

BAB 6

PEMBAHASAN

Bakterial vaginosis merupakan salah satu kondisi vulvovaginitis, berkurangnya flora normal seperti *Lactobacillus sp.* yang didominasi oleh bakteri gram negatif seperti *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, spesies *Bacteroides*, spesies *Peptostreptococcus*, spesies *Fusobacterium*, spesies *Prevotella*, dan *Atopobium vaginae*.

6.1 Gambaran Umum Responden BV

Bakteri vaginosis (BV) adalah infeksi polimikrobial ditandai oleh kurangnya hidrogen peroksida yang diproduksi *Lactobacilli* dan pertumbuhan berlebih dari organisme anaerob fakultatif termasuk *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, spesies *Bacteroides*, spesies *Peptostreptococcus*, spesies *Fusobacterium*, spesies *Prevotella*, dan *Atopobium vaginae* (Beckmann *et al.*, 2010). Bakterial vaginosis merupakan penyebab paling umum dari pengeluaran abnormal vagina pada wanita usia subur. Ini adalah sindrom yang tidak diketahui penyebabnya ditandai dengan berkurangnya populasi *Lactobacillus* dan pertumbuhan yang berlebihan dari anaerob vagina, disertai dengan hilangnya keasaman vagina (Hay, 2014).

Pemeriksaan *Gram staining* pada gram vagina merupakan cara cepat dan relatif sederhana untuk mendiagnosis bakterial vaginosis, hal ini memungkinkan pengenalan *intermediate flora*, dan *slide* dapat disimpan dan dievaluasi secara independen dalam studi penelitian di kemudian hari. Pada penelitian ini gambaran bakteri vaginosis pada pengamatan mikroskop terdapat ciri-ciri ada sejumlah besar kokus Gram-negatif dan batang kecil, batang melengkung (*Mobiluncus spp.*) (Gambar 5.1 H0), Sedangkan pada *Lactobacilli* ciri khasnya besar, batang gram-positif tumpul pada ujung. G.

vaginalis biasanya *coccus* gram-negatif, flora normal mencakup *Lactobacilli* yang banyak berlimpah (Gambar 5.H22) (Hay, 2014)

6.2 Pengaruh Skor Nugent Sebelum dan Setelah Pemberian Antibiotik, GMH+Antibiotik, BV Gel, Kombinasi GMH+BV Gel.

Gold standart dalam penelitian untuk mendiagnosis BV yaitu dengan menggunakan skor Nugent ≥ 7 pada *Gram-stain* dari sampel vagina. Metode Amsel digunakan sebagai alat skrining sedangkan skor Nugent berfungsi sebagai diagnosis (Nugent *et al.*, Rodrigues *et al.*, 2015).

Dalam penelitian ini ditemukan adanya skor Nugent tertinggi pada H0 yaitu sebelum diberi perlakuan pada semua kelompok. Pada kelompok antibiotik didapatkan hasil skor Nugent mengalami penurunan tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna pada H0 dan H11, namun pada H11 dan H22 ada perbedaan yang bermakna. Pada kelompok pemberian *BV Gel* pengamatan skor Nugent ada perbedaan yang bermakna pada H0 dan H11, tetapi pada H11 dan H22 tidak ada perbedaan yang bermakna. Sedangkan kelompok GMH+antibiotik dan kombinasi GMH+*BV Gel* didapatkan pada H0, H11 dan H22 terdapat perbedaan yang bermakna yang berarti hasil skor Nugent mengalami penurunan yang signifikan.

Dua subyek yang telah menerima pengobatan aktif prebiotik dan mengembangkan BV pada awalnya kurang menanggapi pengobatan antibiotik dan memiliki skor Nugent (5 dan 6) pada hari-0 (Coste, 2012) Pengobatan antibiotik seringkali berkhasiat namun berbeda derajat pada wanita yang berbeda (Srinivasanetal., 2010). Rekurensi tidak dapat diketahui apakah kekambuhan itu karena resistensi antibiotik, Re-inokulasi, munculnya kembali bakteri endogen, atau beberapa gangguan lainnya yang menyebabkan hilangnya komunitas microbiota. Lokal (dosis tunggal 100 mg,

250 mg, dan 500 mg vagina tablet metronidazol; Atau 0,75% metronidazol gel sekali atau dua kali sehari selama 5 hari) dan metronidazol oral (400 mg dua kali sehari selama 7 hari; atau 500 mg tiga kali sehari selama 10 hari) mempunyai tingkat kegagalan pengobatan yang lebih rendah dibandingkan dengan placebo. Tingkat kesembuhan wanita yang diberi antibiotik lebih tinggi (58% -100%) dibandingkan tingkat kesembuhan wanita yang diberi plasebo (5% -29%) bila dievaluasi 4 minggu setelah perawatan (Koumans, 2002; Oduyebo, 2009; Menard, 2011).

Penelitian Coste (2012) menyatakan bahwa pada pengukuran skor Nugent pada hari-16 terdapat enam responden yang mengalami BV berulang yaitu 2 (11%) pada kelompok aktif prebiotik dan 4 (19%) pada kelompok plasebo. Al-Ghazzewi *et al.* (2007) meneliti potensial penggunaan *Konjac glucomannan* oligosakarida yang berupa enzimatis sebagai prebiotik dengan mempelajari profil pertumbuhan laktobasilus dan bifido ditanam pada *De Man*, *ROGOSA* dan *Sharpe* (MRS) atau media di dalam susu *Ultra high temperature* (UHT) mengandung oligosakarida. *Konjac glucomannan* oligosakarida merangsang pertumbuhan semua strain dan ukuran koloni secara signifikan lebih besar daripada yang tumbuh di pektin atau xylan oligosakarida. Bahkan jumlah koloni unit dalam susu ditambah dengan *Konjac glucomannan* oligosakarida secara signifikan lebih tinggi daripada inulin. Efek prebiotik dari *Konjac glucomannan* juga telah ditunjukkan dalam studi pada manusia yang dilakukan oleh Chen dan rekan untuk memeriksa efek suplemen *Konjac glucomannan* untuk kesehatan (Chen *et al.*, 2006). Al-Ghazzewi dan Tester (2012) mengemukakan bahwa beberapa relatif bekerja pada *mananase* dan *selulase* hidrolisat mempunyai kapasitas yang berfungsi sebagai prebiotik.

Pemberian prebiotik merangsang pertumbuhan probiotik sehingga dapat menurunkan skor Nugent. Perbandingan kemanjuran gel prebiotik yang mengandung sukrosa dengan 0,75% metronidazol gel vagina dalam pengobatan BV (Zeng *et al.*, 2010). Dalam studi itu, gel prebiotik angka kesembuhannya sama dengan metronidazol, mempercepat pemulihan dari mikroflora normal vagina. Coste dkk. mengevaluasi efikasi dan keamanan lain gel prebiotik, diterapkan sebagai terapi adjuvant, pada wanita yang dirawat karena BV dan menunjukkan pemulihan perbaikan dari vagina normal flora, mengurangi risiko kekambuhan (Coste *et al.*, 2012). Pada penelitian O'Hanlon *et al.* (2011) pengujian secara *in vitro* kultur pada tujuh belas spesies bakteri anaerobik terkait BV dan empat spesies *Lactobacilli* vagina diberikan H₂O₂, asam laktat, atau asam asetat pada pH 7.0 dan pH 4.5, dievaluasi hasil setelah dua jam, konsentrasi fisiologis asam laktat mematikan bakteri terkait-BV tanpa mempengaruhi *Lactobacilli* vagina, sedangkan konsentrasi fisiologis H₂O₂ tidak menginaktivasi secara baik bakteri terkait BV atau *Lactobacilli* vagina. H₂O₂ lebih beracun untuk *Lactobacilli* vagina daripada bakteri terkait BV. Atas dasar pengamatan *in vitro* ini, dapat diketahui bahwa asam laktat, bukan H₂O₂, kemungkinan dapat menekan bakteri terkait BV secara *in vivo*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gel prebiotik yang mengandung APP-14 sangat penting untuk memulihkan flora vagina normal (yang dinilai dengan skor Nugent) di semua subjek, sedangkan 33% dari subjek pada D8 dan 24% pada D16 pada kelompok plasebo masih ada menunjukkan skor Nugent abnormal (Coste, 2012). Terapi metronidazol oral (500 mg dua kali sehari untuk 7 hari) ditambah probiotik oral dua kali sehari selama 30 hari menunjukkan kemanjuran yang meningkat secara signifikan dibandingkan dengan oral metronidazol saja (Anukam, 2006). Evaluasi *Lactobacilli*

berdasarkan skor Nugent pada kunjungan 5-7 hari menunjukkan tingkat yang jauh lebih tinggi *Lactobacilli* dalam kelompok gel sukrosa dibandingkan dengan kelompok metronidazol. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan memicu pertumbuhan *Lactobacilli*, gel sukrosa mengembalikan vagina normal flora lebih cepat daripada metronidazol (Menard, 2011).

Pemberian prebiotik dan *BV gel* prebiotik juga merangsang pertumbuhan probiotik sehingga dapat menurunkan skor Nugent. Ekosistem vagina dalam keadaan normal terdapat flora normal yang terdiri dari sejumlah besar bakteri, terutama *Lactobacilli sp.* (90-95%) dan spesies bakteri lain dengan prosentase yang lebih kecil. *Lactobacilli sp.* ini menjaga ekosistem normal vagina dengan mencegah pertumbuhan, adhesi, dan ekspansi dari patogen yang masuk melalui vagina. Flora normal merupakan faktor penting dalam pertahanan anti infeksi pada ekosistem vagina. *Lactobacillus spp* memproduksi hidrogen peroksida, karakteristik ini menghilangkan bakteri lain yang tidak dapat mensintesis katalase. *Lactobacilli* vagina memproduksi asam organik sehingga pH vagina normal < 4,7 dengan menggunakan glikogen di epitel vagina sebagai substrat, juga mensintesis bakteriosin, protein yang menghambat spesies bakteri lainnya (Livengood, 2009; Guta, 2013).

Glucomannan hydrolysates yang diproduksi dengan enzim *mannanase* atau *selulase* merupakan sumber karbon dari bakteri asam laktat selulase dan hidrolisat yang paling berperan penting terhadap bakteri asam laktat. Hidrolisis yang dihasilkan dari konjak glukomanan oleh dua sistem enzim *mannanase* dan *selulase* secara efektif merangsang pertumbuhan bakteri asam laktat. Penggunaan selulase atau *mannanase* untuk menghidrolisis konjac *glucomannan* dapat menghasilkan pembentukan substrat prebiotik

yang efektif (Al-Ghazzewi dan Tester, 2012). BV Gel mengandung *lactic acid* secara efektif menetralkan bau tak sedap dan mengembalikan pH normal vagina, juga mengandung glikogen, yang memberikan nutrisi bagi bakteri asam laktat dan mendukung pertumbuhannya. Dengan pH dan nutrisi normal, bakteri asam laktat meningkatkan pertumbuhan dan keseimbangan vagina menjadi normal.

Berbagai penelitian melaporkan bahwa *Lactobacillus strain* dapat menjaga dan meningkatkan ekosistem vagina yang sehat dengan mengaktifkan perkumpulan dari bakteri, jamur, dan virus patogen, selain itu dapat digunakan sebagai *biomarker* untuk mengevaluasi kesehatan dan penyakit, karena *lactobacilli* membatasi pertumbuhan organisme dengan menjaga keasaman lingkungan dalam memproduksi bakteriosin dan asam laktat. Asam laktat penting dalam pemeliharaan kesehatan vagina, karena menciptakan pH asam yang mendukung peningkatan *Bacillus acidophilus* dan menghambat pertumbuhan patogen (O'Hanlon *et al.*, 2011; Petrova *et al.*, 2015).

6.3 Pengaruh Presentasi Sel Treg Sebelum dan Setelah Pemberian Antibiotik, GMH+Antibiotik, BV Gel, Kombinasi GMH+BV Gel

Dalam penelitian ini ditemukan presentasi sel Treg paling rendah pada pengamatan hari ke-0 sebelum perlakuan, kemudian rerata jumlah sel Treg meningkat pada pengamatan hari ke-11 dan meningkat lagi pada pengamatan hari ke-22. Penilaian presentasi sel Treg pada kelompok antibiotik dan kelompok *BV Gel* perbandingan H0 dan H11 didapatkan hasil presentasi sel Treg mengalami peningkatan tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna, sedangkan pada H11 dan H22 ada perbedaan yang bermakna. Pada kelompok kombinasi GMH+antibiotik dan GMH+*BV Gel* didapatkan

hasil presentasi sel Treg mengalami peningkatan dan ada perbedaan yang signifikan pada H0, H11 dan H22. Tampak histogram tertinggi pada kelompok pengamatan hari ke-22.

Lin *et al.* (2010) melaporkan bahwa GMH mempunyai efek *immunomodulatory* pada pengembangan kekebalan tubuh organ, memberikan imunitas humoral, seluler dan mukosa. Studi pada tikus memberikan hasil spesifik tentang bagaimana pengaruh antibiotik terhadap keseimbangan subtipe sel T dan homeostasis dari sistem kekebalan tubuh (Francino dan Moya, 2013). Efek antibiotik terhadap sistem kekebalan tubuh untuk melawan infeksi kemungkinan melalui beberapa cara yang melibatkan imunitas bawaan maupun imunitas adaptif. Antibiotik menginduksi mikrobiota mukosa sehingga dapat merubah jenis dan keragaman mikroba yang terkait *Microbial-associated Molecular Patterns* (MAMPS) dan membran *toll like Receptors* (TLRs) serta sel imun bawaan, sehingga berdampak mulai dari pengembangan jaringan limfoid hingga diferensiasi subtipe sel T, priming neutrofil untuk membunuh bakteri, produksi molekul antibakteri, dan pelepasan berbagai fungsi sitokin (Ubeda dan Pamer, 2012). Peran utama Sel T regulator (Treg) dan anti-inflamasinya dalam keseimbangan kekebalan tubuh, apabila koloni mikroba tidak adekuat dapat terjadi ketidakseimbangan antara sel Treg dan target efekturnya (Rook, 2005).

Prebiotik dapat merangsang pertumbuhan probiotik *Lactobacillus sp.*, probiotik ini dapat bekerja dengan melibatkan jenis sel T yaitu sel Treg (sel T down regulasi sistem kekebalan dengan memproduksi pelepasan sitokin IL-10), sehingga meningkatkan jumlah sel Treg di dalam tubuh, untuk memberikan manfaat terapi sebagai efek antimikroba dengan menghambat pertumbuhan beberapa bakteri Gram negatif dan Gram positif yang

berbahaya, (Huber, *et al.*, 2011). Prebiotik secara bersamaan mengaktifkan subpopulasi T-limfosit yang berbeda dan sel dendritik (Hoentjen, 2005).

Glucomannans dilaporkan dapat merangsang sistem kekebalan tubuh dan meningkatkan ketahanan infeksi (Swanson *et al.*, 2002; Torrecillas *et al.*, 2007). BV telah meningkatkan sel T CD4 dan CD8 dan mengurangi sel Treg sebagai proporsi total sel T dalam darah perifer. Sel perifer dipengaruhi oleh perubahan bakteriologis di vagina tidak diketahui. Tregs mengekspresikan IL-10, TGF- β , dan Foxp3 memiliki peran antiinflamasi dalam respon kekebalan tubuh (Afzali *et al.*, 2007). Efek antiinflamasi probiotik mungkin bergantung pada beberapa mekanisme, seperti adhesi pada barrier epitel dan efek antimikroba. Hubungan sel T regulator dan sitokin berkaitan dengan fungsi probiotik dapat meningkatkan regulasi sitokin yang berperan utama dalam efek perlindungan probiotik. Efek probiotik berinteraksi dengan mukosa sel dendritik yang menghasilkan sitokin regulasi sendiri atau menginduksi sel T untuk mendapatkan respon sel regulator yang lebih kuat belum diketahui dengan pasti (Boirivant dan Strober, 2007). Penelitian lain menjelaskan bahwa *Lactobacillus sp.* mempunyai efek imunodulator (Haller, 2002; Smits, 2005; Jeon, 2012) dapat menginduksi CD4+ Treg (Rosseli, 2009).

6.4 Pengaruh Kadar TGF- β Sebelum dan Setelah Pemberian Antibiotik, GMH+Antibiotik, BV Gel, Kombinasi GMH+BV Gel

Dalam penelitian ini ditemukan kadar TGF β paling rendah pada pengamatan hari ke-0 sebelum perlakuan, kemudian rerata kadar TGF- β meningkat pada pengamatan hari ke-11 dan meningkat lagi pada pengamatan hari ke-22. Tampak histogram tertinggi pada kelompok pengamatan hari ke-22. Penilaian kadar TGF- β pada kelompok antibiotik,

kelompok GMH+Antibiotik dan kelompok *BV Gel*, perbandingan H0 dan H11 didapatkan hasil presentasi sel Treg mengalami peningkatan tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna, tetapi pada H22 terdapat perbedaan yang bermakna. Pada kelompok kombinasi GMH+*BV Gel* didapatkan kadar TGF- β mengalami peningkatan dan ada perbedaan yang signifikan pada H0, H11 dan H22.

Dampak antibiotik pada mikrobiota mukosa mempengaruhi pengembangan dan pengoperasian sistem kekebalan tubuh sehingga dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan. Masalah seperti itu berhubungan terutama dengan penurunan Resistensi terhadap infeksi, homeostasis, yang dapat menyebabkan atopik, penyakit inflamasi atau autoimun. (Francino dan Moya, 2013).

Sel mikroba dapat langsung merubah ekspresi dari sitokin melalui pengenalan reseptor yaitu *toll-like receptors* (TLRs), dan juga melalui interaksi enterocytes dan sel immune dengan *Pathogen-associated Molecular Patterns* (PAMPs), seperti Lipopolisakarida (LPS), yang merupakan senyawa membran yang ada pada bakteri Gram-negatif, dan *lipoteichoic acid* dan DNA CpG yang tidak dilembabkan, yang ada pada permukaan semua mikroorganisme, sehingga interaksi tersebut dapat memproduksi sitokin yang diekpresikan pada respon imun (Medzhitov, 2007; Vance, 2009).

PH asam dipengaruhi oleh estrogen karena metabolisme mukosa yang dimediasi glikogen. Keasaman vagina meningkatkan fungsi normal mukosa. Sistem kekebalan vagina yang kompleks berperan utama dalam mengatur mikroflora (Linhares et al., 2011). Kegiatan imunomodulator dari *Lactobacillus* mungkin karena kemampuannya dalam menginduksi produksi sitokin, yang mengarah ke regulasi respon imun bawaan dan imun adaptif

(Lin *et al.*, 2010). *Lactic acid* (LA) berpengaruh langsung pada sel epitel cervicovaginal untuk menginduksi keadaan anti-inflamasi, secara substansial ditandai dengan meningkatkan produksi sitokin anti-inflamasi IL-1RA, dan pengurangan produksi sitokin pro-inflamasi yang sederhana di jalur sel *Ect* dan *End*. Selanjutnya, LA mampu melindungi sel epitel cervicovaginal dari peradangan yang disebabkan agonis TLR, secara signifikan memengaruhi produksi sitokin dan kemokin inflamasi pada presentasi LA. Efek ini diamati tidak hanya di garis sel epitel servikovaginal tetapi juga pada sel epitel primer vagina. Pengaruh LA untuk mencegah produksi mediator pro-inflamasi sel epitel servikovaginal dalam menanggapi TLR2, 3, dan 4 agonis, diduga bahwa LA dapat menghambat inflamasi yang diinduksi oleh *Pathogen-associated Molecular Patterns* (PAMPS), dari berbagai bakteri patogen dan virus (Anahtar, 2015; Arnold, 2016; Hearps, 2017; Ferreira, 2011).

Kombinasi prebiotik dalam mengurangi kolitis pada tikus transgenik, menurunkan sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan IFN- γ , meningkatkan TGF- β dan juga molekul imunomodulator (Shokryazdan *et al.*, 2017). Probiotik mengaktifkan TGF- β melalui jalur sinyal Smad yang menyebabkan degradasi TLR2 pada sel epitel. Peningkatan TGF- β menghasilkan sinyal Smad yang terdapat pada sel mononuklear darah perifer (Fujii *et al.*, 2006; Vinderolan *et al.*, 2005). Probiotik menginduksi sel T regulator yang pada awalnya berasal dari studi *in vitro* bahwa stimulasi Sel T oleh allogeneic APC dengan adanya probiotik (*L. paracasei*) yang menyebabkan penurunan proliferasi sel T dan memproduksi IL-10 dan TGF- β (von der Weid *et al.*, 2001).

Berbagai penelitian tentang *host*/kultur sel yang berbeda menunjukkan pengaruh yang menguntungkan dari prebiotik pada fungsi sistem

kekebalan tubuh, dengan mengatur ekspresi sitokin proinflamasi dan anti inflamasi. Namun, sebagian besar penelitian menganggap pengaruh tidak langsung prebiotik pada sistem kekebalan tubuh, di mana prebiotik memperbaiki fungsi kekebalan tubuh melalui peningkatan populasi flora normal vagina, sekaligus mengurangi bakteri patogen.

Asuhan kebidanan pada wanita dengan bakterial vaginosis dengan memberikan komunikasi, informasi dan edukasi (KIE) efektif tentang menjaga personal hygiene khususnya daerah genitalia dengan cara mengganti celana dalam setiap hari dari bahan katun, melakukan cebok yang benar dari depan ke belakang setiap BAB/BAK untuk mengurangi kontaminasi mikroorganisme dari rektum, tidak menggunakan bahan kimia pembersih vagina, melakukan hubungan seksual dengan pasangan yang sah, tidak dianjurkan memakai panty-liner setiap hari, setelah mandi daerah vulva dikeringkan dengan baik sebelum berpakaian (bisa memakai hairdryer). Mengurangi konsumsi gula, alkohol, coklat atau kafein dalam diet sehari-hari. Kebiasaan melakukan irigasi vagina tidak diperbolehkan, tidak boleh memakai tampon, dan tidak boleh memakai spray pada vagina atau tissue/ sanitary napkins yang berparfum wangi.

6.5 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini tidak adanya kelompok kontrol dimana pemeriksaan skor Nugent, presentasi sel Treg dan kadar TGF- β dilakukan pada pasien yang sehat atau tidak mengalami bakterial vaginosis sehingga belum dapat membandingkan skor Nugent, presentasi sel Treg dan kadar TGF- β antara kelompok pemberian GMH dan *BV Gel* pada bakterial vaginosis dengan kelompok kontrol yang sehat tanpa pemberian terapi, hal itu merupakan suatu keterbatasan dalam penelitian ini.