

020

Volume 14, Nomor 1, Februari 2010

ISSN : 1411-3554

# INOTEK

*Jurnal*

INOVASI DAN APLIKASI TEKNOLOGI



25

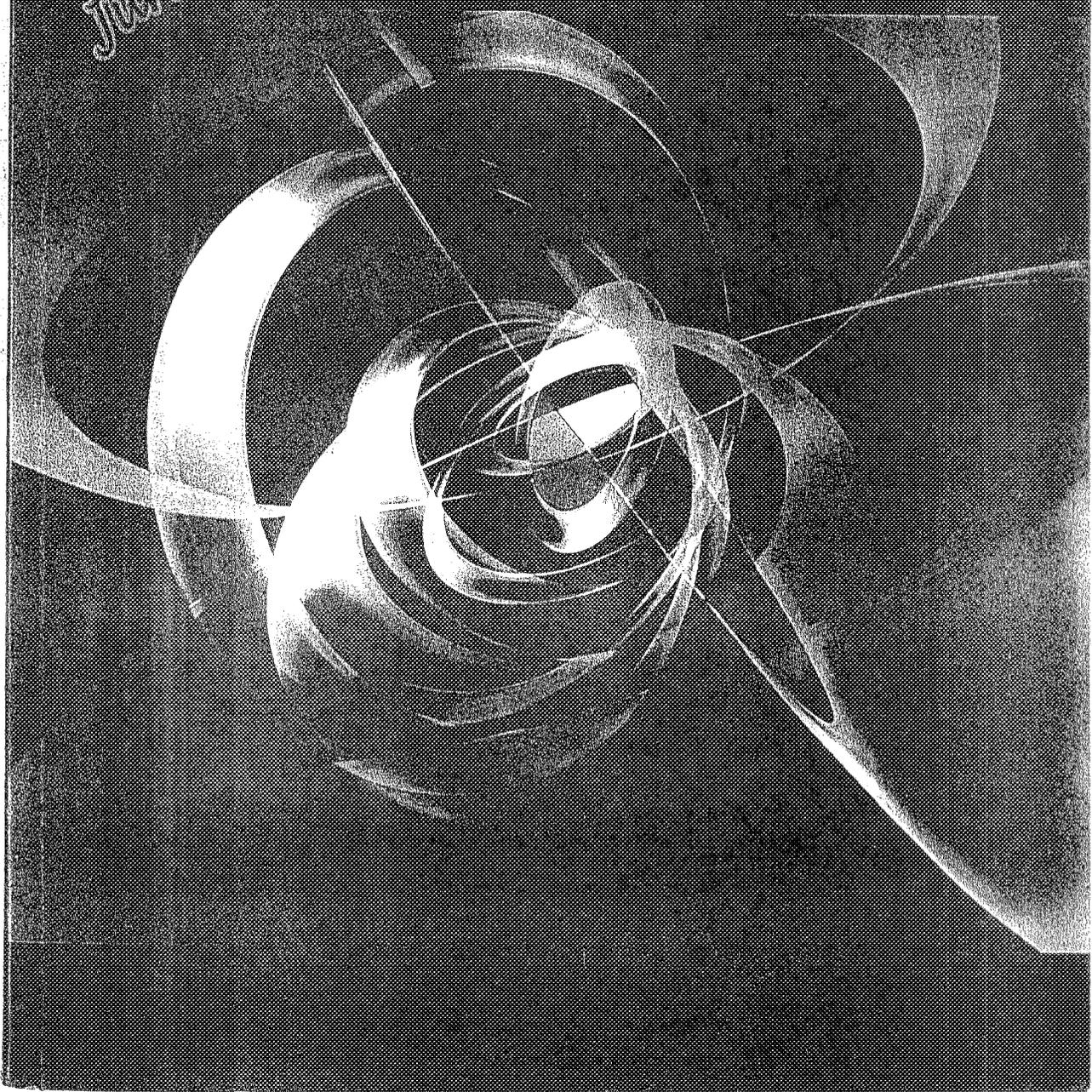
Volume 14, Nomor 1, Februari 2010

ISSN : 1411-3554

# INOTEK

*Jurnal*

INOVASI DAN APLIKASI TEKNOLOGI



219

# INOTEK

Jurnal Inovasi dan Aplikasi Teknologi

Penerbit:  
Lembaga Pengabdian kepada Masyarakat (LPM) Universitas Negeri Yogyakarta (UNY)

Penanggung Jawab : Prof. Dr. Burhan Nurgiyantoro

Redaksi  
Ketua : Dr. Djumadi  
Sekretaris : Darmono, M.T.  
Anggota : Prof. Pardjono, Ph.D.  
Dr. Ahmad Dardiri  
Prof. Dr. Haryadi  
Dr. Muhsinatun Siasah  
Dr. Hari Amirulloh  
Sugirin, Ph.D.

Penyunting Ahli : Prof. Dr. Krishna Agung Santosa (UGM)  
Dr. Ir. Sutadi, M.App.Sc. (UGM)  
Dr. Drajat Tri Kartono (UNS)  
Dr. Bejo Suyanto (UNJ)  
Dr. Ir. Drajat Suharjo, S.U. (UII)  
Prof. HM. Sukardi, Ph.D. (UNY)

Desain Sampul : Martono, M.Pd.

Sekretariat : Dra. Muasih  
G. Heru Sutrisno, S.I.P.  
Tukiran, S.Pd.  
Prayoga, S.I.P.  
Ganjar Triyono, S.Pd.

Alamat Redaksi: LPM Universitas Negeri Yogyakarta, Karangmalang, Yogyakarta, 55281,  
Telp. (0274) 586168 psw. 233; (0274) 556790; Fax. (0274) 550838,  
e-mail: inotek\_uny@yahoo.com.

Jurnal *Inotek* terbit secara berkala dua kali setahun pada bulan Februari dan Agustus. Redaksi menerima artikel yang ditulis berdasarkan penelitian terapan dan pengabdian kepada masyarakat yang berkaitan dengan masalah inovasi dan aplikasi teknologi. Penulis yang artikelnya dimuat akan mendapat nomor bukti penerbitan sebanyak tiga eksemplar. Pemuatan suatu artikel tidak selalu mencerminkan sikap dan pendirian redaksi.

# INOTEK

## Jurnal Inovasi dan Aplikasi Teknologi

Volume 14, Nomor 1, Februari 2010

Yogyakarta (UNY)

### DAFTAR ISI

- |   |         |
|---|---------|
| ▪ Daftar Isi .....  | i       |
| ▪ Model Pembelajaran melalui Media <i>Schlangeleiterspiel</i> untuk Peningkatan Kemampuan Berbicara Guru Bahasa Jerman di Malang .....  | 1 - 10  |
| <i>M. Kharis</i>  |         |
| ▪ Rancang Bangun Mesin Pengaduk Adonan Bahan Dodol Batang dan Buah Pepaya untuk Meningkatkan Kapasitas Produksi Industri Kecil di Pedesaan .....  | 11 - 24 |
| <i>Tiwan</i>  |         |
| ▪ Magang Kewirausahaan <i>Finishing</i> Keramik bagi Mahasiswa Program Studi Pendidikan Seni Kerajinan .....  | 25 - 32 |
| <i>Darumoyo Dewojati dan Kasiyan</i>  |         |
| ▪ Membuka Peluang Bisnis Olahraga Kebugaran ( <i>Fitness</i> dan <i>Senam</i> ) dalam Mengembangkan Program Industri Olahraga melalui Program Kuliah Kewirausahaan .....                  | 33 - 45 |
| <i>Ch. Fajar Sriwahyuniati, Endang Rini S., Agung Nugroho AM., dan Faidillah Kurniawan</i>  |         |
| ▪ Pelatihan Penggunaan Internet sebagai Media Penelusuran Sumber Pustaka bagi Guru-guru Pendidikan Kewarganegaraan Se-Kota Yogyakarta .....   | 46 - 54 |
| <i>Mukhamad Murdiono</i>  |         |
| ▪ Pelatihan Pengolahan Bekatul sebagai Makanan Fungsional dalam Pembuatan Aneka Makanan di Kelurahan Wedomartani Kecamatan Ngemplak Sleman Yogyakarta .....                               | 55 - 65 |
| <i>Rizqie Auliana</i>   |         |
| ▪ Introduksi Teknologi Pengolahan Hijauan Pakan dan Limbah Sapi sebagai Suatu Sistem Usaha Pertanian Terpadu di Tepian Daerah Aliran Sungai (DAS) Progo Kecamatan Lendah Kulonprogo ..... | 66 - 71 |
| <i>Setyo Utomo dan Nur Rasminati</i>  |         |

Yogyakarta, 55281,  
(0274) 550838,

ruai, dan Agustus.  
an dan pengabdian  
i teknologi. Penulis  
yak tiga eksemplar.  
redaksi.

- Pelatihan Penyusunan Model Pembelajaran Renang Berbasis Nilai-nilai Moral Religius bagi Mahasiswa FIK UNY ..... 72 - 85  
*Sismadiyanto, Ermawan Susanto, dan Subagyo*
  
- Teknologi Pengolahan dan Pengawetan Jahe sebagai Keterampilan Guru SMK dalam Upaya Mengembangkan Kewirausahaan Sekolah ..... 86 - 94  
*Yuriani*
  
- Pengendalian dan Peningkatan Kualitas Hidup Penderita Lepra Berbasis Teknologi Molekuler di Unit Uji *Tropical Disease Diagnostic Centre* Universitas Airlangga ..... 95 - 109  
*Bimo Aksono*

y, dkk., 1992.  
ribisnis. Penerbit  
rta  
tah Kabupaten

**PENGENDALIAN DAN PENINGKATAN KUALITAS HIDUP  
PENDERITA LEPRO BERBASIS TEKNOLOGI MOLEKULER  
DI UNIT UJI TROPICAL DISEASE DIAGNOSTIC CENTRE  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Oleh: Bimo Aksono  
Universitas Airlangga

**Abstract**

The aim of community service activities through a U-UJI TDDC will be conducted strain mapping *M. leprae* (genetic mapping) and TTC-based mapping region mutation patterns of drug rifampin *rpoB* gene-based regions. The benefits of this activity is an increase in quality of life for the leprosy both socially and economically because of the application of molecular technology could help early detection of regional-based Variable Number Tandem Repeat (VNTR) of the TTC and rifampin-resistant gene (*rpoB* gene) and is expected to occur later therapeutic action will accelerate the decline in the incidence and cure the patient.

Materials in this study isolates *M. leprae* from skin incision swabs, nasal mucosa and skin lesions biopisi of leprosy who come from a few enclaves leprosy in Sumberaji-Lamongan District. Criteria for patient sample is still relatively new or are in treatment. Based on these criteria finally set 17 sample patients, whether included Pseudobasiler type (1 sample) and Multibasiler (16 samples). The method used is a nested PCR using specific primers from the region of the TTC, LP and *rpoB*. The results of nucleotide sequencing of both the sequence of the region of TTC, LP and *rpoB* region using GENETIX Mac software ver. 9.0.

Community service activities based on the application of molecular technology by U-Uji TDDC, Airlangga University in endemic areas, especially infectious diseases in leprosy Sumberaji Lamongan District, from the results of PCR and nucleotide sequence analysis of a sample selected patients indicates that the bacteria *M. leprae* in Sumberaji consists of three strains of *M. leprae* based on TTC-15, TTC-23 and TTC-28, while the analysis of the *rpoB* region of the mutation was not found either in CAG513-Gln, GAT516-Asp, CAC526-His, and TCG531-Ser-Leu CTG533, this indicates that the isolates of *M. leprae* found in the leprosy in Sumberaji Lamongan district are sensitive to rifampin treatment. The results of this mapping can be used as a reference that rifampin treatment can be used for therapy MDT on leprosy in Sumberaji Lamongan district.

**Keywords :** *Leprosy, TTC region, LP region, and rpoB region, PCR*

## A. PENDAHULUAN

### 1. Analisis Situasi

Meskipun secara nasional Indonesia sudah mencapai eliminasi, namun demikian sampai akhir tahun 2003 masih terdapat 12 propinsi di Indonesia yang angka prevalensinya di atas target eliminasi. Menurut Depkes (2004) ke dua belas propinsi di Indonesia yang masih merupakan daerah endemik penyakit kusta terutama menyebar di Kawasan Indonesia Timur. Daerah endemik kusta tersebut adalah terdiri dari propinsi Papua, Maluku Utara, Maluku, DKI Jakarta, Sulawesi Selatan, Sulawesi Utara, Nanggroe Aceh Darussalam, Gorontalo, Jawa Timur, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara dan Nusa Tenggara Timur. Ke dua belas propinsi ini mempunyai jumlah penderita terdaftar 11.373 (62%) dari 18.312 kasus yang terdaftar akhir tahun 2003. PR di daerah endemik ini berkisar 1,0 dan 5,6 per 10.000 penduduk.

Propinsi Jawa Timur sendiri menempati urutan ke delapan dimana hingga pertengahan tahun 2004, angka prevalensi kusta di Propinsi Jawa Timur sebesar 1,39 per 10.000 penduduk yang menyebar pada 38 kabupaten/kota dengan jumlah penderita terdaftar sebanyak 4.298 penderita. Dari seluruh kabupaten/kota tersebut Kabupaten Sampang menduduki urutan pertama prevalensi kusta yaitu 6,41, kemudian diikuti Sumenep 6,29, Pamekasan 4,01, Lamongan 3,94 dan Tuban 3,54 per 10.000 penduduk (Dinkes Jatim, 2004).

Selama dekade terakhir pemberantasan kusta di Jawa Timur pada umumnya telah berhasil menurunkan prevalensi kusta, namun insidens kusta baru tetap bertahan terutama di daerah endemis (daerah kantong) walaupun kasus aktif sebagai sumber infeksi telah diobati. Kondisi ini mungkin disebabkan antara lain karena: (1) adanya *backlog case*, yakni adanya kasus yang tidak terdeteksi dan tidak mendapat terapi; (2) adanya infeksi subklinis yang tidak terdeteksi pada populasi; (3) adanya kasus mutasi; (4) kemungkinan adanya sumber penularan/*reservoir* di luar manusia, yang menyebabkan kontrol, eliminasi dan eradikasi kusta pada manusia menjadi sulit (Noordeen, 1994); (5) lingkungan yang tidak sehat. Hal ini bukan berarti program tidak berjalan dengan baik namun dapat pula karena kemungkinan kedua yakni fenomena kasus kusta sub klinik dan mutasi (Agusni, 2003).

Sampai saat ini diagnosis penyakit kusta masih berdasarkan prinsip yang digunakan sejak beberapa abad yang lalu, yaitu pemeriksaan klinis, adanya Basil Tahan Asam (BTA) pada hapusan sayatan kulit dan pemeriksaan histopatologi yang sifatnya subjektif. Pemeriksaan penunjang lainnya seperti biakan pada media artificial, inokulasi pada binatang coba dan tes serologi sampai saat ini belum terbukti memberi hasil yang memuaskan dalam mendeteksi *M. leprae* pada penderita kusta (Carston, 2001 dan Chae *et al.* 2002). Pada dasawarsa ter-

terakhir pembawa Timur pada hasil menurunkan insidens kusta terutama di daerah kantong) walaupun sebagai sumber infeksi. Kondisi ini mungkin karena: (1) adanya infeksi terdeteksi dan tidak terdeteksi pada kasus mutasi; (4) sebagai sumber penularan manusia, yang eliminasi dan eradikasi menjadi sulit; (5) lingkungan alamiah bukan berarti jalinan dengan baik karena kemungkinan fenomena kasus mutasi (Agusni,

ini diagnosis perlu berdasarkan pemeriksaan sejak beberapa tahun pemeriksaan klinis Asam (BTA) dan pemetaan kulit dan pemetaan yang sifatnya penunjang lain pada media arpa pada binatang coba sampai saat ini belum has yang memuaskan. *M. leprae* pada Carston, 2001 dan Pada dasawarsa ter-

akhir, ilmu biologi molekuler telah dipergunakan untuk mendeteksi basil *M. leprae*, diantaranya adalah dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan suatu cara *in vitro* untuk memperbanyak DNA suatu organisme dengan menggunakan enzim polimerase yang diarahkan oleh potongan urutan DNA yang spesifik bagi DNA organisme tersebut (Brown, 2002).

Informasi yang cepat tentang strain dan kepekaan suatu obat merupakan hal yang terpenting sebagai upaya pengobatan terhadap suatu individu terutama penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium* dengan menggunakan rifampin. Oleh karena itu dari kegiatan pengabdian kepada masyarakat melalui unit UJI TDDC ini akan dilakukan pemetaan strain *M. leprae* (*genetic mapping*) berbasis regio TTC dan pemetaan pola mutasi terhadap obat rifampin berbasis regio gen *rpoB*.

Manfaat kegiatan ini adalah adanya peningkatan kualitas hidup penderita lepra baik secara sosial maupun ekonomi karena aplikasi teknologi molekuler dapat membantu deteksi dini berbasis daerah *Variable Number Tandem Repeat* (VNTR) yaitu daerah TTC dan gen resisten rifampin (*rpoB* gen) sekaligus diharapkan terjadi tindakan terapi yang nantinya akan mempercepat penurunan angka kejadian dan kesembuhan penderita.

## 2. Tinjauan Pustaka

Tahun 1970-an Rifampin diperkenalkan pertama kali dan merupakan

pilihan pengobatan yang paling penting sebagai pengobatan penyakit lepra (Musser, 1995). Penelitian dengan menggunakan *Escherichia coli*, memperlihatkan bahwa mekanisme molekuler dari aktivitas rifampin dipengaruhi oleh *DNA-dependent RNA polymerase* yang selanjutnya dikenal sebagai gen *rpoB*. Gen *rpoB* tersebut telah dapat diidentifikasi, terdiri atas 306 pasangan basa dengan menggunakan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) (Gale *et al*, 1981; Ovchinnikov *et al*, 1983; Kapur *et al* 1994). Enzim ini merupakan suatu senyawa oligomer yang kompleks terdiri atas beberapa subunit antara lain  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta^1$ ,  $\delta$  yang dikode oleh gen *rpoA*, *rpoB*, *rpoC* dan *rpoD*. Dimana sebagai inti enzim adalah  $\alpha_2\beta\beta^1$  atau sebagai holoenzim adalah  $\alpha_2\beta\beta^1\delta$ . Di mana rifampin kemudian akan berikatan dengan subunit  $\beta$  dari *RNA polymerase E. coli* sehingga terjadilah proses penghambatan proses transkripsi dari bakteri (McClare dan Chech, 1978).

Kapur *et al* (1994) melaporkan bahwa DNA dari daerah *gen rpoB* telah dapat diidentifikasi sejumlah 306 pasangan basa dengan menggunakan teknik PCR, apabila dilanjutkan dengan teknik sekuensing terlihat bahwa terdapat beberapa urutan nukleotida yang mengalami mutasi yang kemudian dikaitkan dengan kejadian resisten dari strain kuman *Mycobacterium leprae*.

Penelitian genetik terhadap strain *E. coli* yang resisten terhadap rifampin pertama kali dilakukan pada tahun 1980-an, yaitu dikaitkan de-

ngan adanya *missence mutation* dan *short deletion* di daerah gen *rpoB* (Ovchinnikov *et al.*, 1983). Beberapa tahun kemudian, Jin dan Gross (1988) melaporkan bahwa terjadi mutasi pada 17 nukleotida yang mempengaruhi ekspresi 14 asam amino dari *subunit  $\beta$  RNA polymerase E. coli* yang diduga berperan dalam timbulnya kasus resistensi.

Honore *et al.* (1993) serta Honore dan Cole (1993) melaporkan bahwa strain mutan dari *M. leprae* diketahui meningkat pada penderita yang menerima pengobatan tunggal rifampin. *Missence mutation* yang terjadi pada Ser-425 pada *M. leprae* (analog dengan Ser-531 pada *M. tuberculosis*), teridentifikasi bahwa terdapat delapan sampel dari sembilan sampel yang mengalami insersi sejumlah enam pasangan basa di daerah yang sama tersebut, sedangkan di daerah His-526 dimana sering terjadi mutasi pada *M. TBC* ternyata tidak ada perubahan pada *M. leprae*.

Penelitian dan pengabdian kepada masyarakat yang sudah dan sedang dikerjakan oleh kelompok studi lepra di Unit Uji TDDC Unair antara lain di Jawa Timur khususnya Sumenep, Pamekasan, Sampang dan beberapa daerah lain di seluruh Indonesia

Potongan gen yang dapat diamplifikasi dan spesifik terhadap basil *M. leprae* bisa bermacam-macam, seperti daerah 18kDa, 36 kDa, 65 kDa yang merupakan protein penyusun dinding sel basil *M. leprae* (Katoch and Sharma, 2000). Beberapa peneliti telah melaporkan keberhasilan meng-

gunakan PCR untuk mendeteksi *M. leprae* secara spesifik dan sensitif pada berbagai macam sampel (biopsi lesi, hapusan mukosa hidung (*nasal swab*), hapusan sayatan lesi kulit (*slit skin smear*) dan darah. PCR mempunyai sensitifitas dan spesifitas yang hampir sempurna dalam mendeteksi *M. Leprae* yakni dapat mendeteksi 1-100 kuman (Santos, *et al.*, 1997). Keterbatasan uji diagnostik pada masa lalu, saat ini dapat diatasi dengan metode ini (Shin *et al.*, 2000 dan Young, 2003).

Kini telah berkembang lagi teknik biologi molekuler yang sangat pesat untuk mensekuens potongan DNA secara cepat untuk mengetahui genotipe suatu organisme serta kasus resistensi yang sering terjadi pada kasus lepra. Salah satu cara untuk mengetahui genotipe untuk organisme prokariotik atau eukariotik dapat dilakukan dengan metode *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR) yang bertujuan untuk mengetahui penyebaran suatu organisme berdasarkan pengulangansekuens nukleotidanya (van Balkum *et al.*, 2001; van Balkum, 2002 dan Zang *et al.*, 2005). Berdasarkan rekomendasi dari WHO, salah satu jenis pengobatan dalam program *multi-drug therapy* adalah rifampin, meskipun demikian pada beberapa penderita lepra kurang peka terhadap rifampin dan diduga adanya strain *M. lepra* yang resisten. Beberapa literatur menunjukkan bahwa target obat rifampin terletak pada *sub-unit beta* dari *DNA dependent RNA Polymerase*, yang selanjutnya diketahui sebagai *gen rpoB*,

256

yaitu suatu daerah DNA pada kuman *Mycobacterium leprae* sejumlah 306 pasangan basa yang kemudian disebut dengan gen *rpoB*, gen ini sering dikaitkan dengan penyebab kasus resistensi suatu strain *Mycobacterium leprae* terhadap rifampin. Adanya perubahan urutan nukleotida (*mutasi*) pada daerah tersebut dianggap bertanggung jawab terjadinya kasus resistensi (Williams *et al*, 1994; Honore dan Cole, 1993; Telenti *et al*, 1993 dan Levin *et al*, 1993). Informasi yang cepat tentang kepekaan suatu obat merupakan hal yang terpenting sebagai upaya pengobatan terhadap suatu individu terutama penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium* dengan menggunakan rifampin.

Dengan metode analisis sekuens baik pada regio TTC maupun *rpoB* gen ini akan diketahui dan sangat penting khususnya untuk mempelajari penyebaran atau epidemiologi kusta pada suatu daerah secara geografis serta kasus resistensi yang sering timbul berkaitan dengan program MDT (Matsuaka *et al.*, 2000; Calston *et al.*, 2001; Van Belkum., 2001; Chae *et al.*, 2002 dan Young 2003).

#### B. METODE PELAKSANAAN

Bahan pada penelitian ini isolat *M. leprae* dari apusan sayatan kulit, mukosa hidung dan biopsi dari lesi kulit penderita kusta yang didapat dari beberapa daerah kantong penderita kusta di Kabupaten Lamongan antara lain: kecamatan Brondong, kecamatan Sumberaji, kecamatan Dradah, Kecamatan Sekaran, Kecamatan Payaman,

Kecamatan Karangbinangun, Kecamatan Turi, kecamatan Babat, Kecamatan Karanggeneng.

Tempat pengambilan sampel di daerah endemik lepra di kecamatan Sumberaji, Kabupaten Lamongan. Tempat pengolahan/pemeriksaan sampel adalah di Laboratorium *Leprosy Study Group, Unit Uji Tropical Disease Diagnostic Center* (TDC) Unair.

Apusan sayatan kulit atau biopsi lesi kulit penderita lepra. Bahan ekstraksi terutama menggunakan kit roche Bahan untuk PCR meliputi primer TTC, *rpoB* dan LP (Takara Shuzo Co Ltd) dengan urutan nukleotida (Tabel IV.1), FailSafe PCR Enzim Mix (taq), 2 x Premix G, *template*, dan *distilled water*. Semua suspensi kuman dilakukan deteksi terhadap kuman *M. leprae* menggunakan metode *nested PCR* dengan mesin *PCR Thermal Cycler* dari PERKIN-ELMER. Bahan elektroforesis meliputi Bahan untuk elektroforesis adalah agarose powder HS 2%, TBE 0,9 (Takara Shuzo LTD, Japan), ethidium Bromide 1 µg/ml, loading buffer yang berisikan Glycerol 30%, EDTA 300 mM, bromphenol blue 0,03% dan Xylene cyanol 0,03%, dan marker ΦX 174-Hinc II digest. Bahan untuk sekuensing meliputi etanol 70% dan 95%, TBE, gel poliakrilamid, G/A sequencing premix, C/T sequencing premix, Enzim premix, Sodium Asetat dan Loading Dye.

Analisis hasil sekuensing. Hasil sekuensing berupa urutan nukleotida baik dari regio TTC, LP dan regio *rpoB* menggunakan *software* GENE-TIX Mac ver. 9.0.

29

Tabel 1. Perangkat Primer yang Digunakan untuk Menganalisis Regio Pengulangan TTC, Regio LP dan Regio rpoB

REGIO	URUTAN SEKUENS
TTC	TTC A : 5' -GGACCTAAACCATCCCGTTT-3' TTC B : 5' -CTACAGGGGGCACTTAGCTC-3' TTC F3 : 3'-TGGGCTCATACGACGTATC-3' TTC R3 : 5'-CCTATAATATAGCACGCCGA-3'
LP	LP 1 : 5'-TGCATGTCATGGCCTTGAGG-3' LP 2 : 5'-CACCGATAACCAGCGGCAGAA-3' LP F : 5'-TATCGATGCAGGCGTGAGTGT-3' LP R : 5'-CTAACACGATACTGCTGCAC-3'
rpoB	rpoB F : 5'-CAGGACGTCGAGGCGATCAC-3' rpoB R : 5'-CAGCGGTCAAGTATTCGATC-3'

## C. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Karakteristik Lingkungan

Lingkungan yang dijadikan sampel penderita penyakit lepra adalah Kecamatan Sumberaji. Karakteristik lingkungan terutama air hanya mengendalkantadah hujan, masyarakat umumnya petani dengan daerah pertanian yang kering dan tandus (kurang subur).

### 2. Kriteria Sampel

Kriteria sampel penderita adalah yang masih tergolong baru atau sedang dalam pengobatan. Berdasarkan kriteria tersebut akhirnya ditetapkan 17 sampel penderita, baik yang ter-

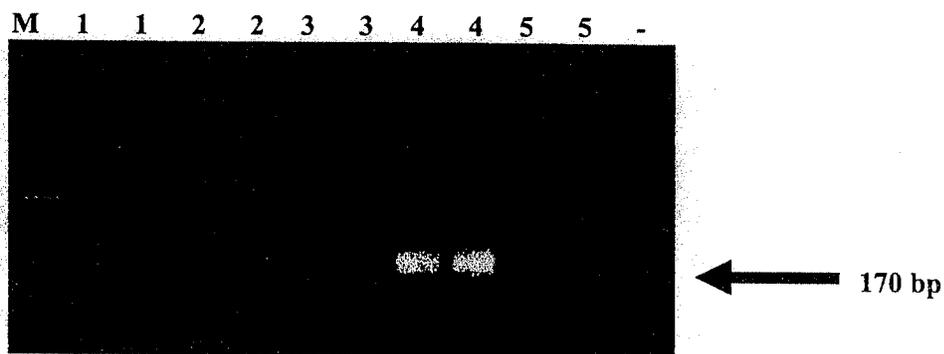
masuk tipe Pseudobasiler (1 sampel) maupun Multibasiler (16 sampel). Semua sampel penderita diambil apusan sayatan kulit dan biopsi dari lesi kulit kemudian dimasukkan dalam buffer, selanjutnya dibawa ke Leprosy-TDC Universitas Airlangga Surabaya.

### 3. Hasil PCR

PCR dilakukan dengan seperangkat enzim yang sangat spesifik untuk *M. Leprae*, meliputi regio pengulangan TTC (untuk melihat strain *M. leprae*), regio LP (primer spesifik *M. leprae*) dan regio rpoB (untuk melihat kasus resistensi rifampin).

Tabel. V.1 Hasil PCR Berbasis Regio Pengulangan TTC, LP dan rpoB untuk Penderita Lepra

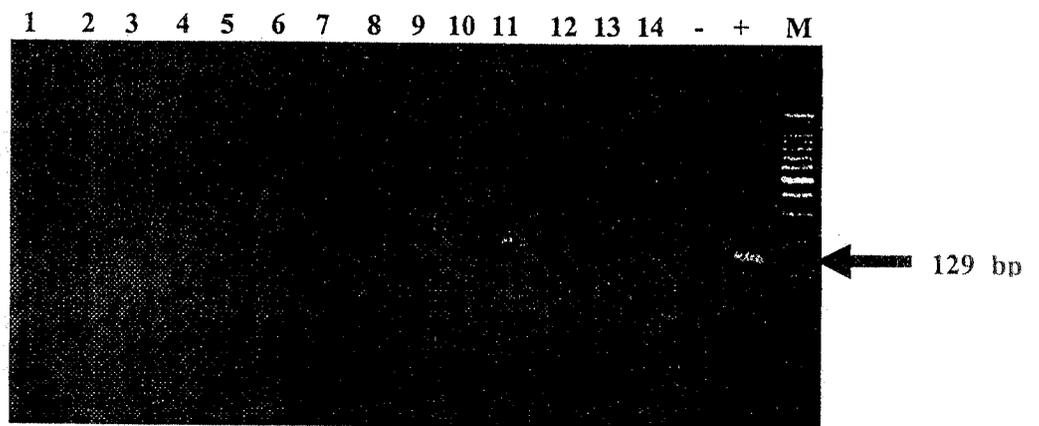
No.	Umur (Tahun)	Alamat	Hasil PCR		
			TTC	LP	rpoB
1.	60	Mbagel-Sumberagung	Negatif	Negatif	Negatif
2.	21	Menongo-Menongo	Negatif	Negatif	Negatif
3.	36	Menongo-Sukodadi	Negatif	Negatif	Negatif
4.	34	Jirekan-Balongtawun	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>
5.	8	Jirekan-Balongtawun	Negatif	Negatif	Negatif
6.	8	Jirekan-Balongtawun	Negatif	Negatif	Negatif
7.	52	Baturono-Baturono	Negatif	Negatif	Negatif
8.	55	Baturono-Baturono	<b>Positif</b>	Negatif	Negatif
9.	4	Menongo-Menongo	Negatif	Negatif	Negatif
10.	27	Tawun-Balongtawun	Negatif	Negatif	Negatif
11.	62	Bulak-Sumberaji	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>
12.	25	Bulak-Sumberaji	Negatif	Negatif	Negatif
13.	36	Besusul-Sumberaji	Negatif	Negatif	Negatif
14.	55	Padang-Sumberaji	Negatif	Negatif	Negatif
15.	45	Balan-Banjarrejo	Negatif	Negatif	Negatif
16.	15	Menaor-Banjarrejo	Negatif	Negatif	Negatif
17.	23	Gempol-Gedangan	Negatif	Negatif	Negatif



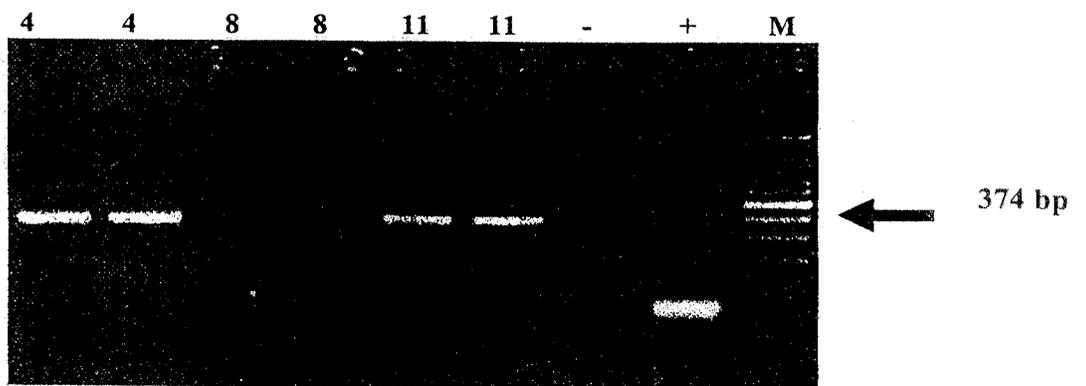
Gambar 1. Hasil PCR Berbasis Regio Pengulangan TTC Pada *M. Leprae* (170 bp)

1-5 : sampel; + : kontrol positif; - : Kontrol negatif; M : Marker  
 Agarose 3% TAE

259



Gambar 2. Hasil PCR Berbasis Regio LP Pada *M. Leprae* (129 bp); 1-14 : Sampel; + : kontrol positif; - : Kontrol negatif; M : Marker. Agarose 3%TAE



Gambar 3. Hasil PCR Berbasis Regio rpoB Pada *M. Leprae* (374 bp); 4, 8 dan 11 : sampel; + : kontrol positif; - : Kontrol negatif; M : Marker. Agarose 3% TAE





Pada kegiatan penentuan sampel, menggunakan penderita baru atau penderita yang sedang dalam pengobatan sebab diharapkan masih ditemukan kuman *M. Leprae* yang cukup aktif sehingga dapat diamati strain kuman berbasis regio pengulangan TTC dan kasus resistensi rifampin berbasis regio rpoB.

Adapun cara pengambilan sampel tidak menggunakan metode swab hidung karena dikuatirkan *M.leprae* yang ditemukan hasil infeksi baru dari lingkungan, sedangkan metode yang dipilih menggunakan biopsi atau smear dari cuping dan lesi kulit karena diharapkan *M. Leprae* yang ditemukan adalah kuman aktif yang sedang menginfeksi penderita.

Dari hasil analisis lingkungan terlihat bahwa umumnya masyarakat di Sumberaji adalah petani dan air yang digunakan untuk kebutuhan hidup sehari-hari menggunakan sumur serta sangat tergantung pada hujan (tadah hujan). Berdasarkan data penderita yang dimiliki oleh Puskesmas Sumberaji tahun 2007, ditetapkan 17 sampel sesuai dengan kriteria yang diharapkan yaitu penderita baru lepra dan penderita lepra aktif yang masih dalam pengobatan. Dari segi usia, sampel yang digunakan memiliki variasi yaitu 4 – 62 tahun sedangkan dari jenis kelamin terdiri dari 10 (58,82%) laki-laki dan 7 (41,18%) perempuan. Semua penderita umumnya memberikan gambaran adanya lesi kulit dan penebalan syaraf. Dilihat dari sumber kontak 15 (88,24 %) sampel tidak per-

nah berhubungan atau kontak dengan penderita secara langsung sedangkan 2 (11,76 %) sampel melakukan kontak dengan penderita lain karena ada anggota keluarga dalam rumah yang terinfeksi *M. leprae*. Dari gambaran klinis tipe penyakit lepra adalah multibasiler (MB) sejumlah 16 (94,12% ) kasus dan tipe Psudobasiler (PB) sejumlah 1 (5,88%) kasus.

Dari hasil PCR dengan primer spesifik lepra berbasis regio pengulangan TTC menunjukkan hanya 3 (17,65%) yang positif dari 17 penderita yaitu sampel no. 4, 8 dan 11. Dari hasil sekuensing nuklotida terhadap ketiga sampel tersebut ternyata semuanya berbeda strain yaitu *M leprae* strain berbasis TTC dengan pengulangan 28 untuk sampel no. 8, *M. leprae* strain berbasis TTC dengan pengulangan 23 untuk sampel no.4 dan *M. leprae* strain berbasis TTC dengan pengulangan 15 untuk sampel no. 11. Hasil ini berarti sama dengan hasil yang telah dilaporkan oleh Mudatsir (2006) di pulau Poteran, Sumenep kabupaten Madura yang menunjukkan bahwa kuman *M.leprae* memiliki variasi pengulangan TTC berkisar 10 hingga 60 kali. Menurut Enersen *et al* (2006) penyebaran strain atau tipe suatu mikroba berhubungan erat dengan letak geografis dari suatu daerah atau negara. Oleh karena Kabupaten Lamongan dekat dengan Pulau Madura, maka fenomena variasi pengulangan TTC dari *M. leprae* sampel di Sumberaji Kabupaten Lamongan mirip dengan sampel yang ada di pulau

poteran Sumenep Madura. Walaupun demikian implikasi klinik dari variasi strain *M. leprae* berbasis pengulangan TTC dengan gambaran klinik sebagai upaya pengendalian dan pemberantasan lepra perlu studi lanjut dan mendalam secara komprehensif.

Adapun hasil PCR dengan primer berbasis LP hanya diperoleh 2 (11,76%) yang positif dari 17 sampel, demikian juga hasil PCR dengan primer berbasis regio rpoB hanya diperoleh 2 (11,76%) yang positif dari 17 sampel. Analisis lebih lanjut terhadap sekuens nukleotida berbasis regio rpoB tidak memperlihatkan adanya mutasi. Menurut Williams, *et al* (1998). Adanya mutasi di regio rpoB terutama pada codon 507 hingga 533 memberikan kontribusi terjadinya kasus resistensi terhadap pengobatan rifamicin yang sering digunakan dalam MDT, terutama mutasi CAG513-Gln, GAT516-Asp, CAC526-His, TCG531-Ser dan CTG533-Leu.

## D. KESIMPULAN DAN SARAN

### 1. Kesimpulan

Kegiatan pengabdian kepada masyarakat berbasis aplikasi teknologi molekuler oleh Unit UJI TDDC Universitas Airlangga di daerah endemis penyakit menular khususnya penyakit lepra di Sumberaji Kabupaten Lamongan, dari hasil PCR dan analisis sekuens nukleotida terhadap sampel penderita terpilih (penderita baru lepra dan penderita lepra aktif yang masih dalam pengobatan) menunjukkan bahwa kuman *M. leprae* di Sumberaji terdiri dari tiga strain yaitu strain *M.*

*leprae* berbasis TTC-15, TTC-23 dan TTC-28, sedangkan analisis terhadap regio rpoB tidak ditemukan adanya mutasi baik pada CAG513-Gln, GAT516-Asp, CAC526-His, TCG531-Ser dan CTG533-Leu, ini menunjukkan bahwa kuman *M. leprae* yang ditemukan pada penderita lepra di Sumberaji Sukodadi Lamongan peka terhadap pengobatan rifamicin.

### 2. Saran

Hasil pemetaan ini dapat dijadikan acuan bahwa pengobatan rifampin dapat digunakan untuk terapi MDT pada penderita lepra di Sumberaji Sukodadi Lamongan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agusni, I. 2001. "Aplikasi Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) pada Penyakit Kusta". *Berkala I.P. Kulit dan Kelamin*. 13 (1) 28-32.
- Carlston, MJ. 2001. "Mycobacterium leprae Genome Sequence: A Landmark Achievement". *Lepr. Rev.* 72: 385-386.
- Chae, GT; Lee, SB; Kabg, TJ; Shin, HK; Kim, JP; Ko, YH; Kim, SH. and Kim, NH. 2002. "Typing of Clinical Isolates of *Mycobacterium leprae* and Their Distribution in Korea". *Lepr. Rev.* 73: 41-46.
- Chin, YC; Lee, H; Walsh, GP; Kim, JD. and Cho, SN. 2000. "Varia-

264

- ble of TTC Repeats in *Mycobacterium leprae* DNA from Leprosy Patients and Use in Strain Differentiation". *J. Clin. Microbiol.* 38 (12): 537-544.
- Cole, ST; Eigmeier, G and R; Parkhil. 2001. "Massive Gene Decay in the Leprosy Bacillus". *Nature.* 409: 1007-1011.
- Departemen Kesehatan RI. 2004. *Buku Pedoman Pemberantasan Penyakit Kusta*. Jakarta: Direktorat Jenderal PPM dan PL.
- Gale, E.F; E. Cundliffe; P.E. Reynolds; M.H. Richmond; and M.J. Waring. 1981. *The Molecular Basis of Antibiotic Action*. New York: John Willey & Sons. Inc.
- Honore, N and S.T. Cole. 1993. "Molecular Basis of Rifampin Resistance in *Mycobacterium Leprae*". *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*. Mar Vol. 37. No.3. pp. 414-418.
- Honore, N; S. Bergh; S. Chanteau; F. Doncet-populaire; K. Eigimeter; T. Garnier; C. Georges; P. Lanois; T. Limpai boon; S. Newton; K. Niang; P. del Portillo; G.R. Ramesh; R. Reddi; P.R. Ridel; N. Sittisombut; S. W. Hunter; and S.T. Cole. 1993. "Nucleotide Sequence of the first Cosmid from the *Mycobacterium Leprae* Genome Project: Structure and Function of the Rif-Str Regions". *Mole. Microbiol.* 7. pp. 207-214.
- Jin, D.J and C.A. Gross. 1988. "Mapping and sequencing of mutation in the *Escherichia coli* rpoB Gene that Leads to rifampicin Resistance". *J. Mol Biol.* 202. pp. 45-58.
- Kapur, V; L.L. Li; S. Iordanescu; M.R. Hamrick; A. Wanger; B.N. Kreiswirth and J.M. Musser. 1994. "Characterization by Automated DNA Sequencing of Mutations in the Gene (gen rpoB) Encoding the RNA Polymerase B Subunit in rifampin-Resistant *Mycobacterium Tuberculosis* Strains from New York City and Texas". *J. Clin. Microbiol.* Vol.32. pp. 1095-1098.
- Levin, M.E and G.F. Hatful. 1993. "*Mycobacterium Smegmatis* RNA Polymerase DNA Supercoiling, Action of Rifampicin and Mechanism of Rifampicin Resistance". *Mol. Microbiol.* Vol. 8. pp.277-285.
- Matsuoka, M; Maeda, S; Kai, M; Nakata, N; Chae, GT, Gillis, TP; Kobayashi, K; Izumi, S; Kashiwabara, Y. 2000. *Mycobacterium leprae* Typing by Genomic Diversity and Global Distribution of Genotypes. *Int. J. Lepr.* 68(2): 122-128.

265

- Matsuoka, M; Zhang, L; Budiawan, T; Saeki, K and Izumi, S. 2004. Genotyping of *Mycobacterium leprae* on the Basis of the Polymorphism of TTC Repeats for Analysis of Transmission. *J. Clin. Microbiol.* 42(2): 741-745.
- Matsuoka M, Zhang L, Morris MF, Legua P dan Wiens C. 2005. Polymorphism in the rpoT Gene in *Mycobacterium Leprae* Isolates Obtained from Latin American Countries and its Possible Correlation with the Spread of Leprosy. *FEMS Microbiol Lett.* 243(2): 311-3115.
- McClare, W.R; and L. Chech. 1978. On the mechanism of rifampicin inhibition of RNA synthesis. *J. Biol. Chem.* 253. pp. 8949-8956.
- Musser, J. 1995. "Antimicrobial agent Resistance in Mycobacteria: Molecular Genetic Insights. *Clin. Microbiol.* Review. Vol. 5. pp. 496-514.
- Ovchinnikov, Y.A; G.S. Monastyrskaya; S.O. Guriev; N.F. Kalina; E.D. Sverdlov; A.I. Bass; I.F. Kiver; E.P. Moiseyeva; V.N. Igumnov; S.Z. Mindlin; V.G. Nikiforov and R.B. Khesin. 1983. "RNA Polymerase Rifampicin Resistance Mutations in *Escherichia Coli*: Sequence changes and dominance. *Mole.* Gen. Genet. Vol.190. pp. 344-348.
- Telenti, A; P. Imboden; F. Marchesi; D. Lowrie; S.T. Cole; M.J. Colston; L. Matter; K. Schoolfer and T. Bodmer. 1993. "Detection of rifampicin-resistant mutations in *Mycobacterium Tuberculosis*". *Lancet.* Vol. 341. pp. 647-650.
- Steiner, P; M. Rao; M. Mitchell and M. Steiner. 1986. "Primary Drug Resistant Strains of *M. Tuberculosis* to Rifampin". *Am. Rev. Respir. Dis.* 134. pp. 446-448.
- Stottmeir, K.D. 1976. Emergence of Rifampin-Resistant *Mycobacterium Tuberculosis* in Massachusetts". *J. Infect. Dis.* 133. pp. 88-90.
- Van Belkum, A; Stuelens, M; de Visser, A; Verbugh, H. and Tibayrenc, M. 2001. "Role of Genomic Typing in Taxonomy, Evolutionary Genetics, and Microbial Epidemiology". *Clin. Microbiol. Rev.* 14 (3): 547-560.
- Van Belkum, A. 2002. Molecular "Typing of Microorganism". *J. Med. Microbiol.* 51: 7-10.
- Williams, D.L; T.P. Gillis and F. Portaels. 1990. Geographically Distinct Isolates of *Mycobacterium Leprae* Exhibit No Genotypic Diversity by restriction

- Fragment-Length Polymorphism Analysis". *Mol. Microbiol.* 4. pp. 1653-1659.
- Williams, D.L; C. Waguespack; K. Eisenach; J.T. Crawford; F. Portaels; M. Salfinger; C.M. Nola; C. Abe; V.S. Stich-Groh; dan T.P. Gillis. "Characterization of Rifampin Resistance in Pathogenic Mycobacteria". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol.38. No.10. pp.2380-2386.
- World Health Organization. 2005. "Global Leprosy Situation 2005". *Weekly Epidemiological Record*. No.34: 289-296.
- Young, D. 2003. "Prospect for Molecular Epidemiology of Leprosy". *Lepr.Rev.*74:11-17.
- Zang L; Teki B; Matsuoka M. 2005. "Diversity of Potential Short Tandem Repeats in *Mycobacterium Leprae* and Application for Molecular Typing". *J. Clin. Microbiol.* 43 (10): 5221-5229.



## UNIVERSITAS AIRLANGGA TROPICAL DISEASE DIAGNOSTIC CENTER

d.a. Lembaga Penyakit Tropis, Kampus C UNAIR, Mulyorejo Surabaya - 60115

Telp. 62-31-5992445-46; Fax. 62-31-5992445

Website: [www.itd.unair.ac.id](http://www.itd.unair.ac.id) Email: [tddc052003@gmail.com](mailto:tddc052003@gmail.com)

### **PENJELASAN PENELITIAN PEMETAAN STRAIN M. LEPRAE BERBASIS REGIO TTC DAN POLA MUTASI TERHADAP OBAT RIFAMPIN BERBASIS REGIO rpoB**

Bapak/Ibu saudara yang kami hormati, kami dari Tim Penelitian yang terdiri dari dokter di SMF Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga-RSUD Dr. Soetomo bersama unit Uji TDDC Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga berencana untuk melakukan penelitian mulai Februari-Agustus 2010 dengan judul tersebut diatas.

#### **Tim Peneliti terdiri dari ;**

Ketua Tim Peneliti : Prof. Dr. Indropo Agusni, Sp.KK (K)., dr

Anggota :

Nasronudin

Eduardus Bimo Aksono H

Ratna Wahyuni

Dinar Adryaty

Iswahyudi

#### **Latar Belakang penelitian**

Selama dekade terakhir pemberantasan kusta di Jawa Timur pada umumnya telah berhasil menurunkan prevalensi kusta, namun insidens kusta baru tetap bertahan terutama di daerah endemis (daerah kantong) walaupun kasus aktif sebagai sumber infeksi telah diobati. Kondisi ini mungkin disebabkan antara lain karena: (1) adanya backlog case, yakni adanya kasus yang tidak terdeteksi dan tidak mendapat terapi; (2) adanya infeksi subklinis yang tidak terdeteksi pada populasi; (3) adanya kasus mutasi; (4) kemungkinan adanya sumber penularan/reservoir di luar manusia, yang menyebabkan kontrol, eliminasi dan eradikasi kusta pada manusia menjadi sulit (Noordeen, 1994); (5) lingkungan yang tidak sehat. Hal ini bukan berarti program tidak berjalan dengan baik namun dapat pula karena kemungkinan kedua yakni fenomena kasus kusta sub klinik dan mutasi (Agusni, 2003). Dengan metode analisis sekuens baik pada regio TTC maupun rpoB gen ini akan diketahui dan sangat penting khususnya untuk mempelajari penyebaran atau epidemiologi kusta pada suatu daerah secara geografis serta kasus resistensi yang sering timbul berkaitan dengan program MDT.

#### **Tujuan**

Melakukan pemetaan strain M. leprae (genetic mapping) berbasis regio TTC dan pemetaan pola mutasi terhadap obat rifampin berbasis regio gen rpoB



## UNIVERSITAS AIRLANGGA TROPICAL DISEASE DIAGNOSTIC CENTER

d.a. Lembaga Penyakit Tropis, Kampus C UNAIR, Mulyorejo Surabaya - 60115  
Telp. 62-31-5992445-46; Fax. 62-31-5992445  
Website: [www.itd.unair.ac.id](http://www.itd.unair.ac.id) Email: [tdc052003@gmail.com](mailto:tdc052003@gmail.com)

### **Manfaat yang Bapak/Ibu/Saudara dapatkan dengan ikut serta dalam penelitian ini:**

Dengan ikut serta dalam penelitian ini. Bapak/Ibu/Saudara ikut berperan dalam memberikan data mengenai pola mutasi strain *M. leprae* berbasis pada regio TTC dan *rpoB* serta hubungannya dengan kasus resistensi dan kelanjutan strategi program MDT.

### **Resiko yang mungkin Bapak/Ibu/Saudara alami jika ikut serta dalam penelitian ini :**

Jika Bapak/Ibu/Saudara ikut serta dalam penelitian ini, maka terdapat beberapa kemungkinan resiko antara lain nyeri ringan dan perdarahan saat pengambilan specimen apusan sayatan kulit, mukosa hidung dan biopsi dari lesi kulit. Tim peneliti akan mengobservasi dan melakukan penatalaksanaan sesuai resiko yang timbul. Bapak/Ibu/Saudara dimohon untuk melaporkan pada tim peneliti jika terjadi efek samping. Jika terjadi insiden pada saat penelitian berlangsung baik berupa efek samping maupun komplikasi, akan dirawat sesuai standard pengobatan untuk efek samping dan komplikasi yang terjadi, dengan keseluruhan pembiayaan ditanggung oleh peneliti.

### **Prosedur yang akan Bapak/Ibu/Saudara alami jika ikut dalam penelitian**

1. Bapak/Ibu/Saudara akan mendapatkan penjelasan tentang penelitian
2. Jika Bapak/Ibu/Saudara berkenan ikut dalam penelitian, anda akan diminta secara sukarela menandatangani lembar persetujuan
3. Jika anda bersedia ikut serta dalam penelitian ini, dokter akan melakukan wawancara, pemeriksaan fisik dan pengambilan apusan sayatan kulit, mukosa hidung dan biopsi dari lesi kulit
4. Jika dari pemeriksaan anda ditemukan adanya infeksi *M. leprae* baru maupun lama akan mendapatkan pengobatan MDT secara cuma-cuma

### **Jaminan Kerahasiaan**

Seluruh data pribadi pasien bersifat rahasia dan hanya diketahui oleh dokter sebagai peneliti. Data mengenai hasil penelitian akan diolah secara ilmiah dan dipergunakan dengan benar dan sebaik-baiknya untuk kepentingan ilmiah

### **Hak Untuk Menolak Menjadi Subjek Penelitian**

Setelah mendapat penjelasan di awal mengenai penelitian ini, apabila Bapak/Ibu/Saudara tidak berkenan untuk ikut dalam penelitian, maka Bapak/Ibu/Saudara mempunyai hak untuk menolak mengikuti penelitian

### **Partisipasi Berdasarkan kesukarelaan dan Hak Untuk Mengundurkan Diri**

Partisipasi Bapak/Ibu/Saudara untuk mengikuti penelitian ini bersifat sukarela dan tidak ada unsur paksaan dari peneliti. Apabila selama penelitian berlangsung, Bapak/Ibu/Saudara ingin mengundurkan diri, maka Bapak/Ibu/Saudara mempunyai hak untuk mengundurkan diri sebagai subjek penelitian dan tidak akan memengaruhi pelayanan pengobatan selanjutnya yang diperlukan



**UNIVERSITAS AIRLANGGA  
TROPICAL DISEASE DIAGNOSTIC CENTER**

d.a. Lembaga Penyakit Tropis, Kampus C UNAIR, Mulyorejo Surabaya - 60115

Telp. 62-31-5992445-46; Fax. 62-31-5992445

Website: [www.itd.unair.ac.id](http://www.itd.unair.ac.id) Email: [tddc052003@gmail.com](mailto:tddc052003@gmail.com)

**Subjek Dapat Dikeluarkan dari Penelitian**

Apabila Bapak/Ibu/Saudara tidak mentaati instruksi dan protocol yang diberikan oleh peneliti, maka Bapak/ibu/Saudara dapat dikeluarkan setiap saat dari penelitian ini

**Ganti Rugi/LKompensasi Untuk Keikutsertaan Anda Dalam Penelitian Ini**

Walaupun sudah dilakukan semua upaya untuk meminimalkan resiko dalam penelitian ini., selalu masih ada kemungkinan terjadinya hal hal yang tidak diinginkan. Bilamana hal itu terjadi maka tim peneliti akan menangani semua kejadian yang terkait dengan penelitian ini sesuai prosedur dan standard yang berlaku di RSUD Dr. Soetomo sampai Anda dinyatakan pulih. Tim peneliti akan memberikan kompensasi yang wajar sebagai ungkapan rasa terima kasih atas keikutsertaan Anda dalam penelitian ini

**Hal-Hal Yang Perlu Diketahui**

Bapak/Ibu/Saudara tidak dibebani biaya apapun yang berhubungan dengan penelitian ini. Semua biaya penelitian akan ditanggung oleh peneliti. Apabila terjadi efek samping/komplikasi, atau hal hal yang ingin ditanyakan dapat menghubungi langsung peneliti

Nama : Prof. Dr. Indropo Agusni, dr., SpKK (K).

Lamongan, 20 Februari 2010

Mengetahui

Tim Peneliti,

(Prof. Dr. Indropo Agusni, dr., SpKK (K))

Subjek/Pasien

(.....)

Saksi 1,

(.....  
EDUARDUS BIMO.....)

Saksi 2,

(.....)



**UNIVERSITAS AIRLANGGA  
TROPICAL DISEASE DIAGNOSTIC CENTER**

d.a. Lembaga Penyakit Tropis, Kampus C UNAIR, Mulyorejo Surabaya - 60115  
Telp. 62-31-5992445-46; Fax. 62-31-5992445  
Website: [www.itd.unair.ac.id](http://www.itd.unair.ac.id) Email: [tddc052003@gmail.com](mailto:tddc052003@gmail.com)

**LEMBAR PERSETUJUAN MENGIKUTI PENELITIAN**

Yang bertndatangan dibawah ini :

Nama : **PAIRIN**  
 Alamat : **RT II / RW. 3 SUMBERAJI - LAMONGAN**  
 Umur : **53 THN**  
 Telepon : **—**

Saya telah membaca informasi dan telah diberi penjelasan sepenuhnya tentang penelitian ini. Semua pertanyaan yang saya ajukan telah dijawab oleh peneliti/dokter peneliti. Dengan ini saya memberikan

**PERSETUJUAN**

Mengikuti penelitian ini sebagai subjek penelitian dengfan judul : **PEMETAAN STRAIN M. LEPRAE BERBASIS REGIO TTC DAN POLA MUTASI TERHADAP OBAT RIFAMPIN BERBASIS REGIO REGIO rpoB**

Semua biaya yang berhubungan dengan penelitian ini akan ditanggung oleh peneliti dan sewaktu waktu saya berhak mengundurkan diri.

Demikian persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan,

Surabaya, 20 Februari 2010

Yang Membuat Pernyataan

**PAIRIN**

(.....)

Saksi 1,

(.....  
**Fauzans Bimo**.....)

Saksi 2,

(.....)