si, M.Si, Apt
Ketua KEPK Poltekkes Makassar

Lampiran IV. Surat Keterangan Selesai Penelitian

HUM-RC science for a better future	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 411/08/FR2/2025	Tanggal : 1 Agustus 2025
SURAT KETERANGAN SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI		

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Theresya Sikteubun

NIM : B1D120007

Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

Judul Penelitian : **Deteksi Gardnerella vaginalis Penyebab Keputihan Pada Wanita Menopause Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR).**

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 30 Juli 2025

Jumlah subjek : ± 15 sampel

Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Muhammad Yusuf Usman, S.Si.

Konsultan : -

Surat keterangan ini juga merupakan penjelasan bahwa peneliti/mahasiswa diatas tidak mempunyai sangkutan lagi pada unit/laboratorium kami.

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Pendamping/Pembimbing

Muhammad Yusuf Usman, S.Si

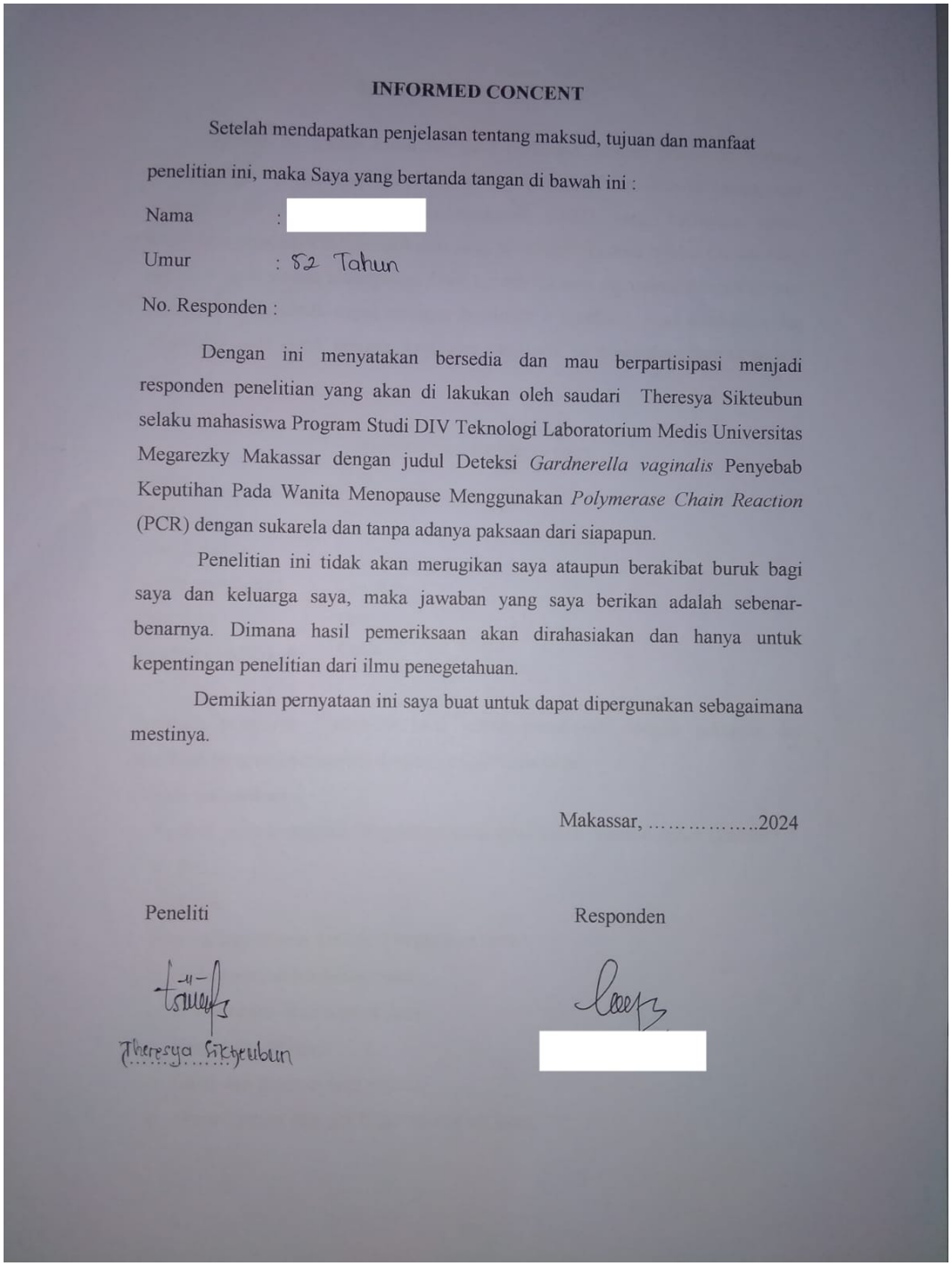
Mengetahui,
Kepala Laboratorium,

dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D
NIP 198108302012122002

Formulir Keterangan Selesai Pengambilan Data/ Analisa Bahan Hayati

Hal. 1 dari 1

Lampiran V. Lembar Informed Concent Responden



INFORMED CONCENT

Setelah mendapatkan penjelasan tentang maksud, tujuan dan manfaat penelitian ini, maka Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : [redacted]

Umur : 52 Tahun

No. Responden :

Dengan ini menyatakan bersedia dan mau berpartisipasi menjadi responden penelitian yang akan di lakukan oleh saudari Theresya Sikteubun selaku mahasiswa Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky Makassar dengan judul Deteksi *Gardnerella vaginalis* Penyebab Keputihan Pada Wanita Menopause Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan sukarela dan tanpa adanya paksaan dari siapapun.

Penelitian ini tidak akan merugikan saya ataupun berakibat buruk bagi saya dan keluarga saya, maka jawaban yang saya berikan adalah sebenar-benarnya. Dimana hasil pemeriksaan akan dirahasiakan dan hanya untuk kepentingan penelitian dari ilmu penegetahuan.

Demikian pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, ……..2024

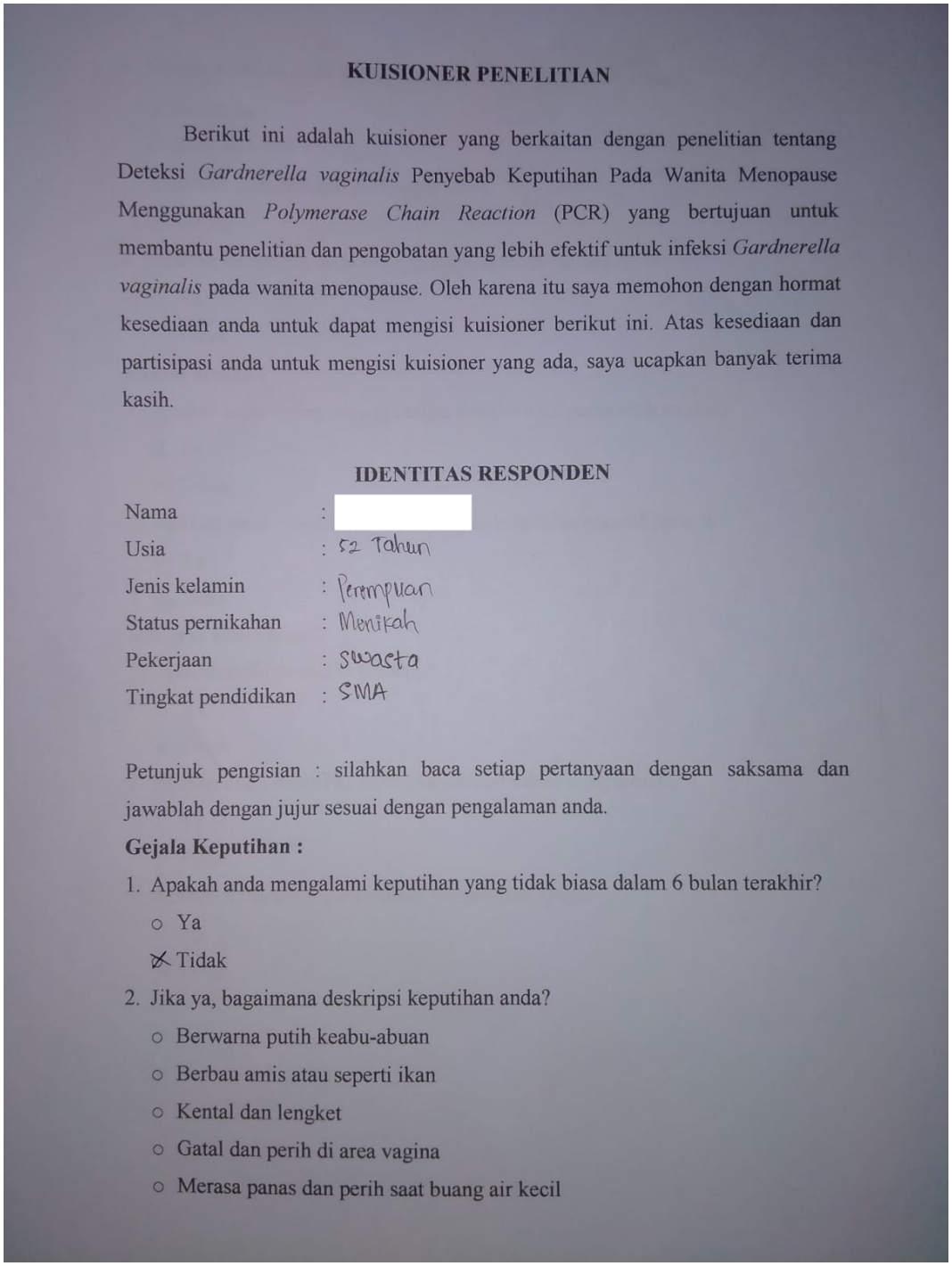
Peneliti

Theresya Sikteubun

Responden

[redacted]

Lampiran VI. Lembar Kuisioner Responden



KUISIONER PENELITIAN

Berikut ini adalah kuisioner yang berkaitan dengan penelitian tentang Deteksi *Gardnerella vaginalis* Penyebab Keputihan Pada Wanita Menopause Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang bertujuan untuk membantu penelitian dan pengobatan yang lebih efektif untuk infeksi *Gardnerella vaginalis* pada wanita menopause. Oleh karena itu saya memohon dengan hormat kesediaan anda untuk dapat mengisi kuisioner berikut ini. Atas kesediaan dan partisipasi anda untuk mengisi kuisioner yang ada, saya ucapkan banyak terima kasih.

IDENTITAS RESPONDEN

Nama :
Usia : 52 Tahun
Jenis kelamin : Perempuan
Status pernikahan : Menikah
Pekerjaan : Swasta
Tingkat pendidikan : SMA

Petunjuk pengisian : silahkan baca setiap pertanyaan dengan saksama dan jawablah dengan jujur sesuai dengan pengalaman anda.

Gejala Keputihan :

1. Apakah anda mengalami keputihan yang tidak biasa dalam 6 bulan terakhir?
   - ○ Ya
   - ✕ Tidak
2. Jika ya, bagaimana deskripsi keputihan anda?
   - ○ Berwarna putih keabu-abuan
   - ○ Berbau amis atau seperti ikan
   - ○ Kental dan lengket
   - ○ Gatal dan perih di area vagina
   - ○ Merasa panas dan perih saat buang air kecil

3. Seberapa sering anda mengalami keputihan yang tidak biasa?
   - ○ Setiap hari
   - ○ Beberapa kali seminggu
   - ○ Sekali atau dua kali seminggu
   - ○ Jarang
4. Apakah keputihan anda mengganggu aktivitas sehari-hari?
   - ○ Ya
   - ○ Tidak

Faktor Risiko :

1. Apakah anda sering menggunakan douche atau pembersih vagina?
   - ✗ Ta
   - ○ Tidak
2. Apakah anda memiliki riwayat penyakit menular seksual lainnya?
   - ○ Ya
   - ✗ Tidak

Riwayat Kesehatan :

1. Apakah anda memiliki diabetes?
   - ○ Ya
   - ✗ Tidak
2. Apakah anda memiliki sistem kekebalan tubuh yang lemah?
   - ○ Ya
   - ✗ Tidak
3. Apakah anda sedang menjalani pengobatan apapun?
   - ○ Ya
   - ✗ Tidak