

TESIS

**DETEKSI *Mycobacterium leprae*
MENGUNAKAN TEKNIK POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)
pada APUSAN HIDUNG NARAKONTAK SERUMAH PENDERITA KUSTA**

**Studi Komparatif antara Narakontak Serumah Penderita Kusta Tipe
Multibasiler (MB) & Pausibasiler (PB) di wilayah Puskesmas Kedundung dan
Kamoning Kabupaten Sampang**

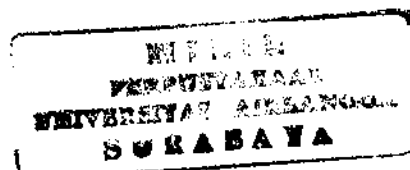
TKT 05 66

M/2
A



AGUS MULYADI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**



TESIS

**DETEKSI *Mycobacterium leprae*
MENGUNAKAN TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)*
pada APUSAN HIDUNG NARAKONTAK SERUMAH PENDERITA KUSTA**

**Studi Komparatif antara Narakontak Serumah Penderita Kusta Tipe
Multibasiler (MB) & Pausibasiler (PB) di wilayah Puskesmas Kedundung dan
Kamoning Kabupaten Sampang**

**AGUS MULYADI
NIM. 090310645L**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**

**DETEKSI *Mycobacterium leprae*
MENGUNAKAN TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)*
pada APUSAN HIDUNG NARAKONTAK SERUMAH PENDERITA KUSTA**

**Studi Komparatif antara Narakontak Serumah Penderita Kusta Tipe
Multibasiler (MB) & Pausibasiler (PB) di wilayah Puskesmas Kedundung dan
Kamoning Kabupaten Sampang**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Kedokteran Tropis
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

**AGUS MULYADI
NIM. 090310645L**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

Tanggal 13 September 2005

Lembar pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 13 September 2005

Oleh
Pembimbing Ketua

Prof. Dr. Indrope Agusni, dr., Sp.KK.(K)
NIP. 130 610 751

Pembimbing

Dr. Kuntaman, dr., M.S
NIP. 130 783 547

Mengetahui
KPS

Dr. Kuntaman, dr., M.S
NIP. 130 783 547

Telah diuji pada
Tanggal 13 September 2005
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Indropo Agusni, dr., Sp.KK(K)
Anggota : 1. Dr. Kuntaman. dr., M.S., Sp.Mk
2. Prof. Kuntoro. dr., MPH., Dr.PH.
3. Prof. Retno Handajani, dr., M.S, Ph.D
4. Lindawati Alimsardjono, dr., M.Kes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. Dr. Indropo Agusni, dr., Sp.KK.(K), Pembimbing Ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr. Kuntaman, dr., M.S, Pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Pemerintah Kabupaten Sampang yang telah memberikan bantuan finansial dalam bentuk subsidi sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan pendidikan Program magister ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga Prof. H. Dr. Med. Puruhito, dr atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program magister.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang dijabat oleh Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Ketua Tropical Disease Center Prof. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc dan staf yang dengan penuh perhatian dan kesabaran merintis terbentuknya program studi Kedokteran Tropis, sekaligus menyediakan fasilitas laboratorium di TDC Universitas Airlangga

Dr. Kuntaman, dr., M.S sebagai Ketua Program Studi beserta seluruh staf pengajar yang telah membimbing dan memberikan bekal ilmu kepada saya, semoga amalnya diterima Allah SWT.

Firman Pria Abadi, dr., M.M selaku Kepala Dinas Kesehatan yang telah memberikan dorongan dan kesempatan untuk melanjutkan pendidikan program magister di Universitas Airlangga.

Kepala Puskesmas Kedundung dan Kamoning yang telah menyediakan tempat dan fasilitas sehingga sampel dapat terkumpul.

Kepala Subdin P2MPL dan staf di Dinas Kesehatan Kabupaten Sampang yang cukup membantu dalam memberikan data sekunder Kusta di Kabupaten Sampang

Dr. Shinzo Izumi, Ph.D sebagai pembimbing di Laboratorium Kusta TDC Unair yang dengan penuh perhatian dan kesabaran, membantu saya dalam melakukan penelitian.

Dinar, Retno dan Yudi di laboratorium Kusta TDC Unair yang sangat membantu dan meringankan tugas saya dalam melakukan penelitian ini.

Para Responden yang sangat membantu menyediakan waktu dan tenaga sehingga mau menjadi sampel penelitian.

Istri tercinta Siti Nurul Fajariyah, S. Sos dan anak-anak tersayang, si kembar Shafa, Syifa Salsabila serta Asyraf Sulthan Zaky yang banyak memberikan inspirasi dalam menyelesaikan pendidikan program Magister ini.

Saudara-saudara saya tercinta beserta seluruh keluarga yang telah memberikan dorongan dan doa yang tulus sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Dan tak lupa saya sampaikan rasa hormat dan bangga serta terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua saya, Bapak H. Mesua dan Hj. Aisyatun serta H. Moh. Mohtar dan Hj. Dara Surfia yang telah banyak memberikan dorongan dan doa sehingga saya dapat melanjutkan pendidikan ini.

Akhirnya saya sampaikan mohon maaf atas segala sesuatu yang kurang berkenan selama ini. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karuniaNya bagi kita semua. Amin

Sampang, September 2005

Penulis

RINGKASAN

**Deteksi *Mycobacterium leprae*
Menggunakan Teknik *POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)*
pada Apusan Hidung Narakontak Serumah Penderita Kusta**

Agus Mulyadi

Penyakit Kusta atau *Morbus Hansen* adalah penyakit kronis yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium leprae* yang secara primer menyerang syaraf tepi, selanjutnya menyerang kulit, mukosa mulut, saluran nafas bagian atas, sistem retikuloendotel, mata, otot, tulang dan testis. Penyakit kusta masih merupakan masalah kesehatan masyarakat, disamping besarnya masalah di bidang medis juga masalah sosial yang ditimbulkan oleh penyakit ini memerlukan perhatian yang serius. Jumlah penderita kusta dari tahun ke tahun semakin mengalami peningkatan. Jawa Timur merupakan daerah dengan prevalensi kusta yang cukup tinggi dan kabupaten yang paling tinggi prevalensinya di Jawa Timur adalah kabupaten Sampang.

Selama ini penegakan diagnosis kusta di lapangan, cukup dengan pemeriksaan klinis dan deteksi basil kusta dengan teknik konvensional yaitu pemeriksaan BTA, namun dengan ditemukannya teknologi PCR dapat mempermudah deteksi *M. leprae*. Keterbatasan uji diagnostik pada masa lalu, saat ini dapat diatasi dengan metode ini.

Tujuan Penelitian ini adalah untuk mempelajari perbedaan insiden ditemukannya *Mycobacterium leprae* pada apusan mukosa hidung narakontak tipe Multibasiler (MB) dan Pausibasiler (PB) dengan teknik pemeriksaan PCR dan BTA di wilayah puskesmas Kedundung dan Kamoning kabupaten Sampang.

Rancangan Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat analitik observasional dengan rancang bangun *cross sectional* atau potong lintang, sampel penelitian adalah semua narakontak serumah dari sebagian penderita kusta yang memenuhi syarat kriteria penerimaan sampel penelitian. Pengambilan sampel dilakukan secara *cluster random 2* tahap, dengan unit klusternya adalah penderita kusta baru dan keluarganya yang tinggal serumah (narakontak). Besar sampel seluruhnya sebanyak 69 sampel. Terdiri dari 36 sampel narakontak penderita kusta tipe MB dan 33 narakontak penderita kusta tipe PB dari wilayah puskesmas Kedundung dan Puskesmas Kamoning Kabupaten Sampang. Selanjutnya diambil spesimen apusan hidungnya dan dilakukan pemeriksaan PCR dan BTA. Data dianalisis dengan menggunakan Uji *Fisher's Exact Test*.

Dari 69 spesimen apusan hidung narakontak penderita kusta yang diperiksa di Laboratorium kusta *Tropical Disease Centre (TDC)* Surabaya didapatkan hasil sebagai berikut :

- ◆ Terdapat 6 spesimen (8.7 %) hasil PCR positif, 4 spesimen diantaranya adalah berasal dari spesimen apusan hidung narakontak penderita kusta MB dan sisanya sebanyak 2 spesimen berasal dari narakontak penderita kusta tipe PB.
- ◆ Tidak ada satupun spesimen Apusan Hidung narakontak kusta MB maupun PB mempunyai hasil positif pada pemeriksaan BTA
- ◆ Dari uji *Fisher's Exact Test* ($p > 0.05$), didapatkan tidak ada perbedaan bermakna antara hasil pemeriksaan PCR pada narakontak penderita kusta tipe MB dan PB.

SUMMARY

DETECTION OF *Mycobacterium leprae* FROM NASAL SWAB SPECIMENS OF LEPROSY HOUSEHOLD CONTACTS USING POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) TECHNIQUE

A Comparative study the existence of *M.leprae* in nasal cavity between Household contacts of Multibacillary (MB) and Pausibacillary (PB) Leprosy In Kedundung and Kamoning District of Sampang Regency

Agus Mulyadi

Leprosy or Morbus Hansen is a chronic disease caused *Mycobacterium leprae*. This bacteria is first attack the periphere neural system, and then the involvement of skin, mucous mouth, upper respiratory system, reticuloendotelial system, eyes, bone and others. Leprosy until now still a problem in both medical and social, This disease is still prevalent in some areas, especially in closed and poor area or village. The Sampang District has the highest incidence of leprosy in East Java.

The unculturable *Mycobacterium leprae* is a great problem for bacteriological diagnosis, until recent development of PCR (Polymerase Chain Reaction), but the Acid fast staining still a first choice for diagnosis in the both primary health care and mostly referral hospital in Indonesia.

The aim of this study was to explore the capacity of PCR and Acid fast staining method for detection of *Mycobacterium leprae* from nose swab of household contact from patients with Multibacillary (MB) and Pausibacillary (PB) leprosy in Kedundung and Kamoning Health Center, Sampang District

This is an Observational study, using the cross sectional design to household leprosy contacts in 2 endemic areas in Sampang Regency : Kedundung and Kamoning Public Health Center. Samples obtained by cluster random sampling techniques and the result was analyzed by Fisher's exact test.

Nasal swab spesimens obtained from 69 leprosy household contacts (36 MB and 33 PB leprosy contacts) were examined using the Ziehl Neelsen (ZN) staining and PCR techniques, using the CD primer to detect *M.leprae*.

No Acid Fast Bacilli (AFB) was found in ZN staining but with PCR technique 6 (8.7 %) were positive, consist of 4 specimens from MB leprosy contacts compared to 2 specimens from PB leprosy contacts. By statistic test there is no significant difference ($p>0.05$) between the positive of *M. leprae* in the specimens obtained from both household contacts groups.

This results was relatively low, compared to other previous studies in East Java. It might be due to previous unrecognized treatment or due to the different primer in PCR method. The other explanation why there is no difference between MB and PB leprosy contacts, could be to the environment *M.leprae* that enter the nasal cavity during breathing.

ABSTRACT

DETECTION OF *Mycobacterium leprae* FROM NASAL SWAB SPECIMENS OF LEPROSY HOUSEHOLD CONTACTS USING POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) TECHNIQUE

A Comparative study the existence of *M.leprae* in nasal cavity between Household contacts of Multibacillary (MB) and Pausibacillary (PB) Leprosy In Kedundung and Kamoning District of Sampang Regency

Agus Mulyadi

Leprosy is still a public health problem in Madura, where the prevalence of the disease still high compared with other areas in East Java. The aim of this study is to compare the existence of *M. leprae* in nasal cavity of household contacts of MB and PB Leprosy.

This is an Observational study, using the cross sectional design to household leprosy contacts in 2 endemic areas in Sampang Regency : Kedundung and Kamoning Public Health Center. Samples obtained by cluster random sampling techniques and the result was analyzed by Fisher's exact test.

Nasal swab specimens obtained from 69 leprosy household contacts (36 MB and 33 PB leprosy contacts) were examined using the Ziehl Neelsen (ZN) staining and PCR techniques, using the CD primer to detect *M. leprae*.

No Acid Fast Bacilli (AFB) was found in ZN staining but with PCR technique 6 (8.7 %) were positive, consist of 4 specimens from MB leprosy contacts compared to 2 specimens from PB leprosy contacts. By statistic test there is no significant difference ($p>0.05$) between the positive of *M. leprae* in the specimens obtained from both household contacts groups.

This results was relatively low, compared to other previous studies in East Java. It might be due to previous unrecognized treatment or due to the different primer in PCR method. The other explanation why there is no difference between MB and PB leprosy contacts, could be to the environment *M. leprae* that enter the nasal cavity during breathing.

Keywords : *M. leprae*, Nasal swab, PCR, Household contacts leprosy

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul depan	i
Sampul dalam	ii
Prasyarat gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan panitia penguji	v
Ucapan terima kasih	vi
Ringkasan	viii
Summary	ix
Abstrak	x
Daftar isi	xi
Daftar tabel	xiv
Daftar gambar	xvi
Daftar Lampiran	xvii
Daftar singkatan	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Definisi	8
2.2 Etiologi	8

2.2.1	Mikrobiologi <i>M. leprae</i>	8
2.2.2	Struktur dan komposisi Biokimia <i>M. leprae</i>	9
2.3	Epidemiologi Penyakit Kusta	12
2.3.1	Penularan Penyakit Kusta	12
2.3.2	Manusia sebagai sumber penularan penyakit kusta ..	14
2.3.3	Narakontak penderita kusta.....	15
2.4	Respon Imun Penyakit Kusta	16
2.4.1	Respon Imun Alami	17
2.4.2	Respon Imun Dapatan	18
2.5	Patogenesis Penyakit Kusta	21
2.6	Klasifikasi Penyakit Kusta	22
2.7	Gambaran Klinis	24
2.8	Diagnosis Penyakit Kusta	26
2.9	Pemeriksaan Penunjang	27
2.9.1	Pemeriksaan Bakteriologis	27
2.9.2	Pemeriksaan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	28
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN DAN HIPOTESIS	
	PENELITIAN	31
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian	31
3.2	Hipotesis Penelitian	32
BAB 4	METODE PENELITIAN	33
4.1	Rancangan Penelitian	33
4.2	Populasi, besar sampel dan teknik pengambilan sampel	33
4.2.1	Populasi Penelitian	33

4.2.2 Sampel Penelitian	33
4.3 Variabel penelitian dan definisi operasional penelitian	34
4.4 Alur Penelitian	36
4.5 Bahan Penelitian	37
4.6 Instrumen Penelitian	38
4.7 Lokasi dan waktu penelitian	39
4.8 Prosedur dan pengambilan data	39
4.9 Cara Pengumpulan dan analisa data	42
BAB 5 HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN	43
5.1 Data Penelitian	43
5.2 Hasil Pemeriksaan Laboratorium	47
BAB 6 PEMBAHASAN	52
BAB 7 PENUTUP	60
7.1 Kesimpulan	60
7.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61
Lampiran	65

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	: Perbedaan tipe PB dan MB menurut klasifikasi WHO..	23
Tabel 5.1	: Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe MB dan PB menurut kelompok umur di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang	44
Tabel 5.2	: Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe MB dan PB menurut status keluarga di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang	46
Tabel 5.3	: Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe MB dan PB menurut lama kontak di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang	47
Tabel 5.4	: Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut tipe penderita kusta di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang	48
Tabel 5.5	: Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut tipe penderita kusta di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang	48
Tabel 5.6	: Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut kelompok umur di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang ..	59

Tabel 5.7	:	Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut lama kontak di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang	49
Tabel 5.8	:	Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut status keluarga di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang ..	50
Tabel 5.9	:	Hasil Pemeriksaan BTA dari apusan hidung narakontak menurut jenis kelamin di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang ..	51

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Struktur anatomi-mikroskopis <i>M. leprae</i>	12
Gambar 2.2 : Proses masuknya <i>M. leprae</i> ke dalam tubuh	17
Gambar 5.1 : Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe MB menurut Jenis Kelamin di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang	45
Gambar 5.2 : Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe PB menurut Jenis Kelamin di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang	46
Gambar 6.1 : Hasil Uji <i>Spesifisitas Primer CD</i>	54
Gambar 6.2 : Hasil Uji <i>Sensitifitas Primer CD</i>	54

DAFTAR SINGKATAN



MB	: <i>Multibasiler</i>
PB	: <i>Pausibasiler</i>
P2MPL	: Pemberantasan dan Pencegahan P. Menular & Penyehatan Lingkungan
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
BTA	: Basil Tahan Asam
DNA	: <i>Deoxyribonucleid Acid</i>
PDIM	: <i>Phtiocerol Dimycocerosate</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
Th-1	: <i>T helper-1</i>
IFN-	: <i>Interferon-gamma</i>
rRNA	: <i>Ribosomal Ribo Nucleid Acid</i>
ZN	: <i>Ziehl Neelsen</i>
MDT	: <i>Multi Drug Therapy</i>
PBST	: <i>Phosphate Buffered Saline Tween</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

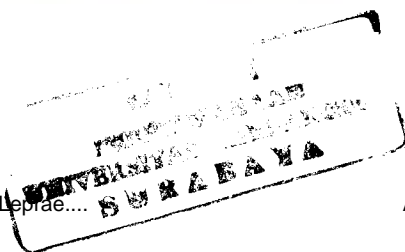
1.1 Latar Belakang

Penyakit kusta adalah penyakit menular kronis yang menyerang kulit, syaraf dan membran mukosa, dapat menyebabkan deformitas fisik yang progresif dan permanen sehingga dapat menimbulkan kecacatan yang berat dan irreversibel (Job, 1994 ; Srinivasan, 1994). Oleh karena itu penyakit kusta merupakan masalah kesehatan masyarakat, disamping besarnya masalah di bidang medis juga masalah sosial yang ditimbulkan oleh penyakit ini memerlukan perhatian yang serius (Ditjen PPM & PLP, 1998).

Penyakit kusta adalah penyakit yang memberi *stigma* yang sangat besar pada masyarakat, sehingga penderita kusta menderita tidak hanya karena penyakit saja, juga dijauhi dan dikucilkan oleh masyarakat (Wisnu dan Hadilukito, 2003).

Meskipun penyakit kusta tidak menyebabkan kematian, namun penyakit ini termasuk penyakit yang paling ditakuti di seluruh dunia. Penyakit ini sering kali menyebabkan permasalahan yang sangat kompleks bagi penderita, keluarga, masyarakat, negara dan bangsanya (Halim dan Kurdi, 2003).

Kejadian kusta atau penyakit *Hansen* berkembang di belahan dunia, tersebar di daerah Asia, Afrika, Amerika latin dan Pasific (Gelber, 2001). Tahun 1999 didapatkan sekitar 640.000 penderita di dunia dan meningkat tahun 2000 sekitar 738,284. Tahun 2002 terdapat 763.917 penderita baru yang terdeteksi penyakit kusta. Penyakit kusta banyak ditemukan di daerah tropik. Indonesia termasuk dalam 5 negara terbanyak di dunia dalam hal jumlah penderita kusta selain negara Brazilia, India, Myanmar dan Nigeria (WHO, 1998). Badan Kesehatan Dunia (WHO)



mengharapkan tercapainya target eliminasi kusta pada akhir tahun 2000, sedangkan 10 negara dengan kasus terbanyak diharapkan mencapai target eliminasi kusta tidak lebih dari tahun 2005 (Noordeen, 1994).

Penyakit kusta bersifat endemis dengan penyebaran yang tidak merata di Indonesia dan prevalensi tinggi di daerah Indonesia bagian timur. Pada akhir tahun 1999 jumlah penderita kusta yang terdaftar adalah sekitar 22.134 orang, tetapi diperkirakan jumlah yang sebenarnya lebih besar dari angka tersebut (fenomena gunung es) karena adanya *leprofobia* dan *stigma* yang tinggi terhadap kusta (Halim dan Kurdi, 2003).

Situasi penyakit kusta di Indonesia selama tahun 2000 ditemukan 14.697 penderita baru, diantaranya 11.267 adalah tipe Multibasiler (76,7 %) dan 1.499 (10,1 %) penderita anak. Selama tahun 2001 ditemukan 14.061 kasus baru dan tahun 2002 sebesar 14.716 kasus baru. Diantara kasus baru ini 76,6 % (tahun 2001) dan 75,5 % (tahun 2002) adalah tipe Multibasiler (Rachmat, 2003).

Di tingkat propinsi, Jawa Timur merupakan daerah yang paling banyak ditemukan penderita baru yaitu 3.785 kasus pada tahun 2001 dan 4.391 kasus pada tahun 2002. Propinsi di Indonesia dengan penderita kusta yang paling sedikit adalah Bengkulu (Rachmat, 2003).

Berdasarkan laporan program kusta di Dinas Kesehatan Jawa Timur pada tahun 2003, angka kesakitan penyakit kusta sebesar 1,39 per 10.000 penduduk, berada di urutan ke-tujuh (nasional 0,80 per 10.000 penduduk). Namun kalau dilihat dari jumlah penderita, Jawa Timur berada di urutan pertama diantara propinsi yang lain di Indonesia. Sementara itu pada tahun 2001 prevalensi kusta kabupaten Sampang sebanyak 6,06 per 10.000 penduduk, dengan jumlah penderita 482, terdiri

dari 78 (16 %) penderita Pausibasiler (PB) dan 404 (84 %) penderita Multibasiler (MB). Tahun 2002 prevalensi kusta sebanyak 4,60 per 10.000 penduduk, dengan jumlah penderita 351 terdiri dari 25 (7,1 %) penderita PB dan 326 (92,9 %) penderita MB dan pada tahun 2003 prevalensi kusta kabupaten Sampang sebanyak 6,34 per 10.000 penduduk, dengan jumlah penderita 489 terdiri dari 75 (15 %) penderita PB dan 414 (85 %) penderita MB, sedangkan tahun 2004 menduduki urutan pertama dibanding kabupaten lain di propinsi Jawa Timur dengan prevalensi 8,20 per 10.000 penduduk, dengan jumlah penderita sebanyak 641 orang terdiri atas 63 (9,8 %) penderita PB dan 578 (90,2 %) penderita MB (Subdin P2MPL, 2004).

Penyakit kusta merupakan suatu penyakit yang ditransmisikan dari satu manusia ke manusia lainnya, transmisi kusta bergantung pada faktor-faktor : daya tular individu yang terinfeksi, kerentanan individu yang kontak (narakontak) dan kedekatan, frekwensi serta perlangungan kontak (Moschella and Cropley, 1992).

Daya tular merupakan kemampuan seseorang penderita untuk menimbulkan infeksi subklinis pada narakontaknya. Hal ini ditentukan antara lain oleh jumlah kuman yang utuh dalam tubuh, sedangkan penghitungan jumlah kuman yang utuh dilakukan dengan menghitung indeks morfologi. Infeksi subklinis sendiri merupakan keadaan dimana kuman *Mycobacterium leprae* berada didalam tubuh seseorang tetapi tidak disertai adanya gejala klinis (Cree and Smith, 1998).

Narakontak serumah merupakan kelompok dengan resiko penularan tertinggi, sehingga harus dilindungi terhadap kemungkinan penularan. Kontak serumah dengan penderita kusta terutama tipe *lepromatous* mempunyai peluang 5 – 10 kali lebih besar kemungkinan untuk tertular dibanding populasi umum. Para pakar kusta sependapat

bahwa frekwensi kontak dengan sumber infeksi merupakan hal yang penting dalam penularan (Cree and Smith, 1998).

Meskipun perjalanan infeksi kusta belum bisa diketahui seluruhnya namun penularan lewat inhalasi paling mungkin mengingat jumlah basil yang dikeluarkan oleh sekret hidung terutama tipe *lepromatous* jumlahnya sangat besar (Pattyn et al, 1993).

Deteksi penyakit kusta masih berdasarkan prinsip yang digunakan sejak beberapa abad yang lalu yaitu pemeriksaan klinis, adanya Basil Tahan Asam (BTA) pada apusan sayatan kulit (*slit skin smear*) dan pemeriksaan histopatologi yang sifatnya subyektif. Pemeriksaan penunjang lainnya seperti biakan pada media artifisial, inokulasi pada binatang coba dan tes serologi sampai saat ini belum terbukti memberi hasil yang memuaskan dalam mendeteksi *M. leprae* pada penyakit kusta (Sharma et al., 1996; Wichitwechkarn et al., 1996).

Sejak pertama kali diperkenalkan pada tahun 1985, teknologi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) telah menghasilkan terobosan besar dalam penelitian dan pengembangan ilmu kedokteran untuk memahami berbagai patogenesis dan diagnosis penyakit (Agusni I, 2001; Rafi et al., 1995; De Witt et al., 1991).

Beberapa penelitian telah melaporkan keberhasilan dalam menggunakan PCR untuk mendeteksi *M. leprae* secara spesifik dan sensitif pada sampel jaringan. PCR mempunyai sensitifitas dan spesifitas yang hampir sempurna dalam mendeteksi *M. leprae*. Keterbatasan uji diagnostik pada masa lalu, saat ini dapat diatasi dengan metode ini.

Pemeriksaan dengan teknik PCR dapat menggunakan beberapa spesimen yaitu biopsi lesi, apusan mukosa hidung (*nasal swab*) dan apusan sayatan lesi kulit.

Pengambilan spesimen dari tempat tersebut sangat erat kaitannya dengan mekanisme penularan kusta yang diyakini sampai sekarang yaitu melalui *droplet* saluran pernafasan dan kontak yang intim, lama dan terus menerus (Agusni I, 2001).

Pada kusta tipe *lepromatous*, hidung dan sinus serta nasofaring merupakan tempat keluarnya *M. leprae* yang paling sering dari tubuh. Keterlibatan mukosa nasal didapatkan pada lebih dari 95 % penderita kusta *lepromatous*. Penderita-penderita tersebut dapat mengeluarkan berjuta-juta basil perhari dari sekret hidung dan saluran nafas bagian atas, tetapi perlu diperhatikan bahwa ekskresi tersebut akan berhenti segera setelah kemoterapi yang efektif dimulai (Mc Dougall, 1993).

Berdasarkan latar belakang diatas, suatu permasalahan dapat diidentifikasi berdasar berbagai pertimbangan, sebagai berikut :

- 1) Penyakit kusta adalah penyakit menular kronis yang masih menjadi masalah kesehatan di dunia, dapat menyebabkan deformitas fisik yang progresif dan permanen sehingga dapat menimbulkan kecacatan yang berat dan irreversibel.
- 2) Jawa Timur merupakan daerah dengan Prevalensi kusta yang cukup tinggi, dan kabupaten yang paling tinggi prevalensinya di Jawa Timur adalah kabupaten Sampang.
- 3) Penularan lewat inhalasi paling mungkin mengingat jumlah basil yang dikeluarkan oleh sekret hidung jumlahnya sangat besar.
- 4) Kusta tipe MB dapat mengeluarkan berjuta-juta basil perhari dari sekret hidung dan saluran nafas bagian atas.
- 5) Narakontak serumah merupakan kelompok dengan resiko penularan tertinggi.
- 6) Penegakan diagnosis kusta di lapangan, hanya dengan pemeriksaan klinis dan deteksi basil kusta dengan teknik konvensional yaitu pemeriksaan BTA

- 7) Pemeriksaan PCR mempunyai sensitifitas dan spesifitas yang hampir sempurna dalam mendeteksi *M. leprae*
- 8) Belum diketahui apakah ada beda *Mycobacterium leprae* yang positif pada apusan mukosa hidung narakontak serumah penderita kusta tipe Multibasiler dan Pausibasiler dengan menggunakan teknik pemeriksaan PCR maupun BTA.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada perbedaan insiden ditemukannya *Mycobacterium leprae* pada apusan mukosa hidung narakontak serumah penderita kusta tipe Multibasiler (MB) dan Pausibasiler (PB) dengan teknik pemeriksaan PCR dan BTA di wilayah puskesmas Kedundung dan Kamoning kabupaten Sampang ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mempelajari perbedaan insiden ditemukannya *Mycobacterium leprae* pada apusan mukosa hidung narakontak serumah penderita kusta tipe Multibasiler (MB) dan Pausibasiler (PB) dengan teknik pemeriksaan PCR dan BTA di wilayah puskesmas Kedundung dan Kamoning kabupaten Sampang.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mempelajari dan membandingkan hasil pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak serumah penderita kusta tipe MB dan PB di wilayah puskesmas Kedundung dan Kamoning kabupaten Sampang
- 2) Mempelajari dan membandingkan hasil pemeriksaan BTA dari apusan hidung narakontak serumah penderita kusta tipe MB dan PB di wilayah puskesmas Kedundung dan Kamoning kabupaten Sampang

- 3) Membandingkan hasil pemeriksaan PCR dan BTA dari apusan hidung narakontak serumah penderita kusta tipe MB dan PB di wilayah puskesmas Kedundung dan Kamoning kabupaten Sampang

I. 4 Manfaat Penelitian

- 1) Memberikan masukan dan kontribusi kepada pemerintah kabupaten Sampang khususnya Dinas Kesehatan dalam rangka pemberantasan penyakit kusta di kabupaten Sampang
- 2) Meningkatkan ketrampilan dalam bidang biologi molekuler (PCR) yang dapat dikembangkan untuk mendeteksi penyakit lain.
- 3) Memberikan nilai tambah kepada khasanah Ilmu Pengetahuan

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Definisi Penyakit Kusta

Penyakit Kusta atau *Morbus Hansen* adalah penyakit kronis yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) secara primer menyerang syaraf tepi, selanjutnya menyerang kulit, mukosa mulut, saluran nafas bagian atas, sistem retikuloendotel, mata, otot, tulang dan testis (Job, 1993 ; Jopling, 1995).

2.2 Etiologi Penyakit Kusta

Mycobacterium leprae adalah kuman penyebab penyakit kusta yang ditemukan oleh sarjana dari Norwegia GH Armauer Hansen pada tahun 1873. Menurut *Bergy Manual of Sistemic Bacteriology* 1986 termasuk dalam ordo *Actinomycetalis* dan famili *Mycobacteriaceae* (Rees and Young, 1994)

2.2.1 Mikrobiologi *M. leprae*

M. leprae merupakan kuman berbentuk batang bersifat tahan asam, gram positif ukuran panjang $2,1 \pm 0,5 \mu\text{m}$, diameter $0,25-0,3 \mu\text{m}$, massa *M. leprae* $3,9 \pm 1,0 \times 10^{-14}$ g merupakan organisme *aerob*, biasanya berkelompok dan ada yang tersebar satu-satu, hidup dalam sel terutama jaringan yang bersuhu dingin dan tidak dapat dikultur dalam media buatan (Rees and Young,1994; Mckane et al.,1985).

Kuman penyebab penyakit kusta ini bersifat parasit *obligat intraselular*, terutama hidup dalam makrofag juga dalam sel Schwann, sel otot, sel endotel pembuluh darah, sel melanosit dan sel kondrosit dalam bentuk batang soliter atau globi (Rees and Young,1994).

Basil kusta adalah kuman yang tumbuh lambat, dengan waktu generasi antara 11 – 13 hari, rata-rata 12 hari. Hal ini jauh berbeda dengan mycobacterium Tuberkulosis yang mempunyai waktu generasi 20 jam. Lambatnya pembelahan kuman ini sejalan dengan lamanya masa inkubasi kusta yaitu antara 2 – 10 tahun dan perjalanan penyakitnya yang lambat dan progresif/kronis (Rees and Young,1994 ; Mckane, 1985).

M. leprae tumbuh baik pada temperatur dingin, pertumbuhan optimal pada temperatur 30⁰C. Oleh karena itu *M. leprae* tumbuh baik pada *nine banded Armadilo* yang mempunyai temperatur tubuh 30–36⁰C dan telapak kaki mencit yang mempunyai temperatur 27 – 30⁰C (Rees and Young,1994).

Basil ini mampu hidup lebih dari 7 – 10 hari di luar host, di dalam sekret hidung kering, pada keadaan gelap dengan temperatur dan kelembaban yang bervariasi (Rees and Young,1994).

2.2.2. Struktur dan Komposisi Biokimia *M. leprae*

Secara garis besar struktur *Mycobacterium leprae* terdiri dari :

2.2.2.1 Kapsul *M. leprae*

Struktur kapsul ini khas untuk *M. leprae* yang terdiri dari dua komposisi lipid yaitu *Phthiocerol dimycocerosate* (PDIM) yang berfungsi proteksi pasif dan *Phenolic glycolipid-1* (PGL-1) yang terdiri dari kelompok *phenol glikosilasi* (*phthiocerol*) dengan komponen trisakarida yang sangat spesifik untuk deteksi *M. leprae*. Komposisi lipid pada kapsul ini melindungi bakteri dari efek toksik enzim lisosom dan reaksi metabolik oksigen yang dihasilkan oleh makrofag host selama infeksi (Rees and Young,1994).

2.2.2.2 Dinding Sel

Dinding sel berfungsi untuk memberikan bentuk pada sel dan untuk melindungi dari lingkungan. Tersusun secara halus dan terdiri dari pita radier yang tidak khas hanya terdapat pada *M. leprae*. Melalui mikroskop elektron, dinding sel ini tampak terdiri dari 2 lapisan (Draper,1986).

Lapisan luar merupakan lapisan yang transparan, terdiri dari liposakarida yang tersusun dari rantai cabang esterifikasi *arabinogalaktan* dengan asam mikolik rantai panjang. Struktur seperti ini juga ditemukan pada spesies *Mycobacterium* yang lain, sehingga tidak khas untuk *M. leprae* (Rees and Young,1994; Draper,1986).

Lapisan dalam terdiri dari *peptidoglikan*, merupakan polimer yang umum ditemukan pada bakteri, namun pada *M. leprae* mempunyai struktur yang khas, terdiri dari pengulangan rantai *disakarida* dengan *peptida* pendek, dimana *L-alanine* digantikan dengan *glisin*, sehingga dapat digunakan untuk diagnostik antigen yang spesifik (Rees and Young,1994; Draper,1986).

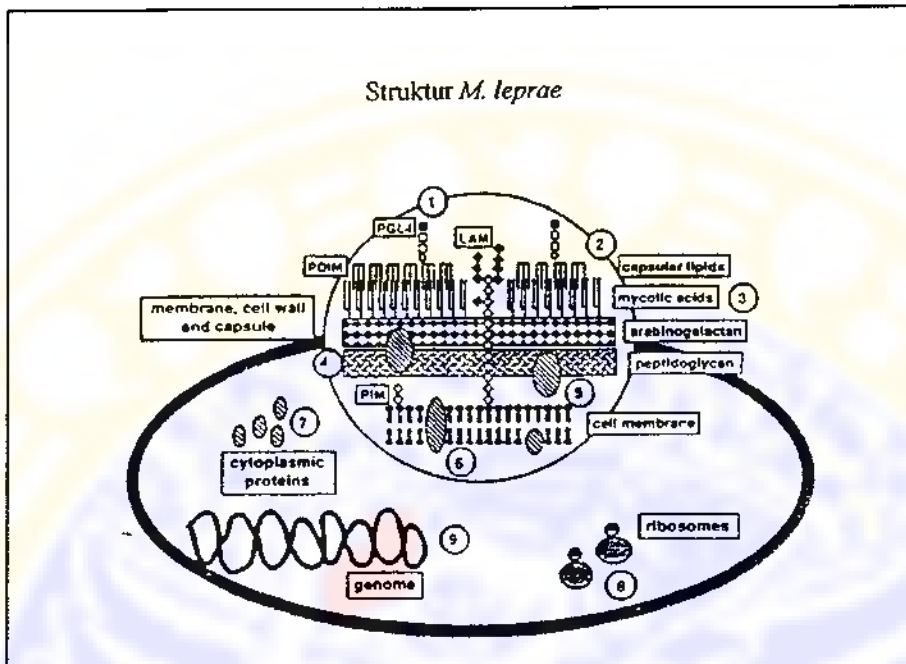
2.2.2.3 Membran Sel

Terletak dibawah dinding sel dan berfungsi sebagai kontrol transport molekul ke dalam dan keluar sel, membran sel terdiri dari protein dan lipid. Protein berfungsi sebagai kontrol transport aktif dan pasif molekul dan enzim yang berguna untuk sintesa kapsul dan dinding sel. Protein membran sel ini membentuk antigen protein permukaan yang khas dan merupakan target utama bekerjanya kemoterapi (Bryceson and Roy,1990).

2.2.2.4 Sitoplasma

Sitoplasma di dalam sel *M. leprae* berisi granula, *Deoxyribunucleic acid* (DNA) yang merupakan materi genetik dan ribosom yang berfungsi dalam translasi dan multiplikasi protein (Bryceson and Roy,1990). DNA *M. leprae* mempunyai ukuran yang hampir sama dengan *M. Tuberculosis*, namun komposisi basanya berbeda sehingga tetap bisa dibedakan (Draper, 1986). *M. leprae* mengandung basa *Guanin-Sitosin* (GC) 54 % - 58 %, sedang *Mycobacterium* lain berkisar 65 % – 69 %. Analisa urutan DNA *M. leprae* menunjukkan bahwa perbedaan kandungan basa GC timbul akibat perubahan sistematis penggunaan kodon dengan substitusi khusus *adenin* atau *timidin* pada posisi basa ketiga. Analisa DNA dengan menggunakan teknik PCR sangat sensitif digunakan sebagai deteksi adanya *M.leprae* dalam jumlah yang sangat kecil (Rees and Young,1994).

Metabolisme kuman ini memerlukan oksigen dan selanjutnya menyimpan cadangan energi dengan merubah ADP ke ATP serta menghasilkan energi dengan cara mengubah ATP ke ADP, untuk mensintesa asam nukleat dan metabolisme oksidatif semua bakteri memerlukan *basa purin*, akan tetapi *M. leprae* tidak dapat melakukannya dan mengambilnya dari host. Selain itu *M. leprae* tidak memiliki cukup *mycobactin* yaitu zat yang diperlukan untuk mengikat besi yang sangat diperlukan dalam metabolismenya. Hal inilah yang menyebabkan *M. leprae* tidak dapat dibiakkan dalam media buatan sehingga sulit untuk melakukan studi tentang *M. leprae*.



Gambar 2.1 Struktur anatomi-mikroskopis *M. leprae* (Rees and Young,1994)

Keterangan :

1. PGL-1
2. Phitiocerol dimycocerosate
3. Mycolid acids
4. Glycine
- 5,6,7 Protein dinding sel
8. Molekul 16 S rRNA
9. Genome

2.3 Epidemiologi Penyakit Kusta

2.3.1. Penularan Penyakit Kusta

Penyakit kusta banyak ditemukan di daerah tropik. Penyebarannya terutama di benua Afrika, Asia dan Amerika latin. Indonesia termasuk dalam 5 negara terbanyak di dunia dalam hal jumlah penderita kusta selain negara Brazilia, India, Myanmar dan Nigeria (Noorden SK,1994).

Penyakit kusta menyerang pada semua umur, mulai bayi sampai usia lanjut, usia terbanyak terjadi pada umur 20 – 39 tahun. Dan jarang sekali mengenai anak dibawah umur 3 tahun. Meskipun penyakit kusta dapat terjadi pada kedua jenis

kelamin, namun jumlah laki-laki lebih banyak terserang daripada perempuan dengan perbandingan rasio 2 :1 (Noorden SK,1994).

Tingginya prevalensi kusta tidak terlepas dari beberapa faktor yang sulit diintervensi diantaranya adalah faktor manusia. Ini terkait dengan pemahaman dan kesadaran manusianya, Ketidaktahuan penderita tentang proses penyembuhan menyebabkan banyak penderita kusta tidak teratur berobat.

Selain sanitasi lingkungan yang jelek dan sosial ekonomi yang rendah, faktor masyarakat juga dapat menghambat percepatan penyembuhan dan penemuan dini penyakit kusta. Penyakit kulit yang sudah ada ribuan tahun lalu ini dianggap masyarakat sebagai kutukan yang tidak perlu disembuhkan dan kalau perlu diasingkan.

Fobia atau rasa takut tidak hanya dialami oleh masyarakat namun juga oleh sebagian besar petugas di lapangan. Bekal pengetahuan petugas belum cukup untuk menemukan penderita secara dini.

Penyakit kusta dapat ditularkan oleh penderita kusta khususnya tipe multibasiler (MB) kepada orang lain dengan cara penularan langsung. Cara penularan yang pasti sulit diketahui karena lamanya masa inkubasi, tetapi sebagian besar para ahli berpendapat bahwa penyakit kusta dapat ditularkan melalui saluran pernafasan dan kulit (Amirudin,et al., 2003).

Mukosa hidung penderita kusta tipe lepromatosa yang belum diobati dianggap sebagai tempat keluarnya kuman dari sumber penularan (*port d'exit*), karena sering kali ditemukan basil kusta dalam jumlah yang banyak pada mukosa hidung penderita tersebut sekitar antara 10.000–100.000. Mukosa nasal dari penderita lepromatosa

mampu melepaskan 10 juta organisme hidup per hari. *M.leprae* mampu hidup di luar tubuh manusia di lingkungan tropis sampai 9 hari (Noordeen, 1994).

Penularan melalui mukosa nasal telah dibuktikan melalui percobaan pada tikus penyemprotan basil *M. leprae* berulang-ulang (inhalasi buatan), ternyata pada pembuluh darah alveoli dari tikus tersebut bisa ditemukan kuman tersebut (Noordeen, 1994).

Membran basal dari epidermis nasal manusia relatif tipis sehingga mudah terserang, baik dalam keadaan sehat maupun dalam keadaan sudah terjadi inflamasi kronik yang sering dijumpai pada daerah endemis kusta. Pada keadaan imunitas rendah, basil kusta tidak dapat dilawan oleh mekanisme imunologis sehingga terjadi multiplikasi bebas (Moschella SL,1992).

Penularan lain yang bisa terjadi melalui inokulasi, yaitu melalui luka pada kulit yang terkontaminasi (Noordeen, 1994).

2.3.2 Manusia sebagai sumber penularan penyakit Kusta

Sampai saat ini manusia masih diyakini sebagai sumber penularan *M. leprae* yang utama, terutama pada penderita kusta tipe lepromatosa yang sangat infeksius. Para pakar kusta sependapat bahwa frekwensi kontak dengan sumber infeksi merupakan hal yang penting dalam penularan.

M. leprae juga dikeluarkan dari penderita saat berbicara, batuk dan bersin. Penularan melalui droplet infeksi ini memegang peranan yang cukup besar dalam rantai penularan *M. leprae*, di samping penularan melalui kontak erat dari kulit ke kulit.

Port of entry adalah tempat masuknya kuman *M. leprae* ke dalam tubuh manusia, diantaranya adalah :

1) melalui kontak :

Kontak yang dimaksudkan adalah kontak kulit dengan kulit secara langsung dan untuk itu diperlukan kontak yang lama, intim dan terus menerus (Noordeen, 1994).

2) Melalui inhalasi

M. leprae juga dapat memasuki tubuh manusia melalui saluran pernafasan melalui percikan ludah (*droplet infection*). Namun karena temperatur pada paru yang tinggi. *M. leprae* tidak mengakibatkan timbulnya lesi pada paru akan tetapi langsung masuk ke aliran darah (*hematogen*). Dari aliran darah tersebut *M. leprae* kemudian dapat mencapai syaraf tepi dan di fagosit oleh sel *schwann*, dormant dan bermultiplikasi di dalamnya (Pedley JC, 1978).

Dasar pemikiran bahwa *M. leprae* ditularkan melalui inhalasi dinyatakan oleh Schaffer (1898), yaitu bahwa tidak berhasil ditemukan *M. leprae* pada permukaan kulit dan adanya sejumlah besar *M. leprae* pada mukosa saluran pernafasan, ditemukannya sejumlah besar bakteri hidup pada sekresi nasal serta adanya kenyataan bahwa *M. leprae* dapat hidup diluar tubuh manusia selama beberapa hari (Noordeen,1994).

Burton menyatakan bahwa sisi *anterior* dari *konka inferior* hidung merupakan tempat keluarnya *M. leprae* karena keadaannya yang ideal untuk tempat pertumbuhan bakteri, yaitu lembab dan basah.

2.3.3 Narakontak penderita Kusta

Penularan kusta tidaklah mudah, diperlukan kontak yang lama, intim dan terus menerus, terjadi terutama pada kontak serumah dan satu tempat tidur. Perbandingan

kasus kontak terhadap penderita kusta tipe lepromatosa : tuberkuloid : non Kontak = 8 :2:1 (Noordeen,1994; Cree and Smith, 1998).

Kontak serumah dengan penderita terutama penderita kusta tipe lepromatosa mempunyai peluang 5-10 kali lebih besar kemungkinan untuk tertular dibandingkan populasi umum (Cree and Smith, 1998).

Infeksi subklinis pada kusta adalah masuknya kuman ke dalam tubuh manusia tanpa disertai gejala klinis. Dalam tahap subklinis ini, infeksi dapat berhenti tanpa gejala klinis dan tidak berkembang menjadi infeksi klinis namun mampu mengeluarkan sekresi bakteri dan nasal yang bersifat sementara (*transient*) yang tentu saja dapat menularkan kepada orang lain. Episode subklinis ini dapat menjadi sumber penularan yang lebih penting bila dibandingkan penularan dari kasus yang benar-benar aktif. Hal ini diperkuat dengan positifnya pemeriksaan PCR dari mukosa nasal pada periode subklinis (Cree and Smith, 1998).

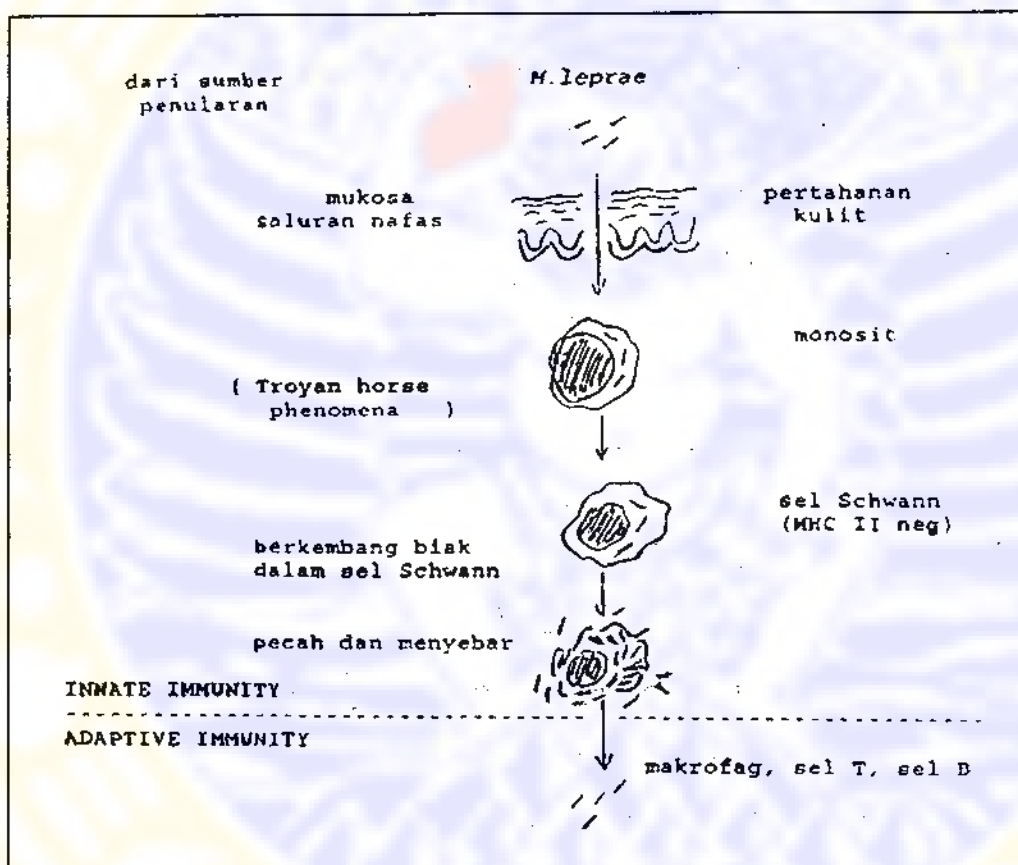
Selain respon imun penderita, faktor lain seperti keadaan sosial ekonomi, kepadatan dan lingkungan rumah, status nutrisi dan kecenderungan genetik juga berpengaruh pada variasi respon individu terhadap infeksi sehingga tidak semua orang rentan terhadap infeksi. Disamping itu harus ada sejumlah minimal kuman hidup tertentu yang cukup infeksius dan mampu untuk menimbulkan infeksi (Noordeen,1994).

2.4. Respon Imun Penyakit Kusta

Respon imun setelah terinfeksi dengan *M. leprae* sangat kompleks, yang melibatkan imunitas selular dan humoral. Sebagian gejala dan komplikasi penyakit ini disebabkan oleh reaksi imunologi terhadap antigen yang ditimbulkan oleh *M. leprae*. Jika respon imun yang terjadi setelah infeksi cukup baik, maka

multiplikasi bakteri dapat dihambat pada stadium awal sehingga dapat mencegah berkembangnya tanda dan gejala klinis selanjutnya (Harboe,1994).

M. leprae merupakan parasit *obligat intraselular*, maka respon imun selular lebih memegang peranan penting dalam ketahanan tubuh terhadap infeksi. Respon imun selular merupakan hasil dari aktivasi makrofag dengan meningkatkan kemampuannya dalam menekan multiplikasi atau menghancurkan bakteri (Harboe,1994).



Gambar 2.3 Proses masuknya *M. leprae* ke dalam tubuh (Agusni, 1997) pada penyakit kusta

2.4.1. Respon Imun Alami

M. leprae masuk ke dalam tubuh dan berhasil melewati sistem pertahanan lapis pertama yang akan menfagositosis, kemudian ikut bersama monosit dalam aliran

darah. Selama dalam monosit kuman tersebut tidak terbunuh dan bahkan bisa berkembang biak. Keadaan ini disebut *Trojan horse phenomena*, yaitu kuman ikut menumpang dan berkembang dalam salah satu sel tubuh tanpa dideteksi oleh imunitas yang ada. Suatu saat monosit tersebut akan mati dan pecah sehingga kuman menyebar dan akan mencapai sel *Schwann* di perinerium saraf tepi yang merupakan predileksi tempat hidupnya *M. leprae*, oleh karena kuman tahan terhadap lisosim maka kuman tersebut dapat berkembang biak di dalam sel *Schwann*. Sel ini tidak bisa mengekspresikan molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II sehingga sel *Schwann* yang terinfeksi tidak bisa berkomunikasi dengan sel limfosit T akibatnya kuman di dalam sel *Schwann* tidak bisa terdeteksi oleh sistem imun (Agusni, 1998).

Selanjutnya bila sel *Schwann* mati dan pecah maka *M. leprae* akan keluar dan menyebar. Kuman akan ditangkap kembali oleh sel-sel fagosit lain termasuk sel *Schwann*. Respon imun selular akan bekerja bila kuman ditangkap oleh sel fagosit yang profesional khususnya makrofag. Setelah itu dicerna dan disajikan ke MHC kelas II maka sel limfosit Th/CD4 akan mengenal dan selanjutnya dimulailah rangkaian proses imun selular.

2.4.2. Respon Imun Dapatan

Setelah kuman yang masuk dikenal oleh sistem imun tubuh, maka dimulailah proses imunitas spesifik. Oleh karena *M. leprae* adalah kuman yang *obligate intraselular* maka penghancuran kuman yang efektif melalui respon imun selular. Pada individu sehat rangkaian respon ini akan segera berlangsung dengan hasil akhir penghancuran *M. leprae* dalam makrofag maupun penghancuran sel target oleh sel T sitotoksik.

Makrofag yang telah menangkap dan menyajikan antigen akan mengaktifkan sel limfosit CD4+ dan CD8+, menghasilkan *proliferasi* dan *differensiasi* menjadi beberapa jenis limfosit yang aktif. Terbentuk beberapa jenis sel limfosit T sitotoksik dan sel-sel *limfosit* CD4+ yang memproduksi *sitokin* yang memperkuat penghancuran kuman dalam makrofag (Abbas et al.,2000).

Respon *imun humoral* terhadap *M. leprae* merupakan aktifitas sel *limfosit B* yang berada dalam jaringan *limfoid* dan sirkulasi darah. Rangsangan dari komponen antigen kuman tersebut akan merubah sel *limfosit B* menjadi sel plasma yang akan menghasilkan antibodi yang akan membantu proses *opsonisasi*. Tapi ternyata pada penyakit kusta respon *imun humoral* ini tidak efektif dan bahkan menyebabkan timbulnya beberapa penyulit karena terbentuk secara berlebihan (Harboe,1994).

Hal ini tampak pada penderita kusta *lepromatousa* yang mana akibat rangsangan yang cukup lama oleh antigen *M. leprae* maka akan ditemukan antibodi dalam jumlah yang berlebihan dalam sirkulasi darah penderita. Selain antibodi spesifik maupun non spesifik juga ditemukan *auto antibodi* serta peningkatan komplemen. Keadaan ini dianggap sebagai penyebab terjadinya reaksi *Erythema Nodusum Leprosum*. Terjadinya produksi yang berlebihan dari antibodi ini diduga akibat lumpuhnya sistem imunitas *selular*, sehingga kontrol terhadap sel *limfosit* menjadi hilang dan akibatnya sel B terus memproduksi antibodi (Harboe,1994).

Kusta indeterminate terjadi pada orang dengan status imunologis yang belum ditentukan. Tipe ini tidak atau sangat sedikit dalam memberi respon reaksi imunitas selular dan tes *Lepromin*. Pada stadium ini penderita menunjukkan gejala klinis. Perjalanan penyakit selanjutnya bervariasi, bisa:

- 1) menetap dalam jangka waktu lama

- 2) berkembang menjadi salah satu tipe dalam spektrum penyakit, atau
- 3) mengalami regresi spontan (Harboe, 1994).

Pada kusta Tuberkuloid, dijumpai imunitas selular yang dapat mengendalikan tetapi tidak dapat menghilangkan infeksi sehingga infeksi bisa terlokalisir dan cenderung sembuh, akan tetapi diikuti oleh hipersensitifitas yang dapat menyebabkan kerusakan syaraf (Abulafia, 1999).

Pada kusta tipe tuberkuloid, makrofag bisa menghancurkan basil secara lengkap dan berfungsi sebagai APC normal dengan informasi basil yang lengkap pada permukaannya. Dengan bantuan *major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II, makrofag dapat menginduksi sintesa *interleukin* (IL)-12 yang dapat mendorong CD4⁺ Th-1 untuk memproduksi IL-2 dan *interferon* (IFN)- γ . Makrofag baru kemudian diaktifkan dan ditransformasikan menjadi sel *epiteloid*. Tes fungsi sel T seperti *Lymphocyte Transformation Test* (LTT) menunjukkan bahwa penderita kusta Tuberkuloid memberi respon pada antigen *M. leprae* dan klonal 18kDa. Tes *lepromin* memberi reaksi positif kuat pada penderita ini (Abulafia, 1999).

Kusta tipe *lepromatous* tidak dapat membangun respon imunitas selular terhadap *M. leprae* karena defek pada respon sel T. *Limfosit* penderita ini memberi respon yang buruk pada tes LTT terhadap *M. leprae* dan antigen klonal. Penderita ini juga gagal memberi respon terhadap tes kulit *lepromin*. Defek Makrofag pada penderita tipe *lepromatousa* meliputi: tidak sempurnanya presentasi dan pengenalan antigen, tidak sempurnanya produksi IL-1, kegagalan makrofag membunuh *M. leprae* dan supresi makrofag oleh respon sel T (Abulafia, 1999).

2. 5 Patogenesis Penyakit Kusta

Meskipun cara masuk *M. leprae* ke dalam tubuh manusia sulit diketahui dengan pasti, beberapa penelitian telah memperlihatkan bahwa yang tersering ialah melalui kulit yang lecet pada bagian tubuh yang bersuhu dingin dan melalui mukosa nasal. Pengaruh *M. leprae* bergantung pada faktor imunitas seseorang, kemampuan hidup kuman ini pada suhu tubuh yang rendah, waktu regenerasi yang lama, serta sifat kuman yang avirulen dan nontoksin (Job, 1994).

Infeksi melalui inhalasi paling memungkinkan karena banyaknya jumlah bakteri dalam sekresi nasal penderita *lepromatousa*.

Penyerbuan *M. leprae* memiliki 3 target utama : pertama adalah jaringan perifer (sel *Schwann*), kedua pembuluh-pembuluh kecil (sel-sel *endotel*) dan ketiga sistem monosit-makrofag, sebagian besar perubahan patofisiologi yang diamati pada penderita kusta terjadi karena kemampuan *M. leprae* bertahan dalam sel makrofag (Abulafia, 1999).

Basil kusta merupakan parasit *obligat intracellular* yang terutama terdapat pada sel makrofag di sekitar pembuluh darah superfisial pada dermis atau sel Schwann di jaringan saraf (Rees and Young, 1994). Bila kuman *M. leprae* masuk ke dalam tubuh, maka tubuh akan bereaksi mengeluarkan makrofag (berasal dari sel monosit darah, sel mononuklear, histiosit) untuk menfagositnya (Kandow, 1996).

Beberapa saat setelah terjadi infeksi tidak terlihat adanya lesi yang merupakan tanda infeksi, hal ini yang dinamakan dengan infeksi subklinis, suatu tahap yang akan berkembang menjadi tahap klinis atau terhenti tanpa ada gejala klinis (Harboe, 1994).

Pada kusta tipe LL terjadi kelumpuhan sistem imunitas selular, dengan demikian makrofag tidak mampu menghancurkan kuman sehingga kuman dapat bermultiplikasi dengan bebas, yang kemudian dapat merusak jaringan.

Pada kusta tipe TT kemampuan fungsi sistem imunitas selular tinggi, sehingga makrofag sanggup menghancurkan kuman, sayangnya setelah semua kuman di fagositosis, makrofag akan berubah menjadi sel *epiteloid* yang tidak bergerak aktif dan kadang-kadang bersatu membentuk sel *datia langerhans*. Bila infeksi tidak segera diatasi akan terjadi reaksi yang berlebihan dan masa *epiteloid* akan menimbulkan kerusakan saraf dan jaringan di sekitarnya (Kandow, 1996).

Sel *Schwann* merupakan sel target untuk pertumbuhan *M. leprae*, disamping itu sel *schwann* berfungsi sebagai demielinisasi dan hanya sedikit fungsinya sebagai fagositosis, jadi bila terjadi gangguan imunitas tubuh dalam sel *Schwann*, kuman dapat bermigrasi dan beraktivasi. Akibatnya aktifitas regenerasi saraf berkurang dan terjadi kerusakan saraf yang progresif (Mukerjee R, 1986).

2.6. Klasifikasi Penyakit Kusta

Tujuan dilakukan klasifikasi penyakit kusta adalah ; pertama untuk menentukan rejimen pengobatan, prognosis dan komplikasi, kedua untuk perencanaan operasional, misalnya menemukan penderita yang menular yang mempunyai nilai epidemiologi tinggi sebagai target utama pengobatan, ketiga untuk identifikasi penderita yang kemungkinan besar akan menderita cacat.

Jenis klasifikasi yang umum terbanyak digunakan adalah sebagai berikut (Amirudin, et al., 2003) :

1) Klasifikasi *Madrid* (1953)

Terbagi dalam 4 tipe yaitu : *Indeterminate (I)*, *Tuberculoid (T)*, *Borderline-Dimorphous (B)*, *Lepromatous*.

2) Klasifikasi *Ridley-Jopling* (1962)

Banyak digunakan untuk kepentingan penelitian, terbagi dalam 5 tipe yaitu : *Tuberculoid (TT)*, *Boderline tuberculoid (BT)*, *Mid-borderline (BB)*, *Borderline lepromatous (BL)* dan *Lepromatous (LL)*

3) Klasifikasi WHO (1988)

Banyak digunakan untuk kepentingan program kusta, khususnya untuk program pengobatan MDT.

Berdasarkan klasifikasi WHO, penyakit Kusta terbagi dalam 2 tipe :

1) Pausibasiler (PB)

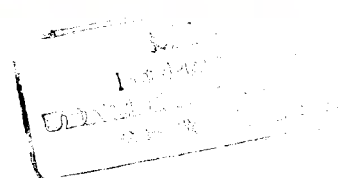
Hanya kusta tipe I, TT dan sebagian besar BT dengan BTA negatif menurut kriteria *Ridley* dan *Jopling* atau tipe I dan T menurut klasifikasi *Madrid*

2) Multibasiler (MB)

Termasuk kusta tipe LL, BL, BB dan sebagian BT menurut kriteria *Ridley* dan *Jopling* atau B dan L menurut *Madrid* dan semua tipe kusta dengan BTA positif.

Tabel 2.1. Perbedaan tipe PB dan MB menurut klasifikasi WHO

No	Karakteristik	Pausibasiler (PB)	Multibasiler MB)
1	Lesi kulit (makula yang datar, papul yang meninggi, infiltrat, plak eritem, nodus)	- 1-5 lesi - hipopigmentasi/eritema - distribusi tidak simetris	- > 5 lesi - distribusi lebih simetris
2	Kerusakan saraf (menyebabkan hilangnya sensasi/ kelemahan otot yang dipersarafi oleh saraf yang terkena)	- hilangnya sensasi yang jelas - hanya 1 cabang saraf	- hilangnya sensasi kurang jelas - banyak cabang saraf



2.7. Gambaran Klinis

Gambaran klinis penyakit kusta pada seseorang penderita mencerminkan tingkat kekebalan selular penderita tersebut.

Menurut *Ridley* dan *Jopling* penyakit kusta dikelompokkan menjadi 5 kelompok berdasarkan gambaran klinis, bakteriologis, histopatologis dan imunologis yaitu sebagai berikut (Amirudin, et al., 2003) :

1) Tipe *Tuberculoid (TT)*

Lesi ini mengenai baik kulit maupun saraf. Lesi kulit bisa satu atau beberapa, dapat berupa makula atau plak, batas jelas dan pada bagian tengah dapat ditemukan lesi yang *regresi* atau *central healing*. Permukaan lesi dapat bersisik dengan tepi yang meninggi, bahkan dapat menyerupai gambaran *psoriasis* atau *tinea sirsinata*. Dapat disertai penebalan saraf perifer yang biasanya teraba, kelemahan otot dan sedikit rasa gatal. Adanya infiltrasi tuberkuloid dan tidak adanya kuman merupakan tanda terdapatnya respons imun penjamu yang adekuat terhadap kuman kusta.

2) Tipe *Borderline Tuberculoid (BT)*

Lesi pada tipe ini menyerupai tipe TT, yakni berupa makula atau plak yang sering disertai lesi satelit di tepinya, jumlah lesi dapat satu atau beberapa. Tetapi gambaran hipopigmentasi, kekeringan kulit atau skuama tidak sejelas tipe tuberkuloid. Adanya gangguan saraf tidak seberat tipe tuberkuloid dan biasanya asimetris. Lesi satelit biasanya ada dan terletak dekat saraf perifer yang menebal.

3) Tipe *Mid Borderline (BB)*

Merupakan tipe yang paling tidak stabil dari semua tipe dalam spektrum penyakit kusta. Disebut juga sebagai bentuk *dimorfik* dan bentuk ini jarang

dijumpai. Lesi dapat berbentuk makula infiltrat. Permukaan lesi dapat berkilap, batas lesi kurang jelas dengan jumlah lesi yang melebihi tipe BT dan cenderung simetris, lesi sangat bervariasi, baik dalam ukuran, bentuk, ataupun distribusinya. Bisa didapatkan lesi *punched out* yang merupakan ciri khas dari tipe ini.

4) Tipe *Borderline Lepromatous* (BL)

Secara klasik lesi dimulai dengan makula. Awalnya hanya dalam jumlah sedikit dan dengan cepat menyebar ke seluruh badan. Makula lebih jelas dan lebih bervariasi bentuknya. Walaupun masih kecil, papul dan nodus lebih tegas dengan distribusi lesi yang hampir simetris dan beberapa nodus tampaknya melekat pada bagian tengah, lesi bagian tengah sering tampak normal dengan pinggir dalam infiltrat lebih jelas dibandingkan dengan pinggir luarnya. Dan beberapa plak tampak seperti *punched out*. Tanda-tanda kerusakan saraf berupa hilangnya sensasi, hipopigmentasi, berkurangnya keringat dan hilangnya rambut lebih cepat muncul dibandingkan dengan tipe LL. Penebalan saraf dapat teraba pada tempat predileksi.

5) Tipe *Lepromatous* (LL)

Jumlah lesi sangat banyak, simetris, permukaan halus, lebih eritematosa, berkilap, berbatas tidak tegas dan pada stadium dini tidak ditemukan *anasthesi* dan *anhidrosis*. Distribusi lesi khas, yakni di wajah mengenai dahi, pelipis, dagu, cuping telinga, sedang di badan mengenai bagian badan yang dingin, lengan, punggung tangan dan permukaan *ekstensor* tungkai bawah. Pada stadium lanjut tampak penebalan kulit yang progresif, cuping telinga menebal, garis muka menjadi kasar dan cekung membentuk *faciesleonina* yang dapat disertai *madarosis*, *iritis* dan *keratitis*. Lebih lanjut lagi dapat terjadi deformitas pada

hidung. Dapat dijumpai pembesaran kelenjar limfe, orkitis yang selanjutnya dapat menjadi atrofi testis. Kerusakan saraf yang luas menyebabkan gejala *stocking & glove anaesthesia*. Bila penyakit ini menjadi progresif muncul makula dan papul baru, sedangkan lesi lama menjadi plak dan nodus. Pada stadium lanjut serabut-serabut saraf perifer mengalami degenerasi *hialin* atau *fibrosis* yang menyebabkan anastesi dan pengecilan otot tangan dan kaki.

Salah satu tipe penyakit kusta yang tidak termasuk dalam klasifikasi Ridley dan Jopling, tetapi diterima secara luas oleh para pakar ahli kusta yaitu tipe *indeterminate*. Lesi biasanya berupa makula *hipopigmentasi* dengan sedikit sisik dan kulit di sekitarnya normal. Lokasi biasanya di bagian ekstensor ekstremitas, bokong atau muka, kadang-kadang dapat ditemukan makula hipertensi atau sedikit penebalan saraf. Diagnosa tipe ini hanya dapat ditegakkan, bila dengan pemeriksaan histopatologik didapatkan kuman atau terdapat infiltrat di sekitar saraf. Pada 20-80 % kasus penderita kusta didapatkan tipe ini yang merupakan tanda pertama, sebagian besar akan sembuh spontan (Amirudin, et al., 2003).

2.8 Diagnosis Penyakit Kusta

Penyakit kusta dapat menunjukkan gejala yang mirip dengan banyak penyakit lain. Sebaliknya banyak penyakit lain dapat menunjukkan gejala yang mirip dengan gejala kusta. Oleh karena itu dibutuhkan kemampuan untuk mendiagnosis penyakit kusta secara tepat dan membedakannya dengan pelbagai penyakit lain.

Diagnosis penyakit kusta didasarkan pada penemuan tanda kardinal (tanda utama), yaitu :

- 1) Bercak kulit yang mati rasa

Bercak hipopigmentasi atau eritematosa, mendatar (makula) atau meninggi (plak). Mati rasa pada bercak bersifat total atau sebagian saja terhadap rasa raba, rasa suhu dan rasa nyeri.

2) Penebalan saraf tepi

Dapat disertai rasa nyeri dan dapat juga disertai atau tanpa gangguan fungsi saraf yang terkena, yaitu :

- a) Gangguan fungsi sensoris : mati rasa
- b) Gangguan fungsi motoris : *paresis* atau *paralisis*
- c) Gangguan fungsi otonom : kulit kering, retak, edema, pertumbuhan rambut yang terganggu.

3) Ditemukan kuman tahan asam

Bahan pemeriksaan adalah apusan kulit cuping telinga dan lesi kulit pada bagian yang aktif. Kadang-kadang bahan diperoleh dari biopsi kulit atau saraf.

Untuk menegakkan diagnosis penyakit kusta, paling sedikit harus ditemukan satu tanda kardinal. Bila tidak atau belum ditemukan, maka kita hanya dapat mengatakan tersangka kusta dan penderita perlu diamati dan diperiksa ulang setelah 3 – 6 bulan sampai diagnosis kusta dapat ditegakkan atau disingkirkan.

2.9. Pemeriksaan Penunjang

2.9.1 Pemeriksaan Bakteriologis

Pemeriksaan bakteriologis pada penyakit kusta merupakan hal yang mutlak dilakukan, karena berguna untuk menegakkan diagnosis penyakit kusta, menyokong penentuan klasifikasi atau tipe penyakit kusta, menunjukkan potensi penularan dari penderita dan untuk mengevaluasi hasil pengobatan.

Indeks Bakteri

Indeks Bakteri (IB) merupakan ukuran semi kuantitatif kepadatan BTA dalam sediaan hapus. IB berguna untuk membantu menentukan tipe kusta dan menilai hasil pengobatan. Menurut skala logaritma *Ridley*, sebagai berikut :

- (0) : tidak ditemukan BTA dalam 100 lapangan pandang
- (+1) : 1-10 BTA ditemukan dalam 100 lapangan pandang
- (+2) : 1-10 BTA ditemukan dalam 10 lapangan pandang
- (+3) : 1-10 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang
- (+4) : 10-100 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang
- (+5) : 100-1000 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang
- (+6) : lebih dari 1000 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang

2.9.2 Pemeriksaan *Reaksi Rantai Polimerase (Polymerase Chain Reaction /PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu metode ensimatik in vitro yang digunakan untuk menghasilkan gugus DNA yang spesifik dalam jumlah besar dan dalam waktu singkat, melalui tahap *denaturation*, *annaling* dan *extention* pada suhu berbeda (Agusni I, 2001).

PCR merupakan metode yang sangat sensitif dan spesifik, berguna dalam studi epidemiologi untuk mendeteksi dan menentukan distribusi *M. leprae* dalam berbagai populasi (Sharma et al., 1996; Agusni I,2001).

Prinsip PCR adalah menggandakan suatu potongan rantai DNA tertentu dari DNA kuman, sehingga jumlahnya berlipat ganda dan bisa dilihat sebagai pita protein pada medan elektroforesa. Untuk menggandakan rantai DNA tersebut diperlukan suatu zat yang disebut *primer* yang akan dicampur dengan enzim polimerase serta

beberapa zat tertentu. Setelah dimasukkan ke dalam mesin PCR dan dijalankan untuk satu siklus maka akan dihasilkan duplikat dari rantai DNA. Bila mesin PCR dijalankan maka penggandaan ini terus berlangsung dan jumlah yang banyak ini akan terlihat pada medan elektroforesis. Karena rantai DNA kuman tersebut sifatnya spesifik, maka yang teramplifikasi dan terlihat pada elektroforesis adalah spesifik untuk kuman tersebut (Erlich, 1989).

Faktor yang paling penting dalam PCR adalah karakteristik *primer* dan bagaimana *primer* tersebut secara spesifik berikatan dengan target. Berbagai variasi teknik PCR telah dilaporkan, meliputi amplifikasi berbagai rangkaian DNA target yang telah digunakan untuk mendeteksi *M. leprae*. Umumnya terdapat rangkaian DNA yang mengkode sebagian besar antigen seperti 18kDa, 36 kDa, 65 kDa, atau rangkaian penyandi non antigen seperti *M. leprae specific repetitive sequence* atau *ribosomal Ribo Nucleic Acid (rRNA) sequences* (Sharma et al., 1996; Misra et al., 1995).

Tiga komponen yang terlibat pada tehnik PCR adalah pertama DNA pita ganda yang akan diperbanyak dan berfungsi sebagai *template* atau cetakan, kedua *oligonukleotida* pita tunggal yang berfungsi sebagai *primer*. Untuk tambahan diperlukan enzim DNA polimerase, 4 *deoxynucleotide triphosphates* (dNTPs) yaitu dATP, dCTP, dGTP dan dTTP, larutan bufer dan garam MgCl₂.

Dari kuman *M. leprae*, telah diketahui adanya segmen DNA dengan urutan basa tertentu yang khas untuk kuman ini, sehingga dapat dibuat *primer* berdasarkan urutan basa yang telah diketahui. Bila terdapat *M. leprae* di dalam suatu sedian (kerokan kulit atau biopsi) maka potongan rantai DNA yang spesifik dari kuman ini dapat digandakan dengan menambahkan *primer* diatas dan dimasukkan mesin PCR.

Secara teoritis, basil kusta dalam jumlah yang sedikit saja sudah bisa memberikan hasil positif, karena meskipun DNA-nya sedikit dengan mesin PCR ini bisa dihasilkan amplifikasi DNA dari *M. leprae* dalam jumlah yang sangat besar. Lamanya proses deteksi kuman dengan metode PCR ini berlangsung sekitar 48 jam sejak dimulainya pembuatan *template* (Agusni dan Menaldi, 2003).

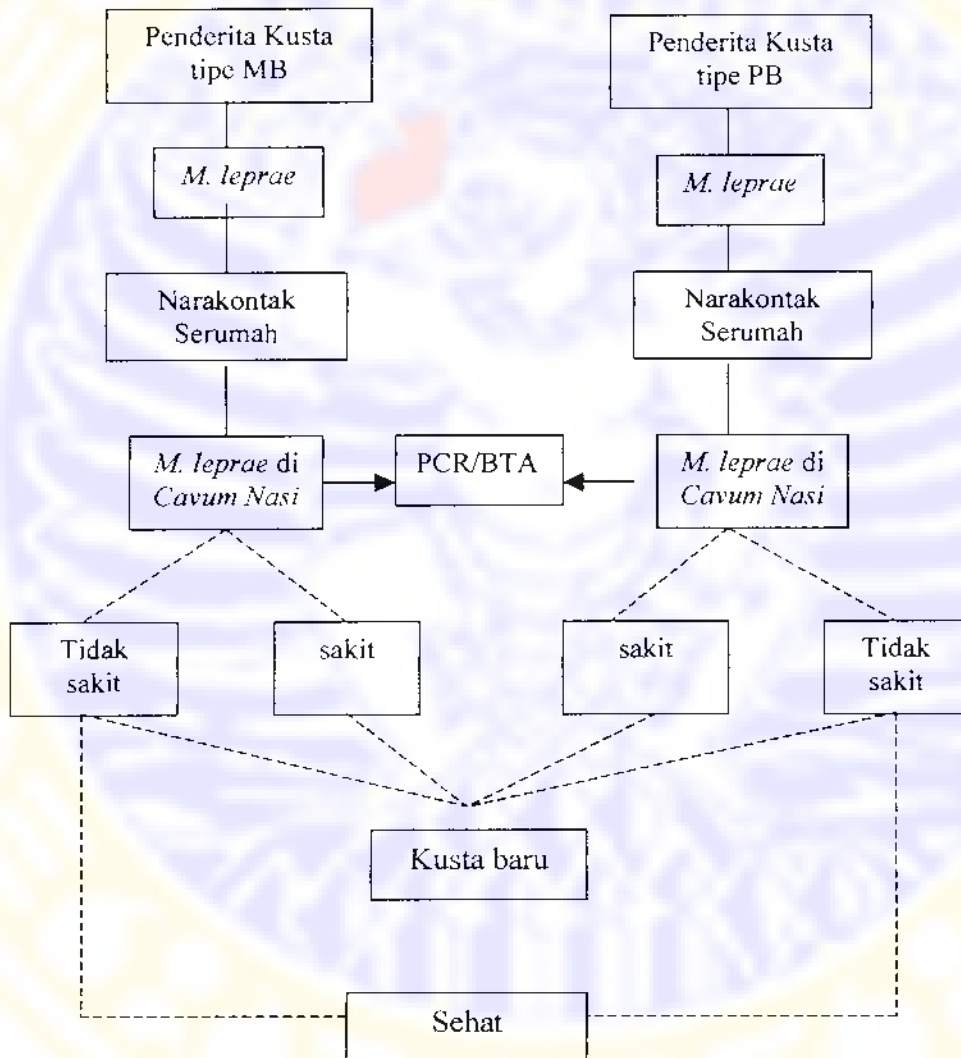
Pemeriksaan PCR pada penyakit kusta sangat berguna dalam mendeteksi adanya basil kusta di jaringan, apabila gejala klinis maupun histopatologis tidak menyokong diagnosis kusta. Pemeriksaan ini jauh lebih sensitif dari pengecatan *Ziehl Neelsen* maupun *Wade Fite/Fite Faraco* untuk mendeteksi basil tahan asam (BTA) (Agusni dan Menaldi, 2003).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Penelitian

Berikut ini gambaran kerangka konseptual penelitian :



Keterangan :

————— : diteliti

- - - - - : tidak diteliti

Penyakit kusta dapat ditularkan dari penderita kusta tipe multibasiler (MB) kepada orang lain dengan cara penularan langsung. Cara penularan yang pasti sulit diketahui, tetapi sebagian besar pada ahli berpendapat bahwa penyakit kusta dapat ditularkan melalui saluran pernafasan (droplet infeksi) dan kulit.

Narakontak serumah merupakan kelompok dengan resiko penularan tertinggi,. Kontak serumah dengan penderita kusta mempunyai peluang lebih besar kemungkinan untuk tertular dibanding populasi umum. Para pakar kusta sependapat bahwa frekwensi kontak dengan sumber infeksi merupakan hal yang penting dalam penularan.

Pemaparan yang terus menerus dan lama dengan *M. leprae* menyebabkan ada kemungkinan narakontak sakit dan menjadi penderita kusta baru atau tetap sehat.

Penularan melalui droplet infeksi ini memegang peranan yang cukup besar dalam rantai penularan *M. leprae*, di samping penularan melalui kontak erat dari kulit ke kulit.

Pada penelitian ini akan dilakukan pemeriksaan apusan mukosa hidung pada narakontak penderita kusta MB dan PB dengan menggunakan Pemeriksaan PCR dan Pemeriksaan BTA, lalu hasilnya dibandingkan antara narakontak serumah penderita kusta MB dan Penderita PB.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan insiden ditemukannya *Mycobacterium leprae* pada apusan mukosa hidung narakontak serumah penderita kusta tipe Multibasiler (MB) dan Pausibasiler (PB) dengan teknik pemeriksaan PCR dan BTA di wilayah puskesmas Kedundung dan Kamoning kabupaten Sampang.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat analitik observasional dengan rancang bangun *cross sectional* atau potong lintang

4.2 Populasi, Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah semua narakontak serumah dari seluruh penderita kusta di wilayah puskesmas Kedundung dan puskesmas Kamoning kabupaten Sampang

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah semua narakontak serumah dari sebagian penderita kusta yang memenuhi syarat kriteria penerimaan sampel penelitian.

4.2.2.1 Besar dan Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara *cluster random* 2 tahap, dengan unit clusternya adalah penderita kusta baru dan keluarganya yang tinggal serumah (narakontak). Adapun cara pengambilan adalah sebagai berikut :

- 1) Penderita kusta baru dan keluarga yang tinggal serumah (narakontak) sebagai kluster didaftar terbagi menjadi 2 tipe, kusta tipe MB dan PB.
- 2) Setiap kluster tidak sama jumlah narakontaknya dan semua narakontak di kluster itu menjadi sampel. Narakontak dihitung dan diranking mulai dari kluster yang jumlah narakontaknya terbesar sampai terkecil.
- 3) Kluster yang mempunyai jumlah narakontak yang sama/hampir sama dikelompokkan dan sampel yang akan diperiksa laboratorium diambil sesuai

proporsi dalam kelompok tersebut, sehingga setiap kelompok ada yang diambil sebagai sampel untuk pemeriksaan laboratorium.

- 4) Pengambilan sampel di kelompok kluster menggunakan *Simple Random Sampling*.
- 5) Besar sampel seluruhnya sebanyak 70 sampel.

4.2.2.2 Kriteria Inklusi

- 1) Anggota keluarga serumah penderita kusta baru tipe MB dan PB dengan kondisi :
 - a) Lama kontak dengan penderita minimal 1 tahun
 - b) Tampak sehat dan tidak menunjukkan gejala klinis kusta
 - c) Tidak sedang menjalani pengobatan (Tuberkulosis) selama 6 bulan terakhir
- 2) Bersedia dilakukan pengambilan bahan apusan mukosa hidung dengan menandatangani *informed consent*

4.2.2.3 Kriteria Eksklusi

Menderita sakit kronis (Tuberkulosis)

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

- 1) Diagnosis klinis penyakit kusta

Diagnosis klinis penyakit kusta adalah penentuan penyakit kusta berdasarkan adanya tanda-tanda pokok atau *cardinal sign*, yaitu : adanya lesi hipopigmentasi atau kemerahan dengan hilang/mati rasa yang jelas, kerusakan dari syaraf tepi berupa penebalan dengan hilang/mati rasa yang jelas, adanya kuman tahan asam di dalam kerokan jaringan kulit (BTA positif). Seseorang dinyatakan sebagai penderita kusta bila terdapat satu dari tanda-tanda pokok

diatas. Penderita yang telah didiagnosis secara klinis dikelompokkan dalam klasifikasi WHO : Multibasiler (MB) dan Pausibasiler (PB)

2) Penderita Kusta baru

Penderita kusta baru adalah penderita yang telah didiagnosis secara klinis sebagai kusta dan belum atau mendapatkan pengobatan selama kurang dari 3 bulan.

3) Narakontak serumah

Narakontak serumah adalah anggota keluarga yang tinggal serumah dengan penderita kusta tersebut diatas dan setidaknya-tidaknya telah kontak dengan penderita selama lebih dari 1 tahun.

4) Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA)

a) Pemeriksaan BTA dilakukan dengan pengecatan *Ziehl Neelsen* dan dilakukan pembacaan hasil dengan menentukan Indeks Bakteriologi (IB)

b) Hasil pemeriksaan BTA positif apabila tampak adanya Basil Tahan Asam berwarna merah berbentuk *solid, fragmented* atau *granular*

c) Indeks Bakteriologi penilaian didasarkan atas skala *logaritme Ridley* :

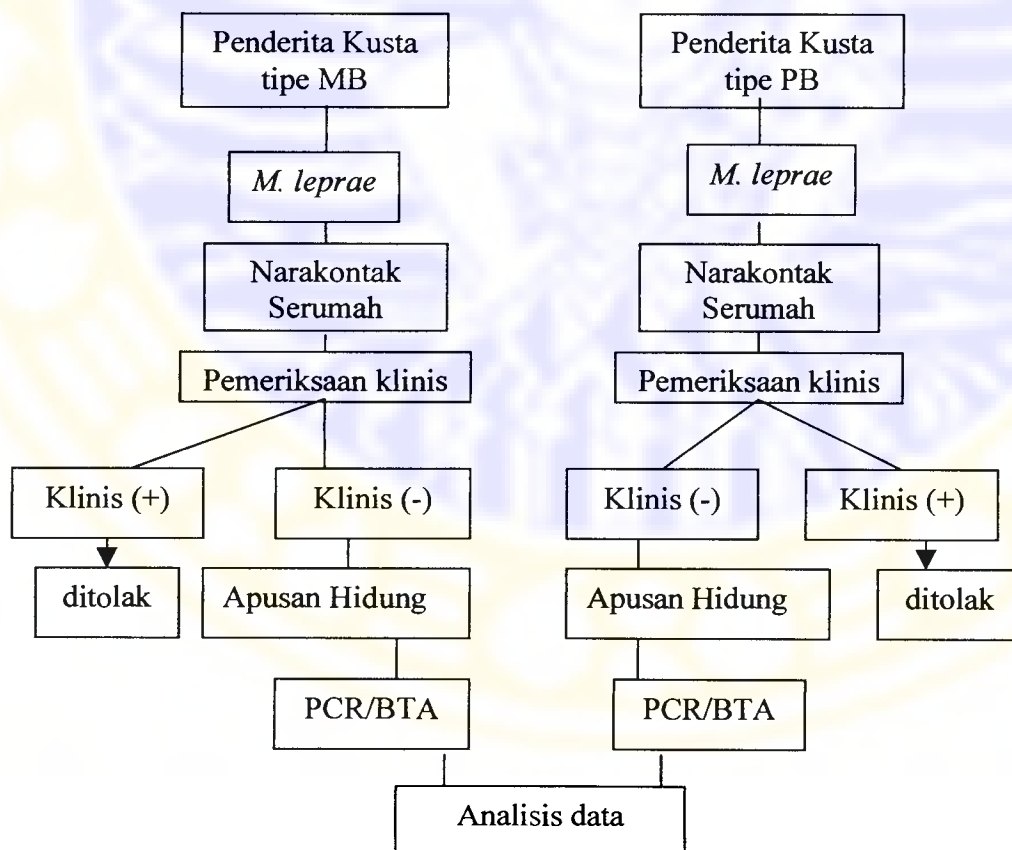
- tidak ditemukan BTA dalam 100 lapangan pandang
- (+1) 1-10 BTA ditemukan dalam 100 lapangan pandang
- (+2) 1-10 BTA ditemukan dalam 10 lapangan pandang
- (+3) 1-10 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang
- (+4) 10-100 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang
- (+5) 100-1000 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang
- (+6) lebih dari 1000 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang

5) Pemeriksaan DNA *M. leprae*

Adanya DNA *M. leprae* dapat dideteksi dengan melakukan pemeriksaan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Pada penelitian ini digunakan sepasang *primer* yakni *primer C* dan *D* yang menyandi daerah genom 65 kDa antigen *M. leprae* yang mengamplifikasi fragmen sebesar 372 bp.

Hasil pemeriksaan PCR dikatakan positif bila pada sampel memperlihatkan pita dengan ketinggian di bawah 400 bp yang dibandingkan dengan *marker* (petanda). PCR juga dilakukan pada kontrol positif dan negatif, ketinggian pita kontrol positif dan sampel yang positif dapat dilihat pada *agarose gel*. Untuk kontrol positif dipakai kuman *M. leprae* strain Thai 53 yang dibiakkan dari *nude mice*.

4.4 Alur Penelitian



Alur penelitian ini dimulai dengan pemilihan penderita berdasar data dari Puskesmas Kedundung dan Puskesmas Kamoning serta dikelompokkan berdasarkan tipe MB atau PB. Setelah penderita didaftar masing-masing dipilih narakontaknya kemudian diperiksa secara klinis, narakontak dengan klinis positif tidak dimasukkan dalam sample penelitian atau ditolak, sedangkan narakontak dengan hasil negatif dilakukan pengambilan sediaan apusan mukosa hidung oleh tenaga yang kompeten atau peneliti.

Sediaan apusan mukosa hidung diperiksa di laboratorium Kusta *Tropical Diseases Centre* (TDC) Universitas Airlangga oleh peneliti dengan didampingi tenaga kompeten.

Data dan hasil yang didapat dimasukkan dalam lembar pengumpulan data dan dilakukan analisa data

4.5 Bahan Penelitian

4.5.1. Bahan untuk membuat apusan mukosa hidung

Larutan Bufer PBS (*Physiologic Buffer Saline*)

4.5.2. Bahan untuk pengecatan BTA dengan metode *Ziehl Neelsen*

- 1) Larutan *karbol fuchsin* 0,3 %
- 2) Larutan alkohol asam (Alkohol HCl 3 %)
- 3) Larutan *Methylen blue* 0,3 %

4.5.3. Bahan untuk ekstraksi DNA, PCR dan Elektroforesis

- 1) Bufer PBST (*Phosphate Buffered Saline Tween*)
- 2) Bahan untuk ekstraksi DNA dari sampel apusan hidung memakai *Qiagen miniprep kit*

3) *Primer C* 5' GCACGTAAGCCTGTCGGTGG 3'

D 5' CGGCCGGATCATCGATGCAC 3'

Masing-masing *primer* sebesar 5,0 pmol

4) *PCR master mixture* berisi : *enzim taq DNA polimerase*, Tris HCL (PH 9,0 pada suhu kamar) 10 mM, KCL 50 mM, MgCL 1,5 MM, campuran dNTP masing-masing 200 mM, DNA sampel untuk cetakan 100-200 ng tiap sampel, air *destilasi steril*, sehingga total volume larutan sebanyak 25 µl.

5) *Gel Agarose* untuk elektroforesis yang dibuat dengan konsentrasi 2 % menggunakan produk *HS* dengan pelarut *buffer TBE (Tris Boric EDTA)* dan *Ethidium Bromide 0,01 %*.

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1 Instrumen untuk mengambil spesimen apusan hidung dan Ekstraksi DNA.

- 1) *Cotton Wool Swab (JCB sterilized mentip)*
- 2) *Eppendorf microtube steril*
- 3) Sarung tangan
- 4) *Pipet Micro* dengan berbagai ukuran
- 5) *Mesin Centrifuge Eppendorf*

4.6.2 Instrumen untuk pengecatan BTA dengan metode *Ziehl Neelsen*

- 1) Rak pengecatan, Pipet, Pinset kecil, pengukur waktu (*timer*), lampu spiritus.
- 2) Air yang mengalir berupa air ledeng atau botol berpipet berisi air.
- 3) Mikroskop.

4.6.3 Instrumen untuk pemeriksaan PCR

Mesin PCR dan microtube PCR

4.6.4 Instrumen untuk Elektroforesis

Microwave, Electroforesis chamber 100 V, lampu Ultra Violet, Kamera.

4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.7.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di wilayah puskesmas Kedundung dan puskesmas Kamoning kabupaten Sampang dan di *Tropical Disease Center (TDC) UNAIR* Surabaya

4.7.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 4 bulan, mulai Maret sampai dengan bulan Juni tahun 2005

4.8 Prosedur dan Pengambilan Data

4.8.1 Pengambilan sediaan apusan mukosa hidung

- 1) Cotton swab dikeluarkan dari pembungkus dengan cara menggunting ujung atas pembungkus.
- 2) Cotton swab dimasukkan dalam larutan PBS (*Physiologic Buffer Saline*). Angkat, lalu usap secara lembut pada *konka lateral inferior*, kemudian swab disimpan ke pumbungkusnya, diberi label dan diselotif. Kemudian disimpan dalam *freezer* dengan suhu -4°C .
- 3) Setelah terkumpul, semua sampel dibawa dengan *cool box* ke laboratorium *Tropical disease Centre* untuk dilakukan pemeriksaan BTA dan PCR.
- 4) Selanjutnya setelah di laboratorium TDC, cotton swab dikeluarkan dari plastik, dan dimasukkan dalam tabung berisi 600 μl PBST (*Phosphate buffered saline Tween*), diperas dan diputar.

- 5) Cotton swab dibuang. Tabung disentrifuge 20 menit, 4 °C dengan *maximum speed*, setelah di sentrifuge supernatan dibuang.
- 6) Sebagian sedimen diambil dan ditaruh di obyek glass untuk pemeriksaan BTA dan sisanya digunakan pemeriksaan PCR

4.8.2 Pemeriksaan Laboratorium

4.8.2.1 Pengecatan *Ziehl Neelsen*

- 1) Sediaan apusan mukosa hidung yang telah difiksasi diletakkan pada rak dengan apusan hidung menghadap keatas
- 2) Larutan karbol *fuchsin* 0,3 % dituangkan diatas apusan sampai menutupi seluruh permukaan sediaan apusan
- 3) Kemudian dipanaskan dengan nyala api spiritus sampai keluar uap selama 3-5 menit zat warna tidak boleh mendidih atau kering
- 4) Sediaan disingkirkan dari api spiritus, kemudian didiamkan selama 5 menit
- 5) Sediaan dibilas dengan air mengalir pelan sampai zat warna yang bebas terbang
- 6) Sediaan dituangi dengan alkohol asam (alkohol HCL 3 %) sampai warna merah *fuchsin* hilang
- 7) Sediaan dibilas kembali dengan air mengalir
- 8) Sediaan dituangi dengan *Methylen Blue* 0,3 % sampai menutupi seluruh permukaan dibiarkan selama 1-2 menit
- 9) Sediaan dibilas kembali dengan air mengalir
- 10) Sediaan dikeringkan diatas rak pengering diudara terbuka

4.8.2.2 Pemeriksaan (*Polymerase Chain Reaction/PCR*)

- 1) Ekstraksi DNA dari sampel Penelitian

- a) Setelah di sentrifuge supernatan dibuang, sebagaimana uraian sub bab 4.8.1 : point 6), dan Sedimen ditambah larutan *QIA gen* P1 250 μ l lalu dicampur atau dikocok dengan alat *vortex*.
 - b) Kemudian tambah *buffer* P2 250 μ l, dicampur dengan alat *vortex*.
 - c) Ditunggu 5 menit tambah 350 μ l *buffer* N3 dikocok 4-6 kali, sentrifuge 10 menit kecepatan maximum.
 - d) Setelah di sentrifuge supernatan ditransfer ke *QIA Prep collum* (terdiri atas 2 tabung), lalu disentrifuge 30-60 detik, cairan terbentuk dibuang.
 - e) Ditambahkan *buffer* PB 500 μ l dan sentrifuge, setelah itu cairan dibawahnya dibuang dan kemudian ditambahkan *buffer* PE 750 μ l dan disentrifuge 30-60 detik.
 - f) Sedimen dalam tabung penyaring kemudian dipindah ke tabung steril *microsentrifuge* 1,5 ml.
 - g) Setelah dipindah, ditambahkan *aquadest steril* 35 μ l. Sediaan ini siap diperiksa PCR.
- 2) Prosedur Amplifikasi DNA
- a) Dilakukan *pre heat* pada 94 $^{\circ}$ C selama 4 menit, *denaturasi* 94 $^{\circ}$ C selama 30 detik, *annealing* pada 58 $^{\circ}$ C selama 30 detik dan *ekstensi* pada 72 $^{\circ}$ C selama 30 detik, diikuti dengan *prolong ekstensi* pada 72 $^{\circ}$ C selama 7 menit. Amplifikasi dilakukan sebanyak 43 siklus.
- 3) Prosedur Elektroforesis gel
- a) Untuk melihat terjadinya amplifikasi DNA maka dilakukan elektroforesis dari sampel.

- b) Sebanyak 2 μ l *loading solution* dimasukkan ke dalam 10 μ l sampel hasil PCR, kemudian dimasukkan dalam sumuran *gel agarose* 2 %.
- c) Sebagai marker dipakai 100 bp DNA ladder. Hasil elektroforesis direndam ke dalam *Ethidium Bromide* 0,01 % selama 20 menit, kemudian dibaca memakai foto dengan sinar ultra violet.

4.9 Pengumpulan dan Analisa Data

Data yang dikumpulkan adalah data hasil pemeriksaan BTA dan hasil amplifikasi dengan PCR.

Perbedaan insiden *M. leprae* dengan pemeriksaan PCR/BTA pada narakontak penderita MB dibandingkan dengan narakontak penderita PB diuji dengan statistik *Chi-square*

BAB 5

HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

5.1.1 Gambaran Umum

Kabupaten Sampang mempunyai prevalensi kusta tertinggi di Jawa Timur dengan prevalensi 8,20 per 10.000 penduduk, jumlah penderita sebanyak 641 orang terdiri atas 63 (9,8 %) penderita PB dan 578 (90,2 %) penderita MB.

Penyebaran Kusta di kabupaten Sampang hampir merata di semua kecamatan, baik di daerah pantai, pedalaman maupun di daerah perkotaan. Pada tahun 2004 wilayah puskesmas Kedundung yang merupakan daerah pedalaman mempunyai prevalensi tertinggi di kabupaten Sampang yaitu sebesar 13,58 per 10.000 penduduk, penderita baru yang ditemukan sebanyak 53 orang yang terbagi menjadi 45 orang penderita kusta tipe MB dan 8 orang tipe PB.

Sedangkan Wilayah Puskesmas Kamoning yang termasuk daerah perkotaan mempunyai prevalensi sebesar 10,16 per 10.000 penduduk, penderita kusta yang ditemukan sebanyak 62 orang yang terbagi menjadi penderita kusta tipe MB 31 orang dan tipe PB sebanyak 31 orang.

5.1.2 Jumlah Sampel

Penelitian dilakukan di wilayah Puskesmas Kedundung dan Puskesmas Kamoning kabupaten Sampang selama 2 bulan, Total sampel seluruhnya sebesar 70 narakontak, 1 diantaranya tidak memenuhi kriteria penerimaan sampel sehingga sampel yang terkumpul sebanyak 69 sampel yang memenuhi kriteria penerimaan sampel, dari 69 sampel diambil spesimen hapusan hidung, dan selanjutnya dari masing-masing spesimen tersebut dideteksi adanya basil

M. leprae dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan pewarnaan basil tahan asam (BTA *Ziehl Neelsen*).

Dari 69 narakontak yang diambil spesimennya, 39 orang berasal dari wilayah puskesmas Kedundung dan 30 orang berasal dari wilayah puskesmas Kamoning. Sedangkan berdasarkan kluster penderita kusta, 36 orang merupakan narakontak penderita kusta tipe MB dengan jumlah penderita sebanyak 10 orang, sedangkan 33 orang adalah narakontak penderita kusta tipe PB dengan jumlah penderita sebanyak 8 orang.

5.1.3 Karakteristik Sampel Penelitian

5.1.3.1 Distribusi sampel menurut kelompok umur

Berdasarkan distribusi kelompok umur narakontak penderita kusta tipe MB terbanyak terdapat pada kelompok umur 10 - < 20 tahun sebanyak 16 orang (44.4 %), selanjutnya pada kelompok umur 40 - < 50 tahun sejumlah 6 orang (16.7 %) dan terendah pada kelompok umur 0 - < 10 tahun dan 20 - < 30 tahun masing-masing 2 orang (5.6 %).

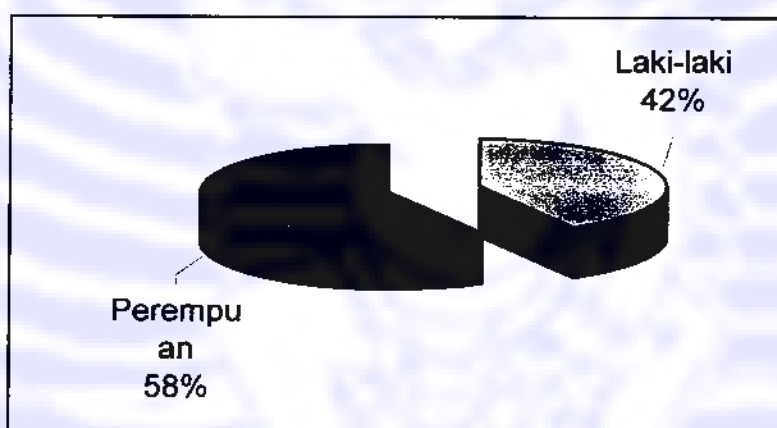
Tabel 5.1 Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe MB dan PB menurut kelompok umur di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

No	Kelompok umur	Narakontak MB		Narakontak PB		Total	
		Jumlah	(%)	Jumlah	(%)	jumlah	(%)
1	0 - < 10 tahun	2	5.6	3	9.1	5	7.2
2	10 - < 20 tahun	16	44.4	11	33.3	27	39.1
3	20 - < 30 tahun	2	5.6	2	6.1	4	5.8
4	30 - < 40 tahun	5	13.9	3	9.1	8	11.6
5	40 - < 50 tahun	6	16.7	5	15.2	11	15.9
6	>= 50 tahun	5	13.9	9	27.3	14	20.3
	T O T A L	36	100.0	33	100.0	69	100.0

Sedangkan sampel narakontak penderita kusta tipe PB distribusi menurut kelompok umur yang terbanyak pada kelompok umur 10 - < 20 tahun sebanyak 11 orang (33.3 %), selanjutnya 9 orang pada kelompok umur ≥ 50 tahun (27.3 %) dan yang paling rendah pada kelompok umur 20 - < 30 tahun sebanyak 2 orang (6,1 %).

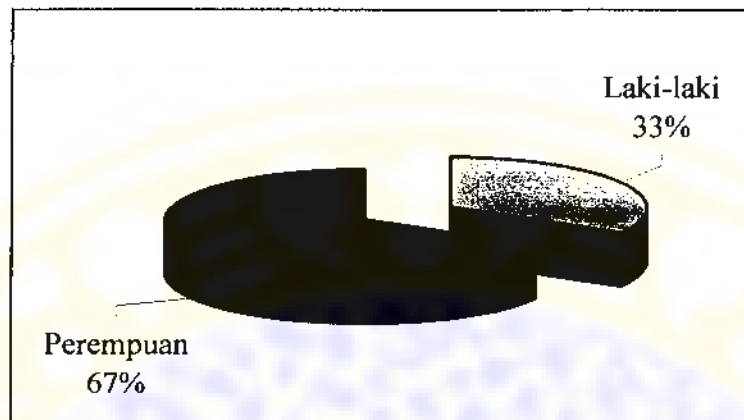
5.1.3.2 Distribusi sampel menurut Jenis Kelamin

Dari 39 sampel yang diteliti dijumpai narakontak penderita kusta tipe MB dengan jenis kelamin perempuan berjumlah 21 orang (58.3 %) lebih banyak dibandingkan laki-laki yaitu sebanyak 15 orang (41.7 %).



Grafik 5.1 Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe MB menurut Jenis Kelamin di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

Sedangkan narakontak penderita kusta tipe PB, perempuan berjumlah 22 orang (66.7 %) lebih banyak dibandingkan laki-laki sebanyak 11 orang (33.3 %). Sehingga perbandingan rata-rata jumlah narakontak perempuan dan laki 2 : 1.



Grafik 5.2 Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe PB menurut Jenis Kelamin di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

5.1.2.3 Distribusi Sampel menurut Status Keluarga

Semua sampel narakontak penderita kusta tipe MB maupun PB rata-rata lebih dari 1 tahun tinggal serumah dan kontak dengan penderita kusta. Kebanyakan narakontak mempunyai hubungan kekerabatan yang erat dengan penderita kusta. Pada sampel narakontak penderita kusta tipe MB yang paling banyak hubungan kekerabatannya adalah kakak/adik sebanyak 14 orang (38.9 %), selanjutnya ayah/ibu sebanyak 11 orang (30.6 %) dan yang paling rendah adalah paman/bibi dan kakek/nenek masing-masing sebanyak 1 orang (2.8 %).

Tabel 5.2 Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe MB dan PB menurut Status keluarga di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

No	Status keluarga	Narakontak MB		Narakontak PB		Total	
		Jumlah	(%)	Jumlah	(%)	Jumlah	(%)
1	Ayah/ibu	11	30.6	5	15.2	16	23.2
2	Anak	3	8.3	3	9.1	6	8.7
3	Kakak/adik	14	38.9	9	27.3	23	33.3
4	Kakek/nenek	1	2.8	6	18.2	7	10.1
5	Paman/bibi	1	2.8	4	12.1	5	7.2
6	Sepupu/ponakan	3	8.3	5	15.2	8	11.6
7	Cucu/cicit	3	8.3	1	3.0	4	5.8
	TOTAL	36	100.0	33	100.0	69	100.0

Sedangkan Sampel narakontak penderita kusta tipe PB hubungan kekerabatan yang paling banyak adalah kakak/adik sebanyak 9 orang (27.3 %) kemudian kakek/nenek 6 orang (18.2 %) dan terendah cucu/cicit 1 orang (3.0 %).

5.1.2.3 Distribusi Sampel menurut Lama Kontak

Tabel 5.3 Distribusi sampel narakontak penderita kusta tipe MB dan PB menurut Lama Kontak di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

No	Lama Kontak	Narakontak MB		Narakontak PB		Total	
		Jumlah	(%)	Jumlah	(%)	Jumlah	(%)
1	1-3 tahun	5	13.9	10	30.3	15	21.74
2	≥ 3 tahun	31	86.1	23	69.7	54	78.26
	TOTAL	36	100.0	33	100.0	69	100.00

Dari tabel diatas terdapat bahwa sampel narakontak penderita MB maupun PB kontak dengan penderita rata-rata lebih dari atau sama dengan 3 tahun. Nara kontak penderita MB yang lama kontaknya ≥ 3 tahun sebanyak 31 orang (86.1 %), dan 5 orang yang mempunyai lama kontak 1- 3 tahun (13.9 %). Sedangkan sampel narakontak penderita PB yang lama kontaknya ≥ 3 tahun sebanyak 23 orang (69.7 %) dan lama kontak 1-3 sebanyak 10 orang (30.3%).

5.2 Hasil Pemeriksaan Laboratorium

5.2.1 Hasil Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Dari 69 spesimen apusan hidung yang diperiksa menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)* ditemukan 6 spesimen (8.7 %) hasilnya positif (+). Dari spesimen yang positif, 4 spesimen (66.7 %) diantaranya adalah berasal dari spesimen apusan hidung narakontak penderita MB dan sisanya sebanyak 2 spesimen (33.3 %) berasal dari narakontak penderita PB.

Tabel 5.4 Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut tipe penderita kusta di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

No	Narakontak penderita kusta	Hasil Pemeriksaan PCR				Total
		Positif (+)	(%)	negatif (-)	(%)	
1	Multibasiler (MB)	4	66.7	32	50.8	36
2	Pausibasiler (PB)	2	33.3	31	49.2	33
	TOTAL	6	100.0	63	100.0	69

Fisher's Exact Test, $p = 0.675$ ($\alpha = 0.05$)

Dari uji *Fisher's Exact Test* didapatkan hasil $p > 0.05$ yang artinya tidak ada perbedaan yang bermakna antara insiden ditemukannya *Mycobacterium leprae* pada apusan mukosa hidung narakontak penderita kusta tipe Multibasiler (MB) dan Pausibasiler (PB).

Tabel 5.5 Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut kelompok Umur di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

No	Kelompok Umur	Hasil Pemeriksaan PCR				Total
		(+)	(%)	(-)	(%)	
1	0 - < 10 tahun	0	-	5	7.9	5
2	10 - < 20 tahun	4	66.7	23	36.5	27
3	20 - < 30 tahun	0	-	4	6.3	4
4	30 - < 40 tahun	0	-	8	12.7	8
5	40 - < 50 tahun	0	-	11	17.5	11
6	≥ 50 tahun	2	33.3	12	19.0	14
	TOTAL	6	100.0	63	100.0	69

Berdasarkan hubungan Umur dengan hasil pemeriksaan PCR, dari 6 spesimen yang positif (+), 66.7 % (4 spesimen) diantaranya adalah terdapat pada

kelompok umur 10- < 20 tahun dan 33.3 % (2 spesimen) terdapat pada kelompok umur ≥ 50 tahun. Sedangkan kelompok umur yang lain mempunyai hasil pemeriksaan PCR negatif.

Tabel 5.6 Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut lama kontak di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

No	Lama Kontak	Hasil Pemeriksaan PCR				Total
		(+)	(%)	(-)	(%)	
1	1 - 3 tahun	1	16.7	14	22.2	15
2	≥ 3 tahun	5	83.3	49	77.8	54
	TOTAL	6	100.0	63	100.0	69

Menurut tabel diatas, hasil pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak penderita kusta ditemukan 83.3 % (5 spesimen) dari 6 spesimen yang positif berasal dari spesimen dengan lama kontak ≥ 3 tahun dan 1 spesimen (16.7 %) ditemukan PCR (+) pada kontak 1-3 tahun.

Tabel 5.7 Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut Status keluarga di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

No	Status Keluarga	Hasil Pemeriksaan PCR				Total
		(+)	(%)	(-)	(%)	
1	Ayah/ibu	2	33.3	14	22.2	16
2	Anak	0	-	6	9.5	6
3	Kakak/adik	3	50.0	20	31.7	23
4	Kakek/nenek	0	-	7	11.1	7
5	Paman/bibi	0	-	5	7.9	5
6	Sepupu/ponakan	1	16.7	7	11.1	8
7	Cucu/cicit	0	-	4	6.3	4
	TOTAL	6	100.0	63	100.0	69

Dari tabel diatas menunjukkan bahwa hasil PCR positif terbanyak ditemukan pada kakak/adik sebanyak 3 orang (50 %), kedua orang tua atau ayah/ibu juga ditemukan hasil PCR positif berjumlah 2 orang (33.3 %) dan disusul sepupu/ponakan sebanyak 1 orang (16.7 %), sedangkan keluarga dekat yang lain seperti anak, kakek atau nenek tidak ditemukan hasil positif.

Tabel 5.8 Hasil Pemeriksaan PCR dari apusan hidung narakontak menurut Jenis Kelamin di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

No	Jenis Kelamin	Hasil Pemeriksaan PCR				Total
		(+)	(%)	(-)	(%)	
1	Laki-laki	3	50.0	23	36.5	26
2	Perempuan	3	50.0	40	63.5	43
	TOTAL	6	100.0	63	100.0	69

Hasil pemeriksaan PCR menurut jenis kelamin antara laki-laki dan perempuan mempunyai Proporsi yang sama. Dari 6 spesimen apusan hidung yang positif terdapat 3 spesimen narakontak berjenis kelamin perempuan (50 %) dan laki-laki sebanyak 3 spesimen (50 %), jadi perbandingan hasil PCR positif antara laki-laki dan perempuan adalah 1 : 1

5.2.2 Hasil Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA)

Hasil Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) dari 69 spesimen apusan (swab) hidung narakontak serumah penderita kusta tipe MB maupun PB di Puskesmas Kedundung dan Kamoning tidak ditemukan basil satu pun atau semua spesimen hasilnya negatif. Sebagaimana tabel berikut ini.

Tabel 5.9 Hasil Pemeriksaan BTA dari apusan hidung narakontak menurut tipe penderita kusta di Puskesmas Kedundung dan Kamoning Kabupaten Sampang

No	Narakontak penderita kusta	Hasil Pemeriksaan BTA				Total
		Positif (+)	(%)	negatif (-)	(%)	
1	Multibasiler (MB)	0	-	36	52.2	36
2	Pausibasiler (PB)	0	-	33	47.8	33
	TOTAL	0	-	69	100.0	69

BAB 6

PEMBAHASAN

Kabupaten Sampang merupakan salah satu kabupaten di Jawa Timur yang mempunyai prevalensi kusta cukup tinggi, semakin tahun kusta di Kabupaten Sampang cenderung meningkat, angka prevalensi kusta tahun 2002 sebesar 4,60 per 10.000 penduduk, tahun 2003 sebesar 6,34 dan terus mengalami peningkatan sebesar 8,20 pada tahun 2004. Banyak upaya atau program penanggulangan yang telah dilakukan untuk eliminasi kusta. diantaranya adalah dengan penemuan penderita kusta secara aktif maupun pasif. Program ini dapat membantu mengetahui sumber penularan penyakit kusta.

Sumber penularan terbanyak terjadi pada kusta tipe MB. Sumber penularan yang pasti sulit diketahui karena lamanya masa inkubasi, tetapi beberapa penelitian menemukan *M. leprae* di mukosa hidung orang yang kontak dengan penderita Kusta (Amirudin, et al., 2003).

Spesimen yang digunakan pada penelitian ini adalah apusan hidung narakontak penderita kusta. Total sampel 70 orang, yang memenuhi kriteria penerimaan sampel sebanyak 69 sampel, 1 sampel dijumpai adanya tanda klinis penyakit kusta sehingga tidak diikutkan dalam penelitian.

Sampel penelitian adalah narakontak penderita kusta yang diambil secara random berdasarkan kluster penderita kusta MB dan PB. Seluruh kontak serumah dengan penderita dijadikan sebagai sampel. Dari 69 spesimen apusan hidung yang digunakan sebagai sampel penelitian. 36 spesimen berasal dari apusan hidung narakontak penderita kusta tipe MB dengan jumlah penderita sebanyak 10 orang dan 33 spesimen berasal dari tipe PB dengan jumlah penderita sebanyak 8 orang.

Kelompok umur terbanyak terdapat pada kelompok umur 10 – 20 tahun yaitu sebanyak 39.1 % (26 sampel), dan 62.3 % (43 sampel) terdapat jenis kelamin perempuan. Hal ini menunjukkan bahwa sampel penelitian yang terbanyak pada usia muda atau masa produktif, dan berjenis kelamin perempuan karena hampir sebagian penduduk laki-laki di wilayah puskesmas Kedundung dan Kamoning hidup merantau.

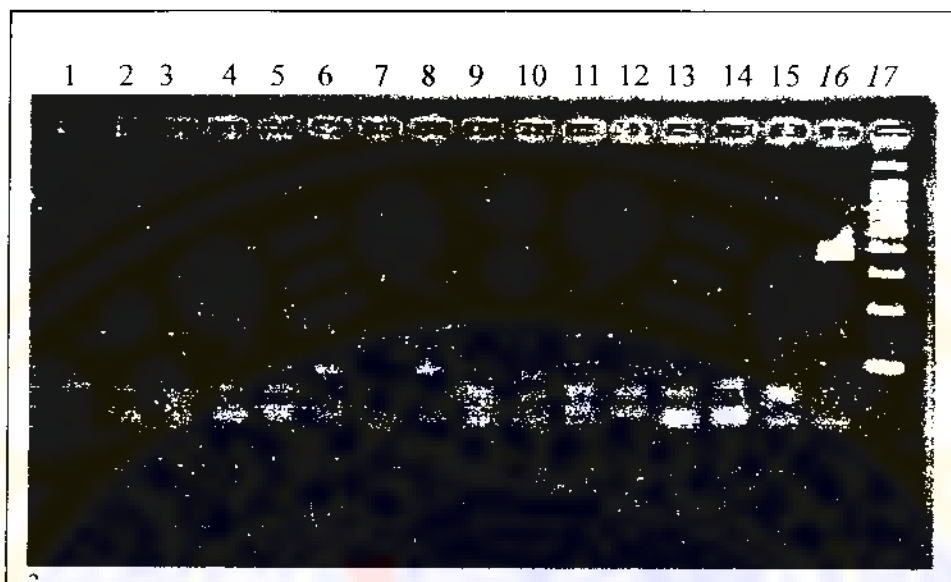
6.1 Hasil Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik biologi molekuler yang digunakan untuk mendeteksi adanya *M. leprae* dengan melakukan amplifikasi dari potongan DNA yang spesifik dari kuman tersebut, dimana dengan keberadaan kuman yang hanya dalam jumlah sedikit sudah bisa terdeteksi (Agusni dkk, 2004).

PCR diketahui mempunyai spesifisitas dan sensitifitas yang hampir sempurna dalam mendeteksi *M. leprae*. Uji PCR dilaporkan sensitif terhadap adanya 1 – 10 organisme dan memberi hasil yang positif pada 95 – 100 % kusta MB dan 50 - 70 % kusta PB (Katoch,2004).

Keunggulan teknik PCR tentunya harus disertai dengan ketelitian dan kebersihan yang tinggi. Bila ada kontaminasi sedikit saja, dengan sedikit DNA kuman yang ikut beramplifikasi akan terjadi positif palsu. Untuk mencegah hal tersebut selalu dilakukan kontrol positif dan negatif.

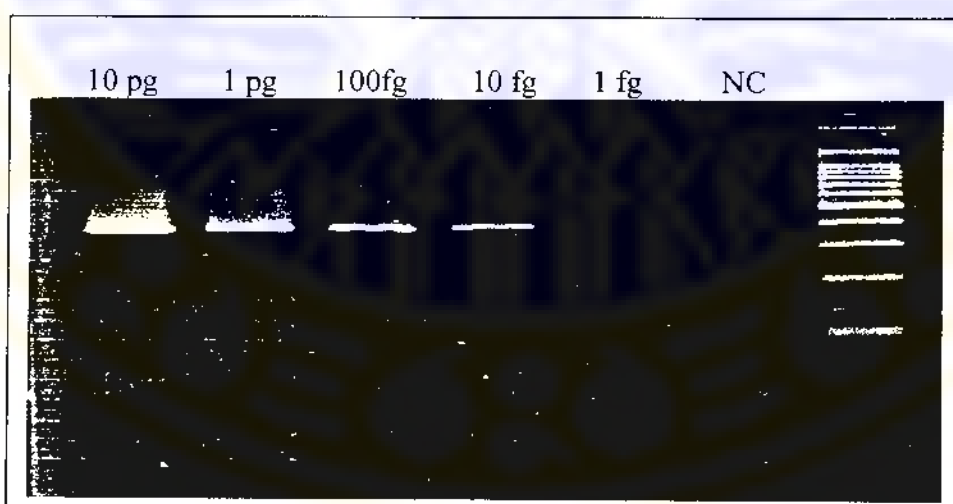
Dalam perjalanan penelitian karena alasan teknis maka digunakan *primer CD* yang spesifik terhadap *M. leprae*. Hal ini dibuktikan dengan uji spesifisitas dan sensitifitas dengan hasil sebagai berikut :



Gambar 6.1 Hasil Uji Spesifisitas *Primer CD*

ket : 1 = B-01, 2 = F-33 (*Fortuitum*), 3 = K- 11 (*Kansasii*), 4 = N260, 5 = N444, 6 = N17, 7 = S 66, 8 = N39 Rv, 9 = N39 Ra, 10 = *MTb Erdmann*, 11 = BCG, 12 = *M. avium*, 13 = *M. intracellular*, 14 = *M. smegmatis*, 15 = Negative Control, 16 = *M. leprae*, 17 = 100bp DNA ladder

Pada penelitian ini digunakan *primer CD* yang telah teruji sangat tinggi spesififikasi dan sensitifitasnya, sebagaimana hasil uji yang dilakukan oleh Izumi dkk (gambar 6.1), menunjukkan bahwa spesifisitas *primer CD* telah diuji pada berbagai biakan *Mycobacterium spp.* (no. 1- 15) dan dibandingkan dengan *M. leprae* (no.16) hasilnya hanya *M. leprae* yang memberi hasil positif.



Gambar 6.2 Hasil Uji Sensitifitas *Primer CD*

Dari gambar diatas terlihat hasil uji sensitifitas yang telah dilakukan bahwa DNA dari isolat *M. leprae strain Thai 53* dapat di amplifikasi oleh *primer CD* dan pita masih terlihat hingga volume terkecil 10 *fentogram*.

Hasil pemeriksaan dikatakan positif bila terbentuk band di ketinggian 372 bp (*basepair*, pasangan basa) terdapat pita dan sejajar dengan kontrol positif kuman *M. leprae*.

Hasil pemeriksaan PCR pada sampel menunjukkan hasil positif sebesar 6 spesimen (8.7 %). Hal ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan pada kontak penderita kusta oleh Klatser pada daerah endemik di Sulawesi menunjukkan hasil PCR positif 7.8 % (Klatser, et al., 1993). Namun hasil penelitian yang dilakukan oleh Izumi dkk mendapatkan hasil PCR positif yang cukup tinggi sebesar 27.1 % di daerah endemik Maluku Utara (Izumi S, et al., 1999).

Dari hasil uji *Fisher's Exact Test* ($p > 0.05$) dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara hasil pemeriksaan PCR pada narakontak serumah penderita kusta tipe MB dan PB.

Tidak adanya perbedaan bermakna antara narakontak penderita kusta tipe MB dan PB mungkin disebabkan karena adanya sumber penularan yang lain diluar penderita kusta, diantaranya dari lingkungan sekitar, karena narakontak penderita kusta tinggal dalam lingkungan yang sama maka akibatnya tidak ada perbedaan sensitifitas *M.leprae* dalam *cavum nasi*.

Dari 6 spesimen yang positif, 66.7 % (4 spesimen) terjadi pada narakontak penderita kusta tipe MB dan 33.3 % (2 spesimen) pada narakontak penderita kusta PB. Pada teori menyebutkan bahwa tipe MB lebih kontagius dibandingkan tipe PB sehingga hasil spesimen narakontak tipe MB seharusnya lebih besar bila

dibandingkan dengan narakontak tipe PB. Dilaporkan oleh Nordeen (1994) bahwa narakontak tipe MB mempunyai resiko delapan kali lebih besar untuk tertular dibandingkan narakontak penderita kusta tipe yang lain.

Walaupun secara prosentase tipe MB 2 kali lebih besar dibandingkan tipe PB, namun tipe PB punya kemungkinan yang sama dengan tipe MB untuk memberikan hasil PCR yang positif. Cree (1998) menyebutkan bahwa didaerah endemik kusta, tidak hanya penderita kusta tipe MB saja yang mengekresikan kuman *M. leprae* dari hidungnya, akan tetapi penderita kusta tipe PB juga mengekresikan walaupun dalam jumlah yang relatif lebih kecil.

Hasil PCR negatif yang dijumpai pada narakontak penderita kusta tipe PB maupun MB sebanyak 63 orang (91.3 %). Hasil ini berbeda dengan hasil yang disampaikan oleh Izumi (1999) yang mengatakan bahwa daerah endemis biasanya memberikan hasil PCR positif lebih dari 40 % sampel narakontak yang diperiksa. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian yang dilakukan Rahimah (2004) di RSUD Dr. Soetomo Surabaya terhadap narakontak penderita kusta, dimana ditemukan hasil PCR positif sebanyak 58.3 %.

Dari penelitian ini terlihat bahwa hasil positifitas PCR dari cavum nasi lebih kecil dibandingkan dengan penelitian pendahulu. Kecilnya positifitas hasil PCR dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya sumber kontak baik penderita kusta tipe MB maupun PB telah mendapat pengobatan sehingga tidak ada lagi kuman dalam cavum nasi, dengan sendirinya tidak ada kuman yang bisa ditularkan lewat hidung penderita kusta kepada narakontak. Yang kedua karena faktor *primer* yang digunakan. Meski dinyatakan sangat sensitif dan spesifik, namun metode PCR ini memiliki beberapa kelemahan yaitu kemungkinan adanya ketidaksesuaian, *primer*

yang dipakai untuk mendeteksi *M. leprae* dengan urutan nukleotida *M. leprae* yang diperiksa berasal dari Indonesia. Hasil yang negatif dengan menggunakan *primer* tertentu, misalnya pada penelitian ini mungkin akan menjadi positif dengan bantuan *primer* lain.

Hasil pemeriksaan PCR menunjukkan bahwa umur termuda PCR positif yang ditemukan terdapat pada umur 11 tahun dan tertua berumur 60 tahun, dari 6 spesimen yang positif hampir 66.7 % (4 spesimen) terdapat pada kelompok umur 10–20 tahun. Sisanya pada kelompok umur lebih dari 50 tahun yaitu sebanyak 2 orang (33.3 %). Lepra dapat mengenai semua umur, terbanyak pada umur usia muda, Ada perbedaan resiko paparan dari kelompok umur. Resiko paparan paparan yang paling rendah terjadi pada umur 0–14 tahun karena masa inkubasi yang pendek dan meningkat pada umur 15–50 tahun dan menurun lagi pada umur >50 tahun (Noordeen SK, 1994).

Pada daerah endemis kusta terdapat dua puncak distribusi umur, yakni periode 10-15 tahun dan 30-40 tahun. Hal ini disebabkan masa inkubasi atau periode laten yang sangat lama, sehingga gejala klinis baru tampak pada umur 10-15 tahun dan pada daerah endemis sering terjadi reinfeksi kuman kusta didalam tubuh, sehingga gejala klinis muncul pada umur dewasa yaitu umur 30 – 60 tahun (Noordeen SK, 1994).

Namun pada penelitian ini yang dijadikan sampel adalah narakontak, sehingga pola umur tidak sepenuhnya mencerminkan pola umur penderita kusta di daerah endemis.

Pada penelitian ini hasil PCR positif dijumpai pada 5 spesimen narakontak penderita kusta (83.3 %) yang kontak dengan penderita selama lebih dari 3 tahun dan 1 spesimen (16.7 %) yang kontak dengan penderita selama 1- 3 tahun. Lama kontak

menunjukkan lama paparan dengan penderita kusta. Penularan kusta diperlukan kontak yang lama, intim dan terus menerus. Job CK (1994) mengemukakan bahwa masa inkubasi dari penyakit kusta sangat panjang, yaitu sekitar 3-10 tahun, seharusnya kemungkinan hasil positif lebih banyak karena dari 69 spesimen yang diteliti 62.3 % (42 spesimen) lama kontak dengan penderita kusta melebihi 3 tahun. Hal ini disebabkan karena kontak yang dilakukan dengan penderita kusta tidak dilakukan terus menerus, kemungkinan karena mobilitas tinggi dari sebagian besar sampel.

Hasil pemeriksaan PCR antara penderita kusta yang dihubungkan dengan status keluarga, tercatat bahwa kakak/adik mempunyai prosentase terbesar yaitu 50 %. Kakak/adik punya hubungan yang erat dengan penderita karena setiap saat selalu bersama-sama. Hal ini berarti, baik kakak/adik atau status keluarga lain mempunyai kemungkinan yang sama untuk memberikan hasil yang positif atau negatif.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ada persamaan prosentase hasil PCR antara laki dan perempuan, masing-masing sebesar 50 %. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Van Beer (1999) di Sulawesi mendapatkan insiden kasus baru kusta pada kedua jenis kelamin hampir seimbang. Penelitian Klatser (1993) pada populasi endemik juga menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara jenis kelamin dengan hasil pemeriksaan PCR. Namun menurut Noordeen SK (1994) menyebutkan bahwa penyakit kusta dapat menyerang atau mengenai kedua jenis kelamin, dengan laki-laki lebih banyak daripada perempuan dengan rasio 2: 1.

6.2 Hasil Pemeriksaan BTA

Pada penelitian ini pemeriksaan BTA juga dilakukan pada spesimen apusan mukosa hidung narakontak. Dari 69 spesimen yang diperiksa tidak satupun spesimen mempunyai hasil positif.

Pemeriksaan BTA dari spesimen apusan hidung seringkali memberikan hasil yang tidak memuaskan oleh karena yang ditemukan adalah mikobakterium lain. Selain itu tidak adanya BTA pada spesimen apusan hidung narakontak dapat disebabkan karena jumlah *M. leprae* cepat sekali tidak terdeteksi apabila penderita mendapat terapi antibiotik (Amirudin et al., 1994).

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari 69 spesimen apusan hidung narakontak penderita kusta yang diperiksa di Laboratorium kusta *Tropical Disease Centre* (TDC) Surabaya didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Terdapat 6 spesimen (8.7 %) hasil PCR positif, 4 spesimen diantaranya adalah berasal dari spesimen apusan hidung narakontak penderita MB dan sisanya sebanyak 2 spesimen berasal dari narakontak penderita kusta tipe PB.
2. Tidak ada satupun spesimen mempunyai hasil positif pada pemeriksaan BTA
3. Dari uji statistik, didapatkan tidak ada perbedaan bermakna antara hasil pemeriksaan PCR pada narakontak penderita kusta tipe MB dan PB.

7.2 Saran

1. Hasil PCR positif perlu dilakukan pemeriksaan atau penelitian lanjut untuk menentukan sumber kuman yang terdeteksi di cavum nasi misalnya dengan genotyping.
2. Mengingat mahal dan sulitnya pemeriksaan PCR, maka untuk dilapangan tidak disarankan menggunakan pemeriksaan PCR untuk mendiagnosis penyakit kusta, cukup dengan pemeriksaan klinis dan pemeriksaan serologis.
3. Mengingat sulitnya menemukan kuman menggunakan spesimen apusan hidung pada pemeriksaan BTA, maka tidak disarankan menggunakan spesimen apusan hidung, namun sebaiknya dengan sayatan kulit.
4. Mengingat faktor lingkungan cukup berperan maka perlu dipikirkan penelitian lebih lanjut yang mencakup faktor lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, 2000. Cellular and Molecular Immunology. 4th ed, Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp 348-351.
- Abulafia J, Vignale RA, 1999. Leprosy : Pathogenesis Update. International Journal of Dermatologi 38: 321-334
- Agusni I, 1998. Perkembangan Terbaru Immunopatogenesis Penyakit Kusta. MDVI, hlm 32-38.
- Agusni I, 2001. Aplikasi Tehnik Polymerase Chain Reaction (PCR) Pada Penyakit Kusta. Berkala Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin. 13(1) : hlm 28 – 32(S).
- Agusni I, Menaldi SL, 2003. Beberapa Prosedur Diagnostik Baru pada penyakit Kusta. dalam (Daili ES, Menaldi SL, Ismiarto SP, Nilasari H, editor). Kusta. edisi kedua, Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hlm 59-65.
- Agusni I, Shinzo Izumi, Dinar Andriaty, Iswahjudi, 2004. Studi M. leprae dari alam lingkungan di daerah endemik kusta. Maj. Kedokteran Indonesia. volume 54 (8)
- Amirudim MD, Hakim Z, Darwis E, 2003. Diagnostik penyakit Kusta. dalam (Daili ES, Menaldi SL, Ismiarto SP, Nilasari H, editor). Kusta. edisi kedua, Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hlm 12-32.
- Bryceson ADM, Roy EP, 1990. *Mycobacterium leprae* . In : Leprosy. 3th ed. London: Churchill Livingstone, Edinburgh. pp 5-10.
- Cree IA, Smith WC, 1998. Leprosy Transmission and Mucosal Immunity : towards eradication ? Lepr. Rev, 69. pp 112-121.
- De Witt MYL, Faber WR, Krieg SR, 1991. Application of a Polymerase Chain Reaction for the Detection of *Mycobacterium leprae* in Skin Tissues. J Clin Microbiol, 29(5): pp 906 –910.
- Ditjen PPM & PLP, 2001. Buku pedoman Pemberantasan penyakit Kusta. cetakan XIV. Jakarta: Depkes RI
- Drapper P, 1986. Structure of *Mycobacterium leprae*. Lepr. Rev, 52(1) . P.15-20.
- Erllich HA, 1989. PCR technology. New York: Stockton Press.
- Gelber RH, 2001. Leprosy (Hansen's Disease), [http://www. Harrisononline.com/](http://www.Harrisononline.com/)
- Halim PW, Kurdi FN, 2003. Rehabilitasi non Medik. dalam (Daili ES, Menaldi SL, Ismiarto SP, Nilasari H, editor). Kusta. edisi kedua, Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hlm 119-127.

- Harboe M, 1994. Overview of host-parasite relations. In: Hastings RC, editor. Leprosy, 2nd ed. New York: Churchill Livingstone, pp 87-112.
- Izumi S, Budiawan T, Saeki K, Matsuoka M, Kawatsu K, 1999. An Epidemiologic study on Mycobacterium leprae infection and prevalence of leprosy in endemic villages by molecular biological technique. Indian journal of leprosy 7 (1) : 37-43
- Job CK, 1994. Pathology of Leprosy. In: Hasting RC, editor. Leprosy. 2nd. New York : Churchill Livingstone . pp 193 – 224.
- Jopling WH, McDougall AC, 1995. Epidemiology and World Distribution. In : Handbook of Leprosy, 5th ed. India : CBS Publisher & Distributors, pp 1-8
- Kandow JM, 1996. The Role of Histopathologic Examination in the Treatment of Leprosy. Jakarta. Kursus lanjutan patologi jaringan lunak dan penyakit tropik. Ikatan Ahli Patologi Indonesia. hlm 1-19.
- Katoch VM, 2004. Advances in the diagnosis and treatment of leprosy. Expert reviews in molecular medicine. <http://www.expertview.org/> :1-14
- Klatser PR, Van Beer S, Madjid B, Day R, deWitt MYL, 1993. Detection of Mycobacterium leprae of nasal carrier in population for which leprosy is endemic. Journal of Clinical Microbiology 31(11) : 2947-2951
- Mc Dougall AC, Ulrich MI, 1993. Mycobacterial Disease : Leprosy. In: Fitzpatrick TB et al, eds. Dermatology in General Medicine, 4th ed. New York : Mc Graw-Hill inc, pp 2395-2409.
- McKane L, Kandel J, 1985. Parenterally Acquired Diseases In : Microbiology. Essential and Applications, 5th ed. New York : Mc Graw-Hill Inc, pp 633-635.
- Misra N, Ramesh V, Misra RS, Narayan NPS, Colston MJ, Nath I, 1995. Clinical utility of LCR/A15 Gene for Mycobacterium leprae Detection in Leprosy Tissues using the Polymerase Chain Reaction. Int J Lepr 63 (1): 5-41
- Moschella SL, Cropley TG, 1992. Disease of the Mononuclear Phagocytic system (The So-called Reticuloendothelial System) . In (Moschella SL, Hurley HJ, eds). Dermatology, 3th ed. Philadelphia : WB Saunders Company, pp 1100–1115
- Mukerjee R, 1986. Parasite interrelationship between *M. leprae* and Schwann cell in vitro. Int. J. lepr. 54: pp 632-638
- Noordeen, 1994. The Epidemiology of leprosy. In: Hastings RC, editor. Leprosy 2nd New York : Churchill livingstone, pp 29-45

- Pattyn SR, Ursi D, Leven M, Grillone S, Raes V, 1993. Detection of *Mycobacterium leprae* by the Polymerase in Nasal Swabs of Leprosy Patients and their Contacts . Int. J Lepr. 61(3): p.389-93
- Pedley JC, 1978. Transmission of Leprosy. In : Chatterjee BR. A Window on Leprosy. Gandhi Memorial Leprosy Foundation Silver Jubilee Commemorative volume. pp 54-57
- Rachmat, 2003. Program pemberantasan penyakit kusta di Indonesia. dalam (Daili ES, Menaldi SL, Ismiarto SP, Nilasari H, editor). Kusta. edisi kedua, Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hlm 1-11
- Rafi A, Donoghue HD, Stanford JL, 1995. Application of Polymerase Chain Reaction for Detection of *Mycobacterium Leprae* DNA in Specimens from Treated Leprosy Patients. Int J Lepr 63(1): 42 – 47
- Rea T, 1991. Leprosy . In; Jordon RE, editor. Immunologic Diseases of the Skin. California: Appleton & Lange, pp 585-594
- Rees RJW, Young DB, 1994. The Microbiology of leprosy. In: Hastings RC, editor. Leprosy, 2nd ed. New York: Churchill Livingstone, pp 49-83
- Sharma RK, Katoch, Shivannavar CT, 1996 . Detection of *M.leprae* by Gene Amplification; Combined Ethidium Bramide Staining and Probe Hybridization. Int J Lepr 64(4): 409–415.
- Srinivasan H, 1994. Disability, Deformity and rehabilitation. In: Hastings RC, editor. Leprosy, 2nd ed. New York: Churchill Livingstone, pp 411-448.
- Subdin P2MPL, 2004. Laporan Program Kusta. Sampang: Dinas Kesehatan
- Tortora GJ, Funke, Berdel R, Case CL, 1995. Applications of Microbiology. In; Microbiology an Introduction. 5th ed. Redword city, California; The Benjamin/Cummings Publishing Company, pp 370-372, 544-545
- Van Beer S, Hatta M, Klatser PR, 1999. Patient contact is the major determinant in insident leprosy : Implication for future control International Journal of Leprosy 67 (2):119-128
- Wichitwechkarn J, Karnjan S, Shunta Wuttisetee S, Sornprasit C, Kampirapap K, Peerapakorn S, 1996. Detection of *Mycobacterium leprae* infection by PCR. J Clin Microbiol 33 (1): 45 – 49.
- Wisnu IM, Hadilukito G, 2003. Pencegahan cacat Kusta. dalam (Daili ES, Menaldi SL, Ismiarto SP, Nilasari H, editor). Kusta. edisi kedua, Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hlm 83-93.

World Health Organization, 1988. A Guide to Leprosy Control. Mahnitude of the Problem and Geographical Distribution, 2th ed. Geneva, pp 1-12

World Health Organization, 1998. WHO Model Prescribing Information : Drug Use in Leprosy. Geneva, pp 1- 28

LAMPIRAN 1 : Penderita Baru & Prevalensi Kusta di kabupaten Sampang tahun 2004

NO	PUSKESMAS	JML PDDK	PENDERITA BARU			PEND. TERDAFTAR			Angka Kesakitan per 10.000
			PB	MB	JML	PB	MB	JML	
1	SRESEH	32,522	8	28	36	7	37	44	13.53
2	TORJUN	51,700	3	8	11	3	8	11	2.13
3	KAMONING	43,301	8	45	53	3	41	44	10.16
4	BANYUANYAR	51,543	5	37	42	1	51	52	10.09
5	CAMPLONG	38,486	8	30	38	9	34	43	11.17
6	TANJUNG	31,177	2	24	26	0	31	31	9.94
7	OMBEN	44,474	0	29	29	1	57	58	13.04
8	JRENGOAN	26,067	5	5	10	6	9	15	5.75
9	KEDUNGUNG	36,826	31	31	62	17	33	50	13.58
10	BANJAR	39,134	1	3	4	1	3	4	1.02
11	JRENGIK	33,884	0	32	32	0	29	29	8.56
12	TAMBELANGAN	41,772	4	22	26	2	24	26	6.22
13	BANYUATES	35,753	0	0	0	1	11	12	3.36
14	BRINGKONING	31,959	2	9	11	0	11	11	3.44
15	ROBATAL	40,558	1	12	13	1	16	17	4.19
16	KR. PENANG	58,571	10	44	54	5	66	71	12.12
17	BATULENGER	38,061	1	20	21	1	21	22	5.78
18	TAMBERU BRT	33,068	0	1	1	0	11	11	3.33
19	KETAPANG	42,439	1	7	8	4	48	52	12.25
20	BUNTEN BARAT	30,738	3	37	40	1	37	38	12.36
	TOTAL	782,033	93	424	517	63	578	641	8.20

Lampiran 2 :

Lembar Pengumpulan Data

No. Penelitian :	/	/2005	Tanggal :
------------------	---	-------	-----------	-------

Identitas :

Nama : Umur : Tahun
 Tempat Lahir : Suku :
 Alamat : Jenis Kelamin : I/P
 Pendidikan : 1. Tamat SD Pekerjaan :
 2. Tamat SMP
 3. Tamat SMA
 4. Tamat Universitas

Anamnesis :

1. Punya hubungan apa dengan penderita kusta ?
 - a. Istri/suami
 - b. Orang tua
 - c. Anak
 - d. Lain-lain ,.....
2. Berapa lama tinggal dengan penderita kusta ?
 - a. < 1 tahun
 - b. ≥ 1 tahun
3. Hasil pemeriksaan BTA :
4. Hasil Pemeriksaan PCR :

Peneliti

Agus Mulyadi

Lampiran 3 :

Penjelasan dan Informasi Penelitian

(Inform for informed consent)

Penyakit kusta adalah penyakit kulit biasa yang tidak perlu ditakuti, apabila diobati secara teratur akan sembuh.

Pada penelitian ini, akan melibatkan keluarga atau teman yang satu rumah dengan penderita kusta selama lebih kurang 1 tahun atau disebut dengan narakontak. Pada setiap narakontak akan diperiksa dan diambil apusan mukosa hidung dari sisi dalam hidung dengan cara mengusapnya dengan cotton swab dan selanjutnya akan diperiksa di laboratorium.

Data yang menyangkut narakontak akan menjadi rahasia dan hanya diketahui oleh dokter atau peneliti, dan diolah secara ilmiah.

Lampiran 4 : *INFORMED CONSENT***LEMBAR PERSETUJUAN**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama :

Alamat :

Umur/ Jenis Kelamin :tahun ;Laki-laki/perempuan

Hubungan dg Pasien : Istri/suami Orang tua

..... Anak Lain-lain

Dengan ini menyatakan bahwa secara sadar,tanpa paksaan bersedia :

1. Ikut berpartisipasi dalam penelitian dan akan mengikuti semua prosedur penelitian menyangkut pemeriksaan hapusan mukosa hidung untuk mengetahui adanya kuman *Mycobacterium leprae*
2. Setelah mendapat pemahaman tentang maksud dan tujuan penelitian berupa Pemeriksaan hapusan mukosa hidung, maka kami tidak keberatan dilakukan tindakan tersebut.
3. Demikian surat persetujuan ini dibuat dengan sesungguhnya dan kami bersedia menanggung segala resiko yang terjadi.

Sampang,

Yang memberi pernyataan

(.....)

	nosamp	type_kl	umur	sex	lama_kon	hub_kel	bta	pcr
51	XII.3	MB	10 - < 20 T	perempuan	1-3 tahu	kakak/adik	negatif	negatif
52	XII.4	MB	10 - < 20 T	laki-laki	1-3 tahu	kakak/adik	negatif	positif
53	XIII.1	PB	20 - < 30 T	perempuan	>3 tahun	paman/bibi	negatif	negatif
54	XIV.1	MB	> = 50 TH	laki-laki	1-3 tahu	ayah/ibu	negatif	positif
55	XIV.2	MB	40 - < 50 T	perempuan	1-3 tahu	ayah/ibu	negatif	negatif
56	XV.1	MB	> = 50 TH	perempuan	1-3 tahu	ayah/ibu	negatif	negatif
57	XV.2	MB	10 - < 20 T	perempuan	1-3 tahu	sepupu/ponakan	negatif	negatif
58	XVI.1	MB	40 - < 50 T	laki-laki	>3 tahun	ayah/ibu	negatif	negatif
59	XVI.2	MB	30 - < 40 T	perempuan	>3 tahun	ayah/ibu	negatif	negatif
60	XVI.3	MB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	positif
61	XVI.4	MB	40 - < 50 T	perempuan	>3 tahun	paman/bibi	negatif	negatif
62	XVI.5	MB	0 - < 10 TH	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
63	XVI.6	MB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
64	XVII.1	MB	40 - < 50 T	laki-laki	1-3 tahu	ayah/ibu	negatif	negatif
65	XVII.2	MB	20 - < 30 T	laki-laki	1-3 tahu	kakak/adik	negatif	negatif
66	XVII.3	MB	40 - < 50 T	perempuan	1-3 tahu	ayah/ibu	negatif	negatif
67	XVIII.	PB	30 - < 40 T	perempuan	1-3 tahu	anak	negatif	negatif
68	XVIII.	PB	40 - < 50 T	perempuan	1-3 tahu	anak	negatif	negatif
69	XVIII.	PB	> = 50 TH	laki-laki	1-3 tahu	sepupu/ponakan	negatif	negatif

	nosamp	type_kl	umur	sex	lama_kon	hub_kel	bta	pcr
26	VI.3	PB	10 - < 20 T	perempuan	1-3 tahu	kakak/adik	negatif	negatif
27	VI.4	PB	20 - < 30 T	perempuan	1-3 tahu	kakak/adik	negatif	negatif
28	VI.5	PB	40 - < 50 T	perempuan	1-3 tahu	ayah/ibu	negatif	negatif
29	VI.6	PB	> = 50 TH	perempuan	1-3 tahu	kakek/nenek	negatif	negatif
30	VI.7	PB	10 - < 20 T	perempuan	1-3 tahu	kakak/adik	negatif	negatif
31	VII.1	PB	30 - < 40 T	laki-laki	>3 tahun	ayah/ibu	negatif	negatif
32	VII.2	PB	30 - < 40 T	perempuan	>3 tahun	ayah/ibu	negatif	negatif
33	VII.3	PB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	positif
34	VII.4	PB	> = 50 TH	laki-laki	>3 tahun	kakek/nenek	negatif	negatif
35	VII.5	PB	> = 50 TH	perempuan	>3 tahun	kakek/nenek	negatif	negatif
36	VIII.1	PB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	anak	negatif	negatif
37	VIII.2	PB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	sepupu/ponakan	negatif	negatif
38	VIII.3	PB	10 - < 20 T	laki-laki	>3 tahun	sepupu/ponakan	negatif	positif
39	VIII.4	PB	0 - < 10 TH	laki-laki	>3 tahun	cucu/cicit	negatif	negatif
40	IX.1	MB	10 - < 20 T	laki-laki	1-3 tahu	anak	negatif	negatif
41	IX.2	MB	> = 50 TH	perempuan	1-3 tahu	ayah/ibu	negatif	positif
42	X.1	MB	10 - < 20 T	laki-laki	1-3 tahu	kakak/adik	negatif	negatif
43	X.2	MB	10 - < 20 T	laki-laki	1-3 tahu	kakak/adik	negatif	negatif
44	X.3	MB	10 - < 20 T	laki-laki	1-3 tahu	sepupu/ponakan	negatif	negatif
45	XI.1	MB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
46	XI.2	MB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
47	XI.3	MB	30 - < 40 T	perempuan	>3 tahun	ayah/ibu	negatif	negatif
48	XI.4	MB	30 - < 40 T	laki-laki	>3 tahun	ayah/ibu	negatif	negatif
49	XII.1	MB	> = 50 TH	perempuan	1-3 tahu	kakek/nenek	negatif	negatif
50	XII.2	MB	10 - < 20 T	laki-laki	1-3 tahu	kakak/adik	negatif	negatif

	nosamp	type_kl	umur	sex	lama_kon	hub_kel	bta	pcr
1	x sssx	PB	40 - < 50 T	laki-laki	>3 tahun	ayah/ibu	negatif	negatif
2	I.2	PB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
3	I.3	PB	> = 50 TH	perempuan	>3 tahun	paman/bibi	negatif	negatif
4	I.4	PB	10 - < 20 T	laki-laki	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
5	I.5	PB	0 - < 10 TH	laki-laki	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
6	II.1	MB	20 - < 30 T	laki-laki	>3 tahun	cucu/cicit	negatif	negatif
7	II.2	MB	40 - < 50 T	perempuan	>3 tahun	anak	negatif	negatif
8	II.3	MB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	cucu/cicit	negatif	negatif
9	II.4	MB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	cucu/cicit	negatif	negatif
10	II.5	MB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	anak	negatif	negatif
11	III.1	PB	> = 50 TH	perempuan	>3 tahun	paman/bibi	negatif	negatif
12	III.2	PB	40 - < 50 T	perempuan	>3 tahun	ayah/ibu	negatif	negatif
13	III.3	PB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	sepupu/ponakan	negatif	negatif
14	III.4	PB	10 - < 20 T	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
15	IV.1	PB	> = 50 TH	laki-laki	>3 tahun	kakek/nenek	negatif	negatif
16	IV.2	PB	> = 50 TH	perempuan	>3 tahun	kakek/nenek	negatif	negatif
17	IV.3	PB	0 - < 10 TH	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
18	IV.4	PB	10 - < 20 T	laki-laki	>3 tahun	sepupu/ponakan	negatif	negatif
19	V.1	MB	10 - < 20 T	laki-laki	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
20	V.2	MB	> = 50 TH	perempuan	>3 tahun	ayah/ibu	negatif	negatif
21	V.3	MB	30 - < 40 T	laki-laki	>3 tahun	sepupu/ponakan	negatif	negatif
22	V.4	MB	30 - < 40 T	laki-laki	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
23	V.5	MB	0 - < 10 TH	perempuan	>3 tahun	kakak/adik	negatif	negatif
24	VI.1	PB	40 - < 50 T	laki-laki	1-3 tahu	paman/bibi	negatif	negatif
25	VI.2	PB	> = 50 TH	perempuan	1-3 tahu	kakek/nenek	negatif	negatif

TYPE_KL * PCR Crosstabulation

			PCR		Total
			negatif	positif	
TYPE_KL	MB	Count	32	4	36
		% within TYPE_KL	88.9%	11.1%	100.0%
		% within PCR	50.8%	66.7%	52.2%
	PB	Count	31	2	33
		% within TYPE_KL	93.9%	6.1%	100.0%
		% within PCR	49.2%	33.3%	47.8%
Total		Count	63	6	69
		% within TYPE_KL	91.3%	8.7%	100.0%
		% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.553 ^b	1	.457		
Continuity Correction ^a	.100	1	.752		
Likelihood Ratio	.565	1	.452		
Fisher's Exact Test				.675	.379
Linear-by-Linear Association	.545	1	.460		
N of Valid Cases	69				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.87.

TYPE_KL * PCR Crosstabulation

			PCR		Total
			negatif	positif	
TYPE_KL	MB	Count	32	4	36
		% within TYPE_KL	88.9%	11.1%	100.0%
		% within PCR	50.8%	66.7%	52.2%
	PB	Count	31	2	33
		% within TYPE_KL	93.9%	6.1%	100.0%
		% within PCR	49.2%	33.3%	47.8%
Total		Count	63	6	69
		% within TYPE_KL	91.3%	8.7%	100.0%
		% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%

UMUR * PCR Crosstabulation

			PCR		Total
			negatif	positif	
UMUR	0 - < 10 TH	Count	5		5
		% within UMUR	100.0%		100.0%
		% within PCR	7.9%		7.2%
	10 - < 20 TH	Count	23	4	27
		% within UMUR	85.2%	14.8%	100.0%
		% within PCR	36.5%	66.7%	39.1%
	20 - < 30 TH	Count	4		4
		% within UMUR	100.0%		100.0%
		% within PCR	6.3%		5.8%
	30 - < 40 TH	Count	8		8
		% within UMUR	100.0%		100.0%
		% within PCR	12.7%		11.6%
	40 - < 50 TH	Count	11		11
		% within UMUR	100.0%		100.0%
		% within PCR	17.5%		15.9%
	> = 50 TH	Count	12	2	14
		% within UMUR	85.7%	14.3%	100.0%
		% within PCR	19.0%	33.3%	20.3%
Total		Count	63	6	69
		% within UMUR	91.3%	8.7%	100.0%
		% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%

HUB_KEL * PCR Crosstabulation

			PCR		Total
			negatif	positif	
HUB_KEL	ayah/ibu	Count	14	2	16
		% within HUB_KEL	87.5%	12.5%	100.0%
		% within PCR	22.2%	33.3%	23.2%
anak	anak	Count	6		6
		% within HUB_KEL	100.0%		100.0%
		% within PCR	9.5%		8.7%
kakak/adik	kakak/adik	Count	20	3	23
		% within HUB_KEL	87.0%	13.0%	100.0%
		% within PCR	31.7%	50.0%	33.3%
kakek/nenek	kakek/nenek	Count	7		7
		% within HUB_KEL	100.0%		100.0%
		% within PCR	11.1%		10.1%
paman/bibi	paman/bibi	Count	5		5
		% within HUB_KEL	100.0%		100.0%
		% within PCR	7.9%		7.2%
sepupu/ponakan	sepupu/ponakan	Count	7	1	8
		% within HUB_KEL	87.5%	12.5%	100.0%
		% within PCR	11.1%	16.7%	11.6%
cucu/cicit	cucu/cicit	Count	4		4
		% within HUB_KEL	100.0%		100.0%
		% within PCR	6.3%		5.8%
Total	Total	Count	63	6	69
		% within HUB_KEL	91.3%	8.7%	100.0%
		% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%

LAMA_KON * PCR Crosstabulation

			PCR		Total
			negatif	positif	
LAMA_KON	1-3 tahun	Count	23	3	26
		% within LAMA_KON	88.5%	11.5%	100.0%
		% within PCR	36.5%	50.0%	37.7%
	>3 tahun	Count	40	3	43
		% within LAMA_KON	93.0%	7.0%	100.0%
		% within PCR	63.5%	50.0%	62.3%
Total	Count	63	6	69	
	% within LAMA_KON	91.3%	8.7%	100.0%	
	% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%	

SEX * PCR Crosstabulation

			PCR		Total
			negatif	positif	
SEX	laki-laki	Count	23	3	26
		% within SEX	88.5%	11.5%	100.0%
		% within PCR	36.5%	50.0%	37.7%
	perempuan	Count	40	3	43
		% within SEX	93.0%	7.0%	100.0%
		% within PCR	63.5%	50.0%	62.3%
Total	Count	63	6	69	
	% within SEX	91.3%	8.7%	100.0%	
	% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%	

PCR Work Sheet

Date: 16/Jan/2005

Sample: Sampung with sume.

No of sample: 30

Neg. control: 1

Pos. control: 1

Extra: 2

Total: 34

Machine: TaKaRa Dice/BioRad

PCR Mixture:

65KD C/D

	Volume/tube	Total No.	Total volume
Distilled water	6.2ul	34	210.8
2xPremix G	10ul	34	340.6
Taq	0.2ul	34	6.8
Primer C(5uM)	0.8ul	34	27.2
Primer D(6uM)	0.8ul	34	27.2
Subtotal	18ul		612
Template	2.0ul		
Total volume	20ul		

1)	94°C	4 min	1X
2)	94°C	30 sec	43 45x
	58 56°C	30 sec	
	72°C	30 sec	
3)	72°C	7 min	1X
	4°C	∞	

PCR Result Recording Sheet

Date: 16 Juni 2005

Sample: Sampang N. Surabaya

Lane no.	Sample no.	Result
1	VI. 7.	-
2	VII. 1	-
3	VII. 2	-
4	VII. 3	+
5	VII. 4	-
6	VII. 5	-
7	VIII. 1	-
8	VIII. 2	-
9	VIII. 3	+
10	VIII. 4	-
11	IX. 1	-
12	IX. 2	+
13	X. 1	-
14	X. 2	-
15	X. 3	-
16	XI. 1	-
17	100 bp ladder	

Lane no.	Sample no.	Result
1	100 bp ladder	-
2	XI. 2	-
3	XI. 3	-
4	XI. 4	-
5	XII. 2	-
6	XVI. 3	+
7	XVI. 4	-
8	XVI. 5	-
9	XVI. 6	-
10	XVII. 1	-
11	XVII. 2	-
12	XVII. 3	-
13	XVIII. 1	-
14	XVIII. 2	-
15	XVIII. 3	-
16	HL	-
17	PL	+

PCR mix : Failsafe G Mix

Primers : C/P

Gel : 2.5% TBE

Length :

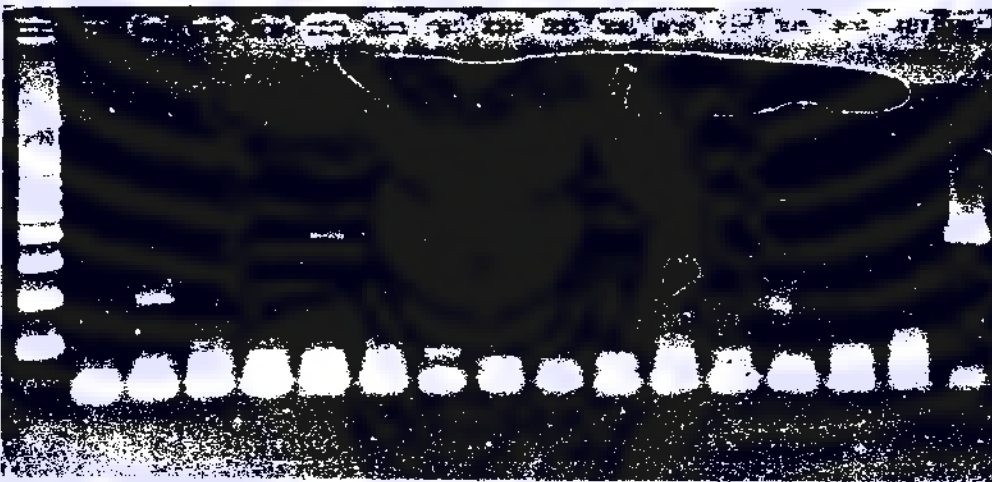
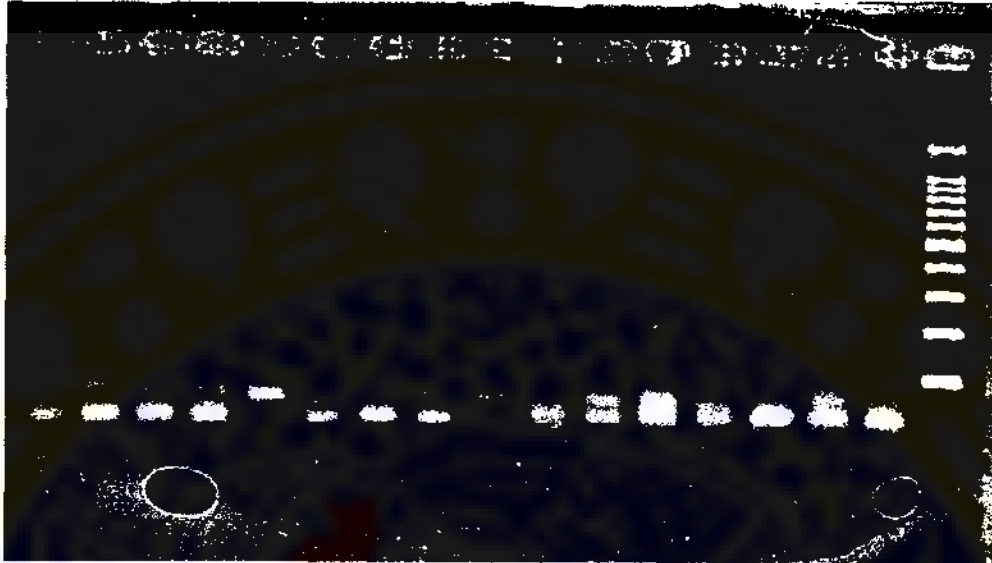
Electrophoresis picture :



June 16, 2005

Primer : C-D

Sample : Sampang Nose Swab (VI.7-XVIII.3)



PCR Work Sheet

Date: 13 / 06 / 2005

Sample:

Sampung hoze' SW26

No of sample: 30 → 29

Neg. control: 1

Pos. control: 1

Extra: 1

Total: 33

Machine: TaKaRa Dice/BioRad

PCR Mixture:

65KD C/D

	Volume/tube	Total No.	Total volume
Distilled water	6.2ul	33	204,6
2xPremix G	10ul	33	330
Taq	0.2ul	33	6,6
Primer C(5uM)	0.8ul	33	26,4
Primer D(6uM)	0.8ul	33	26,4
Subtotal	18ul	33	594
Template	2.0ul		
Total volume	20ul		

1)	94°C	4 min	1X
2)	94°C	30 sec	45x
	59°C	30 sec	
	72°C	30 sec	
3)	72°C	7 min	1X
	4°C	∞	