

## Pemanfaatan *Multiplex Nested Polymerase Chain Reaction* untuk Deteksi Patogen Penyebab Infeksi Kongenital

### *Utilization of Multiplex Nested Polymerase Chain Reaction for Detection of Pathogens Causing Congenital Infections*

Patricia Gita Naully<sup>1</sup>✉ dan R. Noucie Septriliyana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Teknologi Laboratorium Medik (D-4), Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan, UNJANI

<sup>2</sup>Kebidanan (S-1) dan Profesi Bidan, Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan, UNJANI

#### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Salah satu penyebab tingginya angka kematian bayi di Kabupaten Bandung adalah infeksi kongenital seperti *Toxoplasma gondii*, *Cytomegalovirus* (CMV), dan *Herpes Simplex Virus* (HSV). Untuk menurunkan angka tersebut dibutuhkan metode deteksi yang sensitif dan spesifik. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah *multiplex nested Polymerase Chain Reaction* (PCR).

**Tujuan:** Mendeteksi *T. gondii*, CMV, dan HSV pada wanita hamil di Klinik Praktek Mandiri Bidan Anna Rohanah Kabupaten Bandung dengan metode *multiplex nested PCR*.

**Metode:** Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *quota sampling* dengan jumlah sampel sebanyak 42 orang. Gen B1 dari *T. gondii*, MIEA dari CMV, dan Glikoprotein D dari HSV diamplifikasi menggunakan primer spesifik. Analisis data yang digunakan adalah teknik analisis deskriptif.

**Hasil:** Dari 42 orang wanita hamil, terdapat 3 orang (7,14%) yang terinfeksi *T. gondii* dan 1 orang (2,38%) yang mengalami koinfeksi CMV – HSV. Dua dari tiga wanita hamil dengan toxoplasmosis tidak menunjukkan gejala sedangkan wanita dengan koinfeksi CMV - HSV mengalami keputihan, sakit buang air kecil, gatal pada area genital, dan terdapat bintil pada mulutnya.

**Kesimpulan:** Metode *multiplex nested PCR* berhasil digunakan untuk mendeteksi infeksi *T. gondii* pada 3 orang wanita hamil dan koinfeksi CMV – HSV pada 1 orang wanita hamil di Klinik Praktek Mandiri Bidan Anna Rohanah Kabupaten Bandung.

**Kata Kunci:** *Cytomegalovirus; Herpes Simplex Virus; Polymerase Chain Reaction; T. gondii*

#### ABSTRACT

**Background:** One of the causes of high infant mortality in Bandung regency is congenital infections such as *Toxoplasma gondii*, *Cytomegalovirus* (CMV), and *Herpes Simplex Virus* (HSV). To reduce this number, a sensitive and specific detection method is required. One method that can be used is *multiplex nested Polymerase Chain Reaction* (PCR).

**Objective:** Detect *T. gondii*, CMV, and HSV in pregnant women at the Anna Rohanah Independently Practicing Midwife, Bandung Regency using *multiplex nested PCR* method.

**Methods:** The sampling technique used *quota sampling* with a total sample of 42 people. Genes B1 from *T. gondii*, MIEA from CMV, and Glycoprotein D from HSV were amplified simultaneously. The data analysis used descriptive analysis technique.

**Results:** Of the 42 pregnant women, there were 3 people (7.14%) infected with *T. gondii* and 1 person (2.38%) who had CMV-HSV coinfection. Two out of three pregnant women with toxoplasmosis were asymptomatic, while women with CMV-HSV co-infection experienced vaginal discharge, painful urination, itching in the genital area, and nodules in her mouth.

**Conclusion:** The *multiplex nested PCR* method was successfully used to detect *T. gondii* infection in 3 pregnant women and CMV - HSV coinfection in 1 pregnant woman at the Anna Rohanah Independent Practice Clinic, Bandung Regency.

**Keywords:** *Cytomegalovirus; Herpes Simplex Virus; Polymerase Chain Reaction; T. gondii*

✉Corresponding author: [patriciagitanaully@gmail.com](mailto:patriciagitanaully@gmail.com)

Diajukan 3 Maret 2021 Diterima 14 Januari 2022 Diterima 14 Januari 2022

## PENDAHULUAN

Kabupaten Bandung adalah salah satu kabupaten yang ada di Provinsi Jawa Barat, Indonesia. Kabupaten tersebut memiliki luas sebesar 1762,4 km<sup>2</sup> dan penduduk sebanyak 3.717.291 jiwa (Badan Pusat Statistik Kabupaten Bandung, 2019). Padatnya penduduk di kabupaten tersebut menyebabkan timbulnya berbagai macam masalah, antara lain masalah kesehatan.

Salah satu masalah kesehatan yang dihadapi adalah angka kematian bayi yang masih tinggi. Berdasarkan data Dinas Kesehatan, angka kematian bayi di Kabupaten Bandung tahun 2016 mencapai 33,6 per 1000 kelahiran hidup (Dinas Kesehatan Kabupaten Bandung, 2018). Angka tersebut meningkat tiap tahun. Pada tahun 2016, dilaporkan jumlah kasus kematian bayi sebanyak 214 bayi. Sebanyak 18 kasus (8,14%) kematian bayi di daerah tersebut disebabkan oleh infeksi kongenital.

Infeksi kongenital adalah infeksi yang terjadi pada bayi akibat tertular dari ibunya. Cara penularannya dapat melalui in utero, intrapartum, atau postnatal (Kamal *et al.*, 2013; Pratama, 2018; Altaie & Al-Attar, 2019). Ada beberapa patogen yang dapat menyebabkan infeksi kongenital, antara lain *Toxoplasma gondii*, *Cytomegalovirus* (CMV), dan *Herpes Simplex Virus* (HSV). Infeksi oleh ketiga patogen tersebut umumnya bersifat asimtomatik, namun signifikansi infeksi dapat meningkat selama masa kehamilan (Kamal *et al.*, 2013; Pratama, 2018; Sari, 2019).

Infeksi kongenital dapat menyebabkan kerusakan pada janin. *Toxoplasmosis* kongenital dapat menyebabkan keguguran, kerusakan visual, dan kerusakan saraf pada bayi seperti hidrosepalus, retardasi mental, *cerebral calcification*, serta *chorioretinitis* (Naully & Supendi, 2020). CMV juga merupakan penyebab gangguan pendengaran, perkembangan saraf, retardasi mental, pneumonia, hepatitis,

dan kelainan darah pada bayi (Kamal *et al.*, 2013; Pratama, 2018). Organ janin yang paling sering mengalami kerusakan akibat infeksi CMV adalah paru-paru, pankreas, ginjal, dan hati (Dinc *et al.*, 2010).

Menurut Kamal *et al.* (2013), sebanyak 50% bayi yang lahir dengan infeksi HSV akan mengalami penyakit yang menyebar ke seluruh tubuh dalam 9-11 hari setelah lahir dan sekitar 20% bayi yang terinfeksi akan mengalami infeksi lokal pada mata, mulut, atau kulit. Beberapa penelitian juga sudah membuktikan bahwa infeksi oleh ketiga patogen tersebut berkaitan dengan *Bad Obstetric History* (Kamal *et al.*, 2013; Altaie & Al-Attar, 2019).

Untuk menurunkan angka kematian dan kecacatan pada bayi maka pemeriksaan terhadap ketiga patogen tersebut perlu dilakukan pada wanita usia subur khususnya wanita hamil. Infeksi *T. gondii*, CMV, dan HSV umumnya dideteksi menggunakan uji serologi seperti *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Uji serologi mendeteksi keberadaan antibodi dalam darah sehingga sering kali menunjukkan hasil negatif palsu selama awal infeksi dan pada penderita imunodefisiensi (Bin Dajem & Almushait, 2012; Rahumatullah *et al.*, 2012).

Selain itu, ELISA juga dilaporkan dapat menunjukkan hasil positif palsu pada kasus infeksi CMV dan HSV (Dinc *et al.*, 2010; Altaie & Al-Attar, 2019). Oleh sebab itu, beberapa peneliti menyarankan penggunaan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mendeteksi *T. gondii*, CMV dan HSV (Bourdin *et al.*, 2014; Altaie & Al-Attar, 2019).

Kamal *et al.*, (2013) merekomendasikan metode PCR jenis *multiplex* untuk mendeteksi ketiga patogen tersebut secara bersamaan. PCR jenis ini dapat mengamplifikasi beberapa gen target secara bersamaan karena menggunakan beberapa primer dalam satu kali reaksi. Dalam penelitiannya, Yamamoto *et al.* (2020) berhasil

meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas metode *multiplex* PCR dalam mendeteksi 7 patogen penyebab infeksi kongenital dengan cara menggabungkannya dengan metode *nested* PCR.

*Nested* PCR adalah metode amplifikasi gen yang menggunakan dua tahap amplifikasi dengan sepasang primer *inner* dan sepasang primer *outer*. Yamamoto *et al.* (2020) berhasil mendeteksi B1 dari *T. gondii*, MIEA dari CMV, dan Glikoprotein D dari HSV menggunakan metode *multiplex nested* PCR. Meskipun demikian, pemeriksaan tersebut masih memiliki kekurangan karena menggunakan spesimen berupa cairan amnion dan cairan serebrospinal neonatal. Teknik pengambilan dua jenis spesimen tersebut lebih sulit dibandingkan dengan darah.

Salah satu klinik bersalin yang ada di Kabupaten Bandung adalah Klinik Praktek Mandiri Bidan Anna Rohanah. Berdasarkan observasi, setiap hari ada sekitar 20 - 30 wanita hamil yang berkunjung ke klinik tersebut. Karakteristik wanita hamil yang berkunjung juga cukup beragam. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk

mendeteksi *T. gondii*, CMV, dan HSV pada spesimen darah dari wanita hamil di Klinik Praktek Mandiri Bidan Anna Rohanah Kabupaten Bandung menggunakan metode *multiplex nested* PCR.

## METODE

Proses pengambilan sampel penelitian bekerja sama dengan Klinik Praktek Mandiri Bidan Anna Rohanah Kabupaten Bandung. Kriteria inklusi sampel penelitian yang digunakan adalah wanita hamil, berusia 20 – 45 tahun, berdomisili di Kabupaten Bandung, dan telah setuju untuk ikut serta dalam penelitian ini dengan cara menandatangani *informed consent*. Wanita hamil yang tidak bersedia menandatangani *informed consent* termasuk ke dalam kriteria eksklusi. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *quota sampling* dengan jumlah sampel sebanyak 42 orang. Semua sampel penelitian diminta untuk mengisi formulir wawancara yang berisi pertanyaan terkait identitas, usia kehamilan, dan berbagai gejala klinis yang disebabkan oleh infeksi *T. gondii*, CMV, dan HSV.

Tabel 1. Karakteristik Primer (Yamamoto *et al.*, 2020)

No	Primer	Amplifikasi	Urutan DNA	Ukuran Amplikon (bp)
1	B1 F1	Tahap I	5'-TGCACCTTTTCGGACCTCAACAAC-3'	284
2	B1 R1		5'-TCGCCTCATTCTGGGTCTACGT-3'	
3	B1 F2	Tahap II	5'-AACGGGCGAGTAGCACCTGAGGAGA-3'	115
4	B1 R2		5'-TGGGTCTACGTTCGATGGCATGACAAC-3'	
5	MIEA F1	Tahap I	5'-CCAAGCGGCCTCTGATAACCAAGCAGCC-3'	435
6	MIEA R1		5'-CAGCACCATCCTCCTCTCCTCTGG-3'	
7	MIEA F2	Tahap II	5'-AGTGTGGATGACCTACGGGCCATCG-3'	110
8	MIEA R2		5'-GGTGACACCAGAGAATCAGAGGAGC-3'	
9	Gli-D F1	Tahap I	5'-ATCCGAACGCAGCCCCGCTG-3'	382
10	Gli-D R1		5'-TCCGGCGGCAGCAGGGTGCT-3'	
11	Gli-D F2	Tahap II	5'-GCGCCGTCAGCGAGGATAAC-3'	280
12	Gli-D R2		5'-AGCTGTATA(G/C)GGCGACGGTG-3'	

Deteksi ketiga patogen tersebut diawali dengan isolasi DNA. DNA diisolasi dari darah sampel penelitian menggunakan gSYNC™ DNA Extraction Kit. Isolasi DNA terdiri dari tiga tahap, yaitu pelisisan sel darah merah, pelisisan inti sel dan pengendapan protein, serta pengendapan dan rehidrasi DNA.

Kemurnian dan konsentrasi DNA hasil isolasi diukur menggunakan alat nanodrop.

Kondisi amplifikasi gen target yang digunakan mengacu pada penelitian Yamamoto *et al.* (2020) dengan sedikit modifikasi karena menggunakan sekuens primer yang sama (Tabel 1). Tahap

denaturasi DNA dilakukan selama 15 menit pada suhu 95°C. Amplifikasi dilakukan sebanyak 40 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, annealing pada suhu 59°C selama 2 menit, dan elongasi pada suhu 72°C selama 1 menit. Langkah elongasi akhir dilakukan selama 5 menit pada suhu 72°C. Volume total reaksi amplifikasi adalah 25µl yang terdiri dari 16,5µl Qiagen Multiplex PCR Master Mix; 2,5µl buffer MgCl<sub>2</sub> 1X; 1µl primer forward 0,4mM; 1µl primer reverse 0,4mM; 1µl Taq DNA Polymerase 0,2U/µl; dan 3µl DNA hasil isolasi.

Pada proses tersebut digunakan tiga kontrol positif, yaitu DNA yang diisolasi dari darah orang yang telah didiagnosis terinfeksi *T. gondii*, CMV, dan HSV menggunakan ELISA. Selain itu, digunakan juga dua kontrol negatif yaitu air steril (ddH<sub>2</sub>O) dan DNA yang diisolasi dari darah orang sehat. Hasil amplifikasi gen divisualisasi dengan metode elektroforesis agarosa. Konsentrasi gel agarosa yang digunakan adalah 1.5%.

Data hasil wawancara dan amplifikasi gen diolah dan dianalisis dengan menggunakan teknik statistik deskriptif. Frekuensi data dihitung dan disajikan dalam bentuk tabel serta grafik. Seluruh prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini sudah sesuai kode etik dan disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan

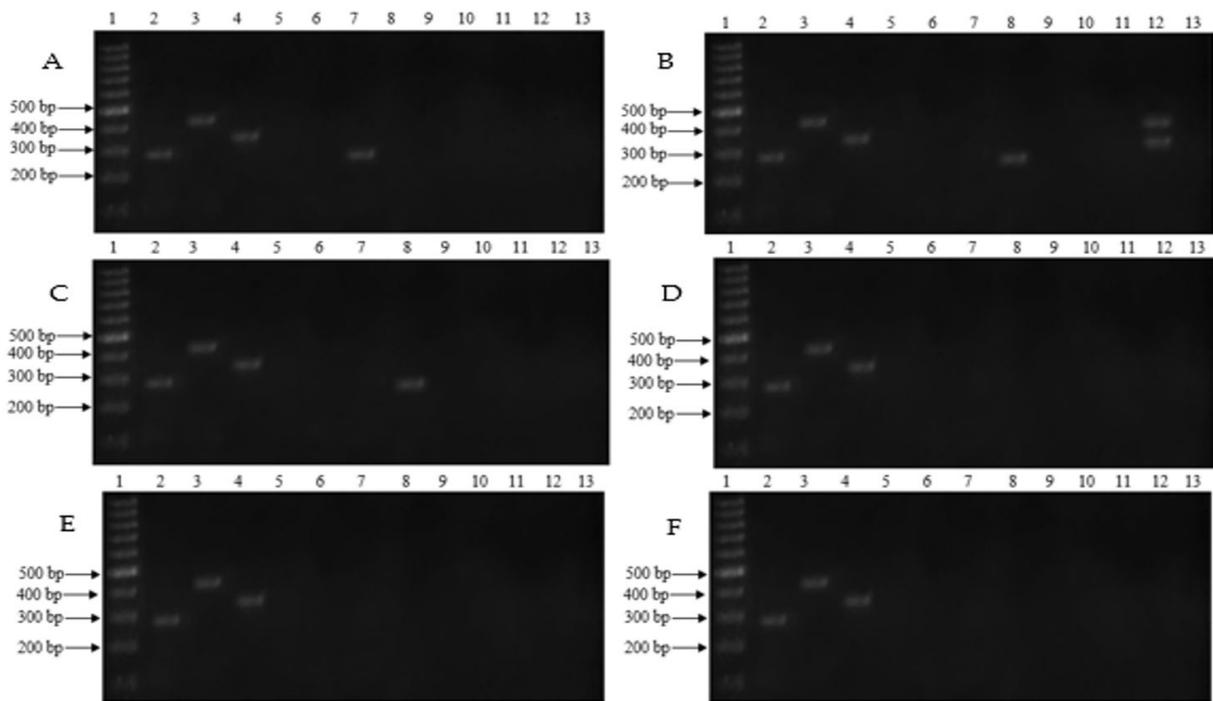
Stikes Jenderal Achmad Yani dengan nomor surat 001/KEPK/I/2021.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini berhasil dikumpulkan 42 orang wanita hamil yang telah memenuhi kriteria inklusi. Mayoritas sampel penelitian berusia dibawah 35 tahun dengan usia kehamilan beragam mulai dari 7 minggu sampai 39 minggu. Dari hasil wawancara diketahui bahwa 11,9% responden pernah mengalami keguguran, 7,14% merasakan sakit atau gatal pada area genital, dan 30,95% mengalami keputihan.

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa DNA dari darah seluruh sampel penelitian berhasil diisolasi. Konsentrasi DNA yang berhasil diisolasi sekitar 84,9 - 808,65 ng/µl dengan tingkat kemurnian yang cukup baik, yaitu antara 1,7 - 2,0.

Pada hasil elektroforesis amplifikasi tahap pertama, terlihat adanya pita DNA yang terbentuk pada 4 sampel penelitian, yaitu sampel nomor 1, 9, 13, dan 15 (Gambar 1). Hasil amplifikasi tersebut dijadikan cetakan untuk proses amplifikasi yang kedua. Ukuran ampikon hasil amplifikasi tahap kedua lebih kecil dari ampikon tahap pertama. Hasil elektroforesis amplifikasi tahap kedua (Gambar 2) menunjukkan adanya pita DNA pada 4 sampel penelitian yang sama dengan hasil amplifikasi tahap pertama.



**Gambar 1.** Hasil Elektroforesis Amplifikasi Gen Tahap Pertama dari Darah Sampel. Lajur 1: Ladder Thermo Scientific 100 bp. Lajur 2: Kontrol Positif Gen B1. Lajur 3: Kontrol Positif Gen MIEA Lajur 4 Kontrol Positif Gen Glikoprotein D. Lajur 5 – 6: Kontrol Negatif. Lajur 7 – 13: (A) DNA Sampel Nomor 1 – 7 (B) Nomor 8 – 14 (C) Nomor 15 – 21 (D) Nomor 22 – 28 (E) Nomor 29 – 35 (F) Nomor 36 – 42.

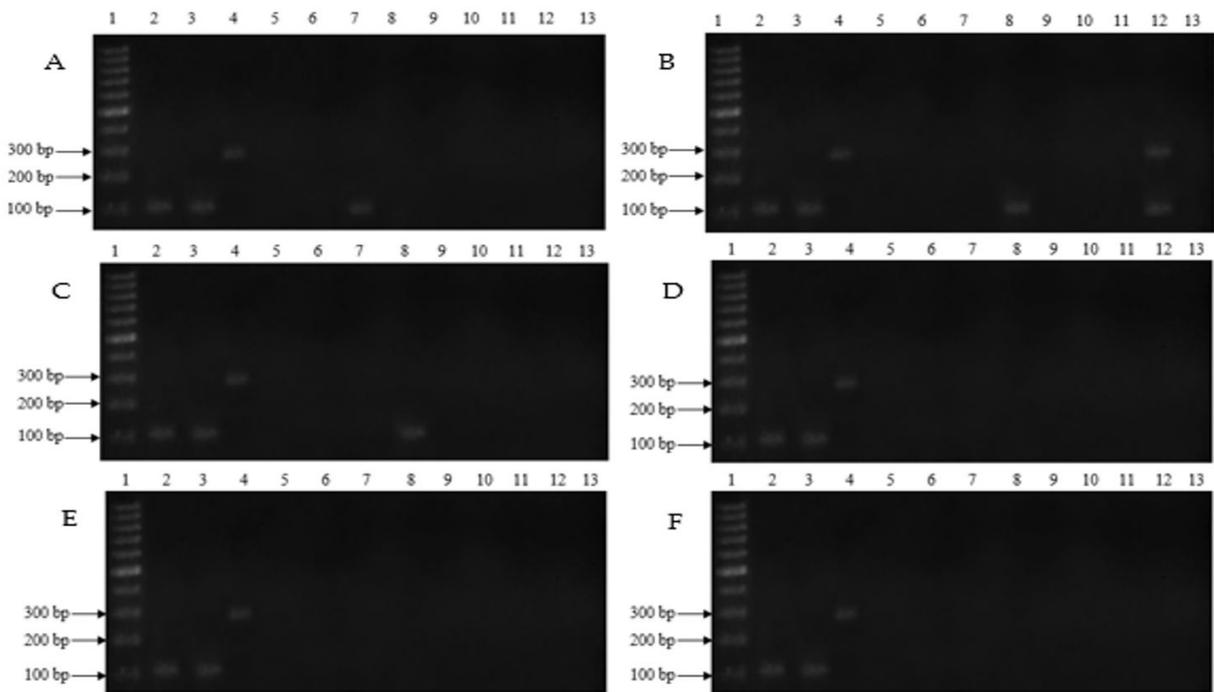
Pada gambar 2(A) lajur 7 terlihat ada satu pita DNA yang berukuran 115 bp. Ukuran pita tersebut sama dengan kontrol positif pada lajur 2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada darah sampel nomor 1 dapat terdeteksi gen B1 dari *T. gondii*.

Pada gambar 2(B) lajur 8 terlihat ada sebuah pita DNA dan pada lajur 12 ada dua buah pita DNA. Pita DNA hasil amplifikasi gen B1 dan gen MIEA sulit dibedakan pada hasil elektroforesis amplifikasi tahap kedua karena ukuran ampikonnya hampir sama yaitu 115 bp dan 110 bp. Pada lajur 8 dan 12 nampak adanya pita DNA dengan ukuran yang sama, namun setelah mengamati hasil elektroforesis amplifikasi pertama dapat terlihat jelas bahwa kedua pita tersebut berbeda. Pada amplifikasi pertama, ampikon gen B1 dan MIEA memiliki

ukuran yang berbeda yaitu 284 bp dan 435 bp.

Oleh sebab itu, dapat dipastikan bahwa pita DNA pada lajur 8 merupakan hasil amplifikasi gen B1 sedangkan pada lajur 12 merupakan amplifikasi gen MIEA. Hasil tersebut membuktikan bahwa sampel nomor 9 terinfeksi *T. gondii* sedangkan sampel nomor 13 mengalami koinfeksi CMV – HSV.

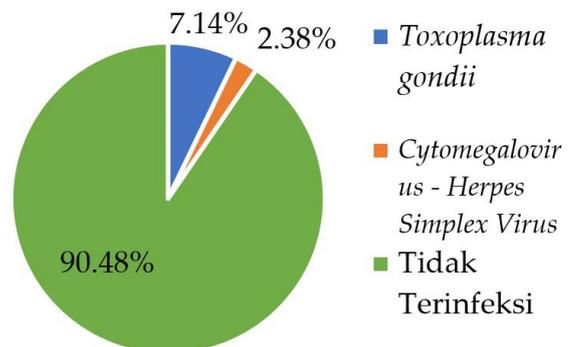
Pada gambar 2(C) lajur 8 juga terlihat adanya sebuah pita DNA berukuran 115 bp yang sama dengan kontrol positif *T. gondii*. Seluruh hasil pemeriksaan ini valid karena sudah menggunakan kontrol positif dan negatif yang sesuai. Proses amplifikasi gen berlangsung secara spesifik. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya smear atau pita DNA yang terbentuk pada kontrol negatif.



**Gambar 2.** Hasil Elektroforesis Amplifikasi Gen Tahap Kedua dari Darah Sampel. Lajur 1: Ladder Thermo Scientific 100 bp. Lajur 2: Kontrol Positif Gen B1. Lajur 3: Kontrol Positif Gen MIEA Lajur 4 Kontrol Positif Gen Glikoprotein D. Lajur 5 – 6: Kontrol Negatif. Lajur 7 – 13: (A) DNA Sampel Nomor 1 – 7 (B) Nomor 8 – 14 (C) Nomor 15 – 21 (D) Nomor 22 – 28 (E) Nomor 29 – 35 (F) Nomor 36 – 42.

Berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium dapat diketahui bahwa terdapat 3 orang (7,14%) wanita hamil yang terinfeksi *T. gondii* dan 1 orang (2,38%) yang mengalami koinfeksi CMV - HSV (Gambar 3). Kedua wanita hamil yang mengalami toxoplasmosis tidak menunjukkan gejala klinis (Tabel 2). Hanya ada 1 orang yang mengaku pernah mengalami keguguran, keputihan, dan sakit pada pinggang bagian bawah. Ada kemungkinan keguguran pada kehamilan wanita tersebut disebabkan oleh *T. gondii* namun wanita tersebut belum pernah melakukan pemeriksaan laboratorium sebelumnya.

Wanita yang mengalami koinfeksi CMV-HSV juga mengaku pernah mengalami keputihan, sakit ketika buang air kecil, gatal pada area genital, dan terdapat bintil pada bagian mulutnya. Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini sudah disampaikan kepada semua sampel penelitian. Keempat orang wanita yang terinfeksi diberikan rujukan ke dokter spesialis untuk mendapatkan pengobatan yang tepat.



**Gambar 3.** Persentase Wanita Hamil di Kabupaten Bandung yang Terinfeksi *T. gondii*, CMV, dan HSV.

Infeksi kongenital yang disebabkan oleh *T. gondii*, CMV dan HSV sebenarnya dapat dideteksi menggunakan uji serologi, namun memiliki beberapa kekurangan. Liu *et al.* (2015) melaporkan bahwa uji serologi sering menunjukkan hasil negatif palsu pada awal infeksi *T. gondii* karena adanya *window periode* selama 1-2 minggu.

Hasil negatif palsu dalam uji serologi *T. gondii*, CMV, dan HSV juga sering ditemui pada orang yang mengalami gangguan sistem imun karena tubuhnya lambat atau gagal memproduksi antibodi (Bin Dajem & Almushait, 2012; Coisel *et al.*, 2012; Rajput *et al.*, 2018). Selain itu, uji

serologi dapat menunjukkan hasil positif palsu pada orang yang mengalami *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE),

*Antiphospholipid Syndrome* (APS), dan *Rheumatoid Arthritis* (De Carolis *et al.*, 2018).

**Tabel 2. Karakteristik Sampel Penelitian.**

No	Variabel	Total (n)	Terinfeksi <i>T. gondii</i>		Koinfeksi CMV-HSV	
			n	%	n	%
1.	Jumlah Sampel	42	3	7,14	1	2,38
2.	Usia Subjek					
	a. 21 – 25 tahun	12	1	8,33	0	0
	b. 26 – 30 tahun	19	2	10,52	0	0
	c. 31 – 35 tahun	8	0	0	1	12,5
	d. 36 – 40 tahun	2	0	0	0	0
	e. 41 – 45 tahun	1	0	0	0	0
3.	Usia Kehamilan					
	a. Trimester 1	11	2	18,18	1	9,09
	b. Trimester 2	17	1	5,88	0	0
	c. Trimester 3	14	0	0	0	0
4.	Memiliki Anak					
	a. Ya	29	0	0	1	3,44
	b. Tidak	13	3	23,07	0	0
5.	Keguguran					
	a. Ya	5	2	40	0	0
	b. Tidak	37	1	2,7	1	2,7
6.	Sakit atau gatal pada area genital					
	a. Ya	3	0	0	1	33,33
	b. Tidak	39	0	0	0	0
7.	Keputihan					
	a. Ya	13	2	15,38	1	7,69
	b. Tidak	29	1	3,44	0	0
8.	Sakit ketika buang air kecil					
	a. Ya	1	0	0	1	100
	b. Tidak	41	0	0	0	0
9.	Bintil putih pada mulut atau hidung					
	a. Ya	1	0	0	1	100
	b. Tidak	41	0	0	0	0
10.	Sakit punggung bagian bawah					
	a. Ya	12	1	8,33	0	0
	b. Tidak	30	2	6,67	1	3,33

Penelitian ini berhasil membuktikan bahwa metode *multiplex nested* PCR dapat dijadikan metode alternatif untuk mendeteksi *T. gondii*, CMV, dan HSV dari spesimen darah. PCR merupakan metode untuk mengamplifikasi urutan DNA tertentu dengan bantuan enzim DNA Polimerase secara *in vitro*. PCR terdiri dari beberapa jenis, yaitu PCR konvensional, *nested* PCR, *Reverse Transcription* PCR (RT PCR), *multiplex* PCR, dan *Real Time* PCR atau disebut juga *quantitative* PCR (qPCR) (Boesenberg-Smith *et al.*, 2012). Metode PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang baik, namun pemilihan jenisnya tergantung pada kebutuhan.

PCR konvensional dan *nested* PCR dapat juga digunakan untuk mendeteksi

*T. gondii*, CMV, dan HSV, namun memiliki kelemahan. Satu kali reaksi PCR konvensional dan *nested* PCR hanya dapat mendeteksi satu jenis gen target dari satu patogen sehingga untuk mendeteksi ketiga patogen tersebut dibutuhkan tiga kali reaksi. Hal tersebut akan berdampak pada jumlah reagen, biaya, dan waktu pengerjaan. Oleh karena itu, *multiplex* PCR dapat dijadikan alternatif untuk mendeteksi lebih dari satu jenis gen dari berbagai patogen.

Metode *multiplex* PCR dapat digabungkan dengan *nested* PCR untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang lebih spesifik dibandingkan metode gabungan *multiplex* dan konvensional PCR (Yamamoto *et al.*, 2020). Meskipun

demikian, metode tersebut masih memiliki keterbatasan jika dibandingkan qPCR. Metode *multiplex nested* PCR hanya dapat menunjukkan hasil pemeriksaan secara kualitatif (positif terinfeksi atau negatif) sedangkan qPCR dapat menunjukkan hasil pemeriksaan secara kuantitatif dengan memberikan data jumlah gen target dari patogen yang menginfeksi pasien.

Seluruh proses pemeriksaan dalam penelitian ini berlangsung dengan baik, mulai dari isolasi DNA hingga visualisasi hasil amplifikasi. Konsentrasi DNA hasil isolasi sudah memenuhi syarat minimal yang dapat digunakan untuk analisis PCR yaitu 100 ng/μl ([Integrated DNA Technologies, 2011](#)). Nilai kemurnian DNA ada yang dibawah 1.8.

Dari hasil tersebut diketahui bahwa ada beberapa DNA hasil isolasi yang masih terkontaminasi dengan protein tetapi masih dapat digunakan untuk analisis PCR. Beberapa sumber menuliskan nilai kemurnian DNA yang baik adalah 1,8 – 2,0 ([Boesenberg-Smith et al., 2012](#); [Gupta, 2019](#)), namun ada pula sumber yang menyatakan bahwa DNA dengan nilai kemurnian 1,7 – 2,0 dapat digunakan untuk analisis PCR ([Piskata et al., 2019](#)).

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian [Saadatnia dan Golkar \(2012\)](#) yang menyatakan bahwa mayoritas toxoplasmosis pada wanita usia subur tidak menimbulkan gejala. Selain itu, kasus koinfeksi CMV – HSV yang ditemukan pada penelitian ini juga pernah dilaporkan oleh [Chiu et al. \(2013\)](#) dan [Xu et al. \(2015\)](#). Pada penelitiannya, [Xu et al. \(2015\)](#) menuliskan bahwa koinfeksi CMV umumnya terjadi pada pasien *immunocompromised*. Hal tersebut bisa juga terjadi pada wanita yang menjadi sampel penelitian ini namun terbukti metode *multiplex nested* PCR yang digunakan berhasil mendeteksi infeksi tersebut. Hasil ini sesuai dengan penelitian [Yamamoto et al. \(2020\)](#) yang menyatakan bahwa metode

*multiplex nested* PCR menunjukkan tingkat deteksi 4,6 kali lebih tinggi dari uji serologi.

## PENUTUP

Melalui penelitian ini dapat disimpulkan bahwa di Klinik Praktek Mandiri Bidan Anna Rohanah Kabupaten Bandung terdapat 3 orang (7,14%) wanita hamil yang terinfeksi *T. gondii* dan 1 orang (2,38%) wanita hamil yang mengalami koinfeksi CMV – HSV. Metode *multiplex nested* PCR terbukti dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mendeteksi patogen penyebab infeksi kongenital pada spesimen darah dari wanita hamil. Bagi wanita pasangan usia subur disarankan untuk melakukan pemeriksaan seperti ini secara dini untuk mencegah infeksi kongenital pada bayi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Altaie, A., & Al-Attar, M. (2019). Molecular Diagnosis of TORCH Infection of Pregnant Women in Iraq. *IJMS*, 2, 58–68.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Bandung. (2019). *Statistik Daerah Kabupaten Bandung 2019*. Badan Pusat Statistik Kabupaten Bandung.
- Bin Dajem, S. M., & Almushait, M. A. (2012). Detection of *Toxoplasma gondii* DNA by PCR in blood samples collected from pregnant Saudi women from the Aseer region, Saudi Arabia. *Annals of Saudi Medicine*, 32(5), 507–512. <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2012.14.7.1200>
- Boesenberg-Smith, K. A., Pessaraki, M. M., & Wolk, D. M. (2012). Assessment of DNA Yield and Purity: An Overlooked Detail of PCR Troubleshooting. *Clinical Microbiology Newsletter*, 34(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2011.12.002>
- Bourdin, C., Busse, A., Kouamou, E., Touafek, F., Bodaghi, B., Le Hoang, P., Mazier, D., Paris, L., & Fekkar, A. (2014). PCR-Based Detection of

- Toxoplasma gondii DNA in Blood and Ocular Samples for Diagnosis of Ocular Toxoplasmosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(11), 3987–3991. <https://doi.org/10.1128/JCM.01793-14>
- Chiu, H., Chang, C., Hsiao, C., & Wang, L. (2013). Concurrent Cytomegalovirus and Herpes Simplex Virus Infection in Pemphigus Vulgaris Treated with Rituximab and Prednisolone. *Acta Dermato Venereologica*, 93(2), 200–201. <https://doi.org/10.2340/00015555-1429>
- Coisel, Y., Bousbia, S., Forel, J.-M., Hraiech, S., Lascola, B., Roch, A., Zandotti, C., Million, M., Jaber, S., Raoult, D., & Papazian, L. (2012). Cytomegalovirus and Herpes Simplex Virus Effect on the Prognosis of Mechanically Ventilated Patients Suspected to Have Ventilator-Associated Pneumonia. *PLoS ONE*, 7(12), e51340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051340>
- De Carolis, S., Tabacco, S., Rizzo, F., Perrone, G., Garufi, C., Botta, A., Salvi, S., Benedetti Panici, P., & Lanzone, A. (2018). Association between false-positive TORCH and antiphospholipid antibodies in healthy pregnant women. *Lupus*, 27(5), 841–846. <https://doi.org/10.1177/0961203317741564>
- Dinas Kesehatan Kabupaten Bandung. (2018). *Profil Kesehatan Tahun 2018*. Dinas Kesehatan Kabupaten Bandung.
- Dinc, B., Bozdayi, G., Biri, A., Kalkanci, A., Dogan, B., Bozkurt, N., & Rota, S. (2010). Molecular detection of cytomegalovirus, herpes simplex virus 2, human papillomavirus 16-18 in Turkish pregnant. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases: An Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 14(6), 569–574. [https://doi.org/10.1016/s1413-8670\(10\)70114-8](https://doi.org/10.1016/s1413-8670(10)70114-8)
- Gupta, N. (2019). DNA extraction and polymerase chain reaction. *Journal of Cytology*, 36(2), 116. [https://doi.org/10.4103/JOC.JOC\\_110\\_18](https://doi.org/10.4103/JOC.JOC_110_18)
- Integrated DNA Technologies. (2011). *Breaking PCR: A Systematic Investigation of Intentional Violations of a Basic Polymerase Chain Reaction Amplification Protocol*. Integrated DNA Technologies.
- Kamal, S. A. A., Awadh, R. M. J., & Al-Marzoqi, A. H. M. (2013). Genetic Study of TORCH Infections in Women with Bad Obstetric History: Multiplex Polymerase Chain Reaction for Detection of Common Pathogens and Agents of Congenital Infections. *Journal of Biology*, 7.
- Liu, Q., Wang, Z.-D., Huang, S.-Y., & Zhu, X.-Q. (2015). Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasites & Vectors*, 8(1), 292. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0902-6>
- Naully, P. G., & Supendi, S. A. (2020). Detection of B1 gene as Toxoplasmosis marker in women of childbearing age in West Bandung Regency, Indonesia. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 9(2), 168–175. <https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v9i2.204>
- Piskata, Z., Servusova, E., Babak, V., Nesvadbova, M., & Borilova, G. (2019). The Quality of DNA Isolated from Processed Food and Feed via Different Extraction Procedures. *Molecules*, 24(6), 1188. <https://doi.org/10.3390/molecules24061188>
- Pratama, B. F. (2018). Infeksi Cytomegalovirus Kongenital. *Jurnal Kesehatan Melayu*, 1(2), 114. <https://doi.org/10.26891/jkm.v1i2.2018.114-117>
- Rahumatullah, A., Khoo, B. Y., & Noordin, R. (2012). Triplex PCR using new primers for the detection of *Toxoplasma gondii*. *Experimental Parasitology*, 131(2), 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.04.009>
- Rajput, R., Denniston, A. K., & Murray, P.

- I. (2018). False Negative Toxoplasma Serology in an Immunocompromised Patient with PCR Positive Ocular Toxoplasmosis. *Ocular Immunology and Inflammation*, 26(8), 1200–1202. <https://doi.org/10.1080/09273948.2017.1332769>
- Saadatnia, G., & Golkar, M. (2012). A review on human toxoplasmosis. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 44(11), 805–814. <https://doi.org/10.3109/00365548.2012.693197>
- Sari, R. D. P. (2019). Kehamilan dengan Infeksi TORCH. *JK UNILA*, 3(1), 176–181.
- Xu, H., Chen, S., Lin, Q., Zhou, H., Huang, C., Lin, J., Xie, W., Chen, K., Zhou, D., Ma, W., Ma, F., & Xue, C. (2015). Double encephalitis with herpes simplex virus type II and cytomegalovirus in an elder Chinese: A case report. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2833. <https://doi.org/10.2147/NDT.S92366>
- Yamamoto, L., Filho, A. G. A., Queiroz, J. A., de Carvalho, M. H. B., Rodrigues, J. C., Kanunfre, K. A., Francisco, R. P. V., & Okay, T. S. (2020). Performance of a Multiplex Nested Polymerase Chain Reaction in Detecting 7 Pathogens Containing DNA in Their Genomes Associated With Congenital Infections. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 144(1), 99–106. <https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0544-OA>