

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mycobacterium leprae*

M.leprae merupakan agen penyebab penyakit kusta. Bakteri ini ditemukan oleh G.H. Armauer Hansen di Norwegia pada tahun 1873, merupakan bakteri pertama yang diidentifikasi sebagai penyebab penyakit pada manusia (WHO, 2003).

2.1.1 Klasifikasi

M.leprae termasuk dalam famili *Mycobacteriaceae*, ordo Actinomycetales, klas Schizomycetes/Actinomycetes (Joklik *et.al.*, 1992; Forbes *et.al.*, 2002).

2.1.2 Morfologi, struktur dan komposisi

M. leprae merupakan bakteri gram positif dan tahan asam yang akan hilang bila diekstraksi dengan piridin (Rees and Young, 1994). Bakteri ini berbentuk pleomorf lurus, batang ramping dan biasanya berbentuk paralel dengan kedua ujungnya bulat, ukuran panjang 1-8 μm dan lebar 0,3-0,5 μm , tidak bergerak dan tidak membentuk spora (Pfyffer *et.al.*, 2003). Merupakan bakteri obligat intraselular (Harboe, 1994) serta bersifat mikroaerofilik (Scollard *et.al.*, 2006).

Struktur dan komposisi *M.leprae* terdiri atas (Rees and Young, 1994) :

a. Kapsul

Suatu bahan yang transparan atau berbuih yang menyelimuti *M.leprae* yang terdiri atas 2 macam lipid yaitu *phthiocerol dimycoserat* yang berfungsi sebagai pelindung pasif dan *phenolic glycolipid* 1 yang merupakan gabungan dari molekul trisakarida, phenol dan lipid.

b. Dinding sel

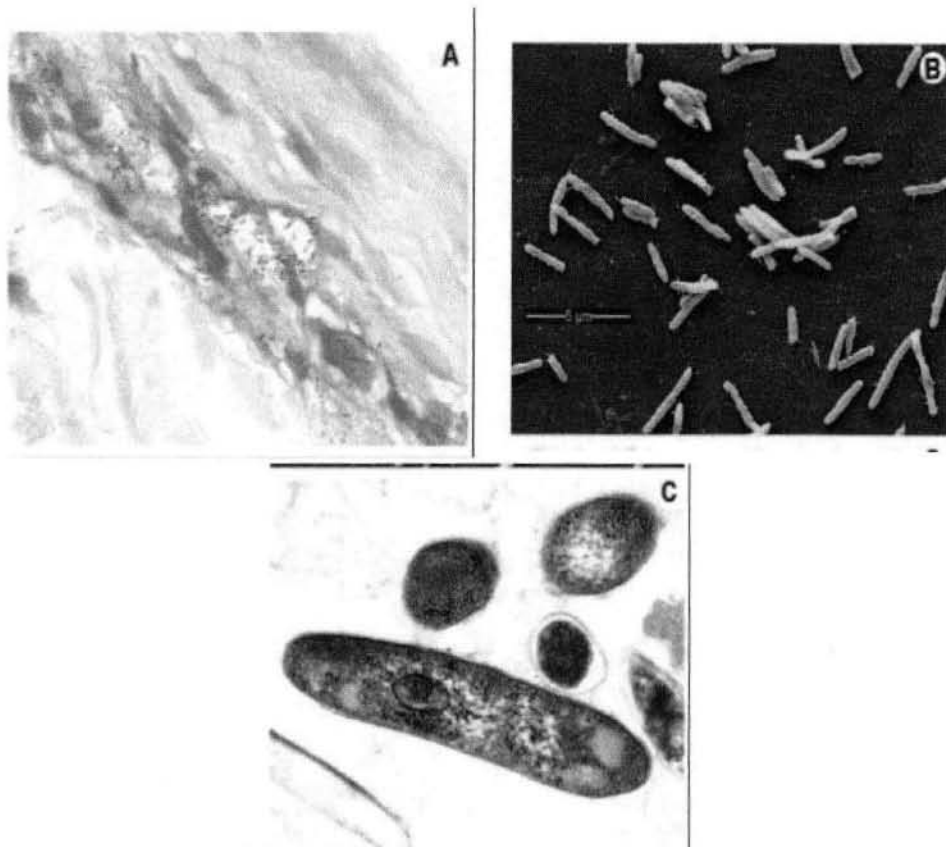
Dinding sel terdiri atas 2 lapisan yaitu lapisan luar dan dalam. Lapisan luar merupakan lapisan transparan yang terdiri dari lipopolisakarida yang tersusun dari rantai cabang arabinogalaktan dan rantai panjang asam mikolat. Lapisan dalam mengandung peptidoglikan yang merupakan karbohidrat yang terikat rantai peptida yang terdiri dari ikatan asam amino yang spesifik *M.leprae*. Fungsi dinding sel ini sebagai pembentuk sel dan melindungi dari pengaruh luar. Dinding sel ini juga berisi protein yang telah diidentifikasi sebagai target sel T, antara lain protein 17kDa, 14kDa, 36kDa, dan 65kDa.

c. Membran

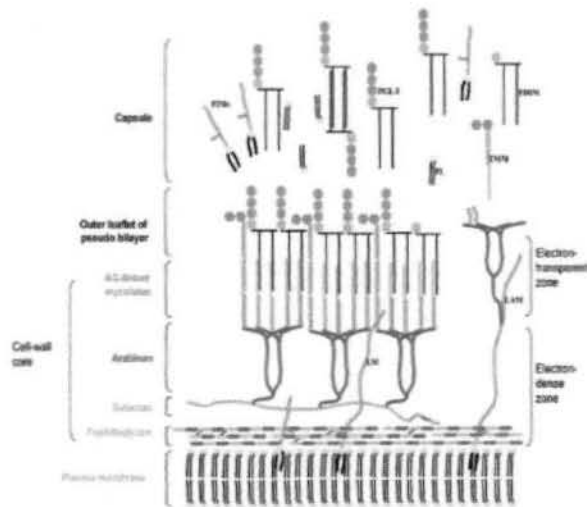
Lapisan membran ini tersusun dari lipid dan protein. Protein yang menyusun membran ini diduga merupakan suatu enzim yang mengatur transport aktif dan pasif molekul serta merupakan jaringan target dari kemoterapi kusta.

d. Sitoplasma

Mengandung *storage granule*, DNA dan RNA yang berfungsi sebagai material genetik dan ribosom yang terdiri dari protein yang berfungsi menterjemahkan informasi genetik. Protein yang dominan dalam sitoplasma yaitu: protein 65kDa dan protein 17kDa yang berbeda dengan protein pada dinding sel.



Gambar 2.1 Morfologi *M.leprae*. **A.** *Acid fast* lemah berbentuk batang, dilihat berada dalam sel syaraf dengan pewarnaan metode Fite-Faraco dengan *counter stain* Methylene blue. **B.** Permukaan luar *M.leprae* dilihat dengan mikroskop elektron *scanning*. **C.** Bentuk bagian dalam *M.leprae* dilihat dengan mikroskop elektron *transmission, ultrathin section* (Scollard *et.al.*, 2006).



Gambar 2.2 Skema model amplop sel *M.leprae* (Scollard *et.al.*, 2006).

2.1.3 Sifat pertumbuhan

Bakteri *M.leprae* merupakan satu-satunya mikobakteria yang menginfeksi saraf perifer, terutama sel Schwann, menyukai tempat pada tubuh dengan suhu kurang dari 37°C (Rees and Young, 1994), seperti bagian lateral anggota gerak, wajah, pantat, paha dan tubuh (Burdick *et.al.*, 2006), dan membelah diri sangat lambat yaitu setiap 12-13 hari (Bryceson and Pfaltzgraff, 1990). *M. leprae* tidak dapat dibiakkan pada medium artifisial, namun dapat hidup pada *nine-banded* armadillo dan telapak kaki mencit dengan pertumbuhan terbatas. Meskipun tidak dapat dibiakkan pada medium artifisial, *M.leprae* dapat dipelihara dalam kondisi metabolit yang stabil selama beberapa minggu pada medium kultur *axenic* (Scollard *et.al.*, 2006).

2.1.4 Eksistensi di lingkungan

Sumber penularan *M.leprae* yang utama adalah penderita kusta tipe MB terutama pada penderita kusta tipe lepromatosa yang sangat infeksius dan belum diobati (Noordeen, 1994). Dari seorang penderita kusta tipe MB, lewat percikan lendir hidungnya dapat dikeluarkan berjuta-juta *M.leprae* ke lingkungan sekitarnya. Dilaporkan bahwa *M.leprae* dari percikan ludah penderita bisa bertahan hidup di tanah sampai 40 hari (Chakrabarty and Dastidar, 2002). Bakteri tersebut mungkin bisa terbawa lewat debu dan terhirup oleh manusia lainnya. (Agusni, 2003; Desikan and Sreevatsa, 1995). Secara teoritis *M.leprae* mampu hidup lebih dari tujuh hari di luar *host*, di dalam sekret hidung yang kering, pada keadaan gelap dengan temperatur dan kelembaban yang bervariasi (Cree and Smith, 1998). Disebutkan juga bahwa *M.leprae* mampu hidup selama tujuh hari pada temperatur 20,6°C dan kelembaban 43,7% (Rees and Young, 1994); selama sembilan hari pada temperatur

35,7°C dan kelembaban 77,6%; pada tanah yang basah mampu hidup selama lebih dari 46 hari (Desikan *and* Sreevatsa, 1995).

Disamping itu dari berbagai penelitian epidemiologi, timbul kecurigaan bahwa banyak individu terinfeksi *M.leprae* tanpa adanya sumber penularan yang jelas atau tidak ditemukannya penderita kusta yang menjadi sumber penularan, terjadi antara lain disebabkan penularan tidak langsung (Agusni, 1993). Menurut Cree *and* Smith (1998) sumber penularan *M.leprae* dapat terjadi melalui kontak langsung dengan sumber infeksi (manusia) dan dapat pula melalui jalur tidak langsung yaitu melalui lingkungan.

Pendapat bahwa penularan dapat terjadi secara tidak langsung melalui lingkungan diperkuat dengan fakta-fakta, diantaranya adalah bahwa di Amerika telah ditemukan hewan armadillo liar yang mengidap kusta dan mengandung *M.leprae* di dalam tubuhnya. *M.leprae* juga telah ditemukan pada berbagai hewan seperti monyet, tikus (Blake *et.al.*, 1987; Meyers *et.al.*, 1992; Desikan *and* Sreevatsa, 1995), simpanse, kera *Mangabey*, kera *Cyanomolgus*, kerbau dan juga kucing (Job, 1981; Meyers *et.al.*, 1991; Nuryanti *and* Agusni, 2002).

Dari fakta ditemukannya basil kusta pada tubuh hewan, berkembang penelitian untuk mencari transmisi penularan kusta di luar manusia (dari lingkungan). Dilaporkan adanya korelasi antara peta penyebaran kusta secara geografis dengan peta kondisi geografis tanah yang mengandung *fossil-fuel*, baik di Amerika maupun India (Chakrabarty *and* Dastidar, 2002).

Penelitian-penelitian lain yaitu oleh Kazda *et.al.* (1980) yang menemukan adanya bakteri tahan asam dan tidak bisa dikultur pada vegetasi *sphagnum* dan lumut di daerah bekas endemis kusta Norwegia, bakteri ini kemudian mampu bermultiplikasi ketika

diinfeksi ke telapak kaki mencit. Penelitian ini kemudian dilanjutkan dengan mengidentifikasi sifat-sifat biokimia dari bakteri tersebut yang ternyata mirip *M.leprae* (Kazda, 1981). Uji antibodi monoklonal spesifik *Phenolic Glicolipid-1* (PGL1) *M.leprae* dan Uji *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan primer spesifik *M.leprae* untuk bakteri yang ditemukan dari tempat yang sama juga menunjukkan hasil positif (Kazda *et.al.*, 1990; Mostafa *et.al.*, 1995). Blake *et.al.* (1987) menemukan salah satu sampel tanah di daerah endemis kusta yang juga positif setelah diuji dengan antibodi monoklonal yang spesifik terhadap antigen PGL-1 *M.leprae*.

Penelitian-penelitian lain yang mendukung keberadaan *M.leprae* di luar manusia secara biomolekuler adalah ditemukannya DNA *M.leprae* dari tanah daerah endemis kusta di Ghatampur India (Lavania *et.al.*, 2006) dan *viable M.leprae* (RNA *M.leprae*) dari tanah di daerah yang sama (Lavania *et.al.*, 2008). Dilaporkan bahwa di daerah Ghatampur ini 33,3% sampel tanah dari daerah sekitar rumah penderita positif DNA *M.leprae* (Lavania *et.al.*, 2006). Selain itu RNA *M.leprae* ditemukan sebanyak 35% dari 80 sampel tanah sekitar rumah penderita dan non penderita, dimana sampel tanah ini 37,5%nya positif DNA *M.leprae*. Dinyatakan pula bahwa keberadaan *M.leprae* di tanah di daerah tersebut merupakan kontaminasi dari penderita kusta karena ada perbedaan yang signifikan antara positivitas pada daerah sekitar rumah penderita dan non penderita (Lavania *et.al.*, 2008).

Di Indonesia juga ditemukan DNA *M.leprae* dari sumber air di daerah endemis kusta di Maluku Utara, daerah di pantai utara Jawa Timur, pulau Talango Jawa Timur, dan di Sulawesi Selatan (Matsuoka *et.al.*, 1999; Izumi *et.al.*, 2002; Agusni *et.al.*, 2004; Adriaty, 2005; Adriaty *et.al.*, 2005). Matsuoka *et.al.* (1999) melakukan penelitian di Maluku Utara dengan mengambil sampel air dari sumber-sumber air yang digunakan oleh penduduk di

daerah endemis kusta. Ternyata 21 dari 44 sampel air tersebut menunjukkan adanya DNA *M.leprae*. Sedangkan penelitian Izumi *et.al.* (2002) pada sumur-sumur yang digunakan penduduk di suatu daerah endemis kusta di Sulawesi Selatan menunjukkan hasil 20% dari sampel air yang diteliti positif DNA *M.leprae*, yang berarti dua dari sepuluh sumur mengandung *M.leprae*. Penelitian yang hampir sama dengan hasil 54,3% positif dari daerah endemis yang berbeda di Sulawesi Selatan telah dilaporkan oleh Adriaty *et.al.* (2005). Penelitian lain di pantai utara Jawa Timur dari sampel air telaga yang digunakan 42,8% positif DNA *M.leprae*. Hal yang menarik adalah ternyata sampel air dari akar tumbuhan yang hidup di telaga tersebut menunjukkan hasil positif cukup tinggi, yaitu 83,3%. Secara umum terlihat bahwa *M.leprae* banyak menempel pada akar tumbuhan air yang hidup di telaga atau sumber air (Agusni *et.al.*, 2004). Penelitian di pulau Talango Jawa Timur menyatakan bahwa 38% sampel air dari daerah prevalensi kusta tinggi positif DNA *M.leprae*, sedangkan dari daerah prevalensi kusta rendah 17% positif (Adriaty, 2005).

Mudatsir (2006) melaporkan bahwa *M.leprae* yang ditemukan di lingkungan endemis kusta pulau Talango Jawa Timur secara genotipe sama dengan yang ditemukan pada penderita kusta. Dinyatakan pula bahwa secara statistik tidak ada perbedaan positività DNA *M.leprae* dari sumber air pasien maupun non pasien dari pulau tersebut, sehingga dengan kata lain *M.leprae* di sumber air tersebut bukan berasal dari kontaminasi penderita kusta (Adriaty, 2005; Mudatsir, 2006).

2.2 Penyakit Kusta

2.2.1 Definisi

Penyakit kusta (*Lepra, Morbus Hansen*) merupakan infeksi kronis yang disebabkan oleh *M.leprae*, secara primer menyerang syaraf tepi dan secara sekunder menyerang kulit

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

serta organ-organ lain (Job, 1994; WHO, 2005). Penyakit ini dapat mengakibatkan kecacatan (Britton *and* Lockwood, 2004) serta masalah prikososial akibat adanya stigma buruk bagi penderita (Agusni, 2003).

2.2.2 Sejarah

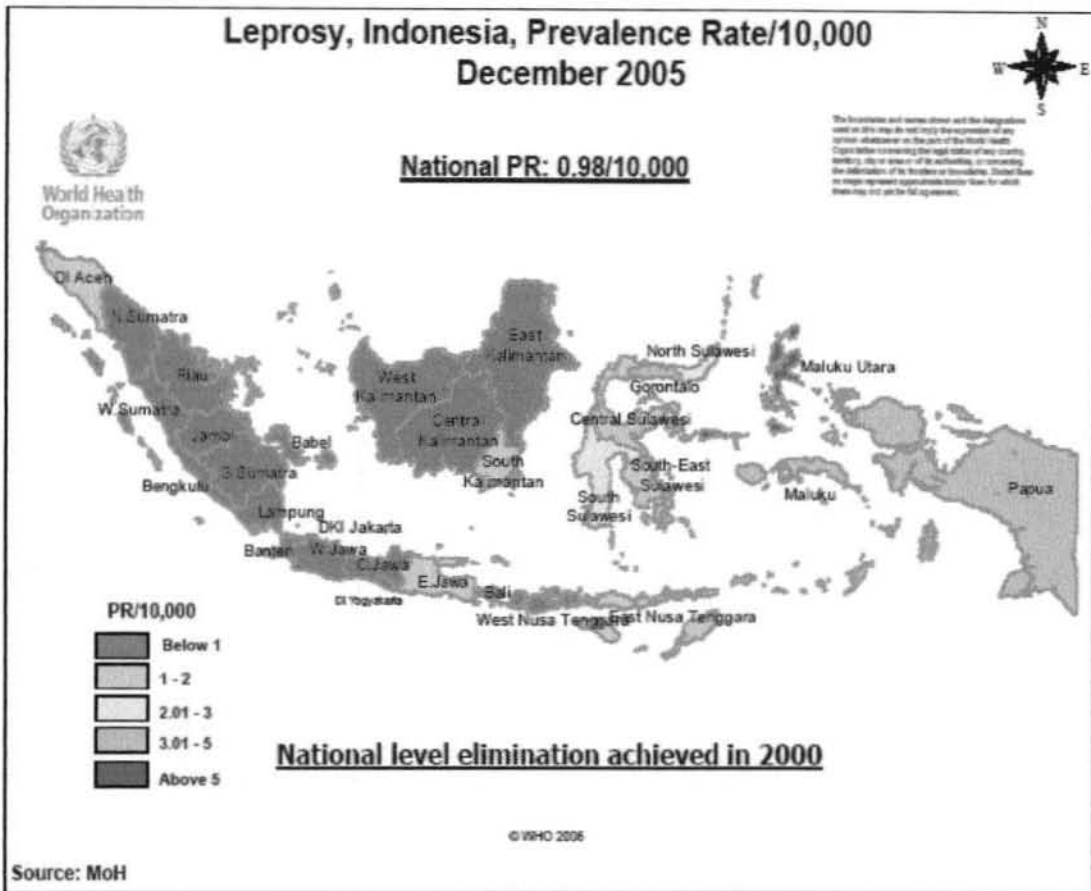
Penyakit kusta adalah penyakit yang setua peradaban manusia, karena telah lama diketahui dan ditulis dalam kitab-kitab kuno. Kata kusta berasal dari bahasa Sansekerta yang terdapat dalam kitab Veda (tahun 1400 SM) yaitu *kustha* yang berarti merusak (Hasibuan, 1994). Kitab *Sushrat Samhita* di zaman India Kuno (1300 SM), mencantumkan adanya penyakit yang disebut *khust* dengan deskripsi penyakit sesuai dengan kusta yang dikenal saat ini. Begitu pula dalam kitab-kitab kuno Tiongkok serta tulisan pada daun Papyrus di Mesir, juga tertulis hal mengenai penyakit yang sesuai dengan kusta yang dikenal saat ini. Kitab kuno Arab dijumpai pula istilah *juzam* untuk sebutan penyakit kusta (Bryccesson, 1990), sedangkan istilah lepra sendiri berasal dari bahasa Yunani kuno dalam Kitab Perjanjian Baru, yang merupakan terjemahan dari istilah *zaraath* dari bahasa Ibrani kuno yang tercantum dalam Kitab Perjanjian Lama (Trautman, 1994).

2.2.3 Epidemiologi

Sejak tahun 1991, World Health Organization (WHO) mencanangkan program "*Elimination of Leprosy as a public health problem by the year 2000*", yaitu seluruh negara di dunia harus menurunkan prevalensi kusta hingga di bawah 1/10.000 penduduk, sehingga tidak lagi menjadi masalah kesehatan (Daumerie, 2002). Sepuluh tahun kemudian, pada bulan Mei 2001, dalam *World Helath Assembly* (WHA) dinyatakan bahwa program eliminasi kusta dengan pengobatan *Multy Drug Therapy* (MDT) telah mencapai target secara global. Pada bulan Januari 2002, WHO melaporkan bahwa selama tahun 2000 telah

ditemukan kasus terdaftar sebanyak 597.232 dan 719.990 kasus baru. Meskipun data ini diambil dari negara-negara dengan kasus terdaftar lebih dari 100 kasus, namun secara global dapat dikatakan PR di bawah 1/10.000 penduduk. Hal ini menunjukkan adanya penurunan prevalensi kusta sebesar 90% (12/10.000 penduduk pada tahun 1985 menjadi kurang dari 1/10.000 penduduk pada tahun 2000). Beberapa negara yang masih mempunyai kantung-kantung endemik adalah Afrika, Asia dan Amerika Selatan, tetapi pada saat ini, 107 negara dari 122 negara endemik telah dinyatakan mencapai target eliminasi. Hampir 83% kasus kusta terdaftar terutama hidup di enam negara, yaitu : India, Brazil, Myanmar, Indonesia, Madagaskar dan Nepal (ILA, 2002). Pada akhir tahun 2007 Indonesia termasuk dalam 17 negara yang menyumbang 95% kasus kusta baru diseluruh dunia (WHO, 2008).

Program eliminasi kusta pada tahun 2000 oleh WHO memang bisa dicapai oleh beberapa negara termasuk Indonesia (Naafs, 2000), meskipun demikian kusta masih menjadi salah satu masalah kesehatan yang cukup besar di Indonesia, karena sampai akhir tahun 2006 masih ada 14 provinsi dan 155 kabupaten yang belum dapat mencapai eliminasi (Depkes RI, 2008). Data tahun 2007 memperlihatkan bahwa Indonesia menduduki peringkat ke tiga dunia setelah India dan Brazil dalam hal jumlah penderita kusta baru. Selain itu yang perlu dicermati adalah situasi kusta antara tahun 2002-2005 dimana penemuan kasus kusta baru di Indonesia mengalami peningkatan dari 12.377 orang pada tahun 2002 menjadi 14.641 orang pada tahun 2003, terjadi peningkatan lagi menjadi 16.549 orang pada tahun 2004 dan 19.695 orang pada tahun 2005, kemudian terjadi sedikit penurunan menjadi 17.682 dan 17.723 orang pada tahun 2006 dan 2007 (WHO, 2008).



Gambar 2.3 Situasi kusta di Indonesia (WHO-SEARO, 2006).

Tabel 2.1 Deteksi kasus kusta baru pada tujuh belas negara penyumbang 95% kasus kusta baru selama tahun 2007 dan jumlah kasus kusta baru yang terdeteksi pada tahun-tahun sebelumnya (WHO, 2008).

Country - Pays	No. of new cases detected - Nombre de nouveaux cas dépistés						
	1993	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Angola	339	4 272	2 933	2 109	1 877	1 078	1 269
Bangladesh	6 943	9 844	8 712	8 242	7 882	6 280	5 357
Brazil - Brésil	34 235	38 365	49 206	49 384	38 410	44 436	39 125
China - Chine	3 755	1 646	1 404	1 499	1 658	1 506	1 526
Democratic Republic of the Congo - République démocratique du Congo	3 927	5 037	7 165	11 781	10 369	8 257	8 820
Côte d'Ivoire	2 186	1 358	1 205	1 066	NA	976	1 204
India - Inde	456 000	473 658	367 143	260 063	169 709	139 252	137 685
Ethiopia - Éthiopie	4 090	4 632	5 193	4 787	4 698	4 092	4 187
Indonesia - Indonésie	12 638	12 377	14 641	16 549	19 695	17 682	17 723
Madagascar	740	5 482	5 104	3 710	2 709	1 536	1 644
Mozambique	1 930	5 830	5 907	4 266	5 371	3 637	2 510
Myanmar	12 018	7 386	3 808	3 748	3 571	3 721	3 637
Nepal - Népal	6 152	13 830	8 046	6 958	6 150	4 235	4 436
Nigeria - Nigéria	4 381	5 078	4 799	5 276	5 024	3 544	4 665
Philippines	3 442	2 479	2 397	2 254	3 130	2 517	2 514
Sri Lanka	944	2 214	1 925	1 995	1 924	1 993	2 024
Sudan - Soudan	1 489	1 361	906	722	720	884	1 706 ^a
Total (%)	555 209 (94%)	594 849 (96%)	490 494 (95%)	384 409 (94%)	282 897 (95%)	245 626 (95%)	240 032 (94%)
Global total - Total général	590 933	620 638	514 718	407 791	299 036	259 017	254 525

NA, not available - ND non disponible.

^a Total for 2007 includes data from southern Sudan. - Le total pour 2007 comprend des données provenant du Sud-Soudan.

Penyebaran penyakit kusta di Indonesia tidak merata, sebagian besar kusta ditemukan di Indonesia bagian timur disertai adanya kantung-kantung endemis dengan prevalensi cukup tinggi (Depkes RI, 2008). Jawa Timur merupakan propinsi dengan jumlah penderita kusta tertinggi di Indonesia, sekitar 30% penderita kusta di Indonesia terdapat di wilayah ini dan terutama menyebar di daerah bagian utara dan pulau Madura. Data sampai 31 Desember 2008 memperlihatkan jumlah penderita sebanyak 6785 orang, dengan PR

sebesar 1.81/10.000 penduduk. Kabupaten lamongan adalah salah satu daerah endemis kusta di pantai utara Jawa Timur dengan PR sebesar 4,25/10.000 penduduk, merupakan peringkat kelima setelah Sampang, Sumenep, Tuban dan Lumajang dengan jumlah penderita terdaftar sebanyak 537 orang (Dinkes Jatim, 2008). Wilayah puskesmas Brondong saat ini PR sebesar 8,02/10.000 penduduk, merupakan peringkat pertama dari seluruh kabupaten Lamongan dengan angka CDR sebesar 143,6/100.000 penduduk (Puskesmas Brondong, 2009).



Gambar 2.4 Peta persebaran kusta di Jawa Timur (Dinkes Jatim, 2008).

Proporsi penderita kusta dengan cacat II di kabupaten Lamongan sebesar 4%, angka ini relatif lebih rendah dibandingkan dengan daerah-daerah lain di Jawa Timur, dimana angka tertinggi yaitu di kabupaten Madiun mencapai 40%. Hal ini menunjukkan bahwa di Lamongan penemuan penderita lebih banyak dalam tahap deteksi dini (Dinkes Jatim, 2008).

Penyakit kusta mengenai segala umur, tetapi jarang sekali ditemukan pada anak-anak di bawah usia 3 tahun. Hal ini diduga berkaitan dengan masa inkubasi penyakit ini yang cukup lama. Meskipun sebagian besar penduduk di daerah endemis kusta pernah terinfeksi *M.leprae*, tidak semua akan terkena penyakit ini karena adanya kekebalan alamiah terhadap bakteri ini (Agusni 1997).

Sampai saat ini cara penularan penyakit kusta belum sepenuhnya terungkap, karena sulitnya melakukan penelitian yang disebabkan oleh masa inkubasi kusta yang sangat lama. Jalur penularan kusta yang dianut hingga kini adalah melalui percikan lendir dari mukosa hidung (*droplet infection*). Hal ini ditunjukkan dengan ditemukannya *M.leprae* dalam jumlah banyak di mukosa hidung, bisa berkisar antara 10.000-100.000 (Noordeen, 1994). Sedangkan penularan lainnya juga bisa melalui inokulasi, yaitu melalui kulit yang terkontaminasi misalnya tato dengan alat yang tidak bersih (Jin *et.al.*, 1984; Noordeen, 1994; Nuryanti dan Agusni, 2002).

Sedangkan menurut Cree *and* Smith (1998) sumber penularan *M.leprae* dapat terjadi melalui kontak langsung dengan sumber infeksi (manusia) dan dapat pula melalui jalur tidak langsung yaitu melalui lingkungan.

Kusta juga diyakini sebagai zoonosis, dengan ditemukannya hewan-hewan yang terinfeksi secara alamiah dari lingkungan dan diduga mampu pula menularkannya pada hewan lain dan juga pada manusia. Hewan tersebut adalah armadillo, simpanse, kera *Mangabey*, kera *Cyanomolgus*, kerbau dan juga kucing. Sedangkan infeksi alamiah pada hewan lain belum ada yang melaporkan, walaupun secara eksperimental di laboratorium didapatkan bahwa *M.leprae* juga mampu hidup pada banyak hewan lain (Job, 1981; Meyers *et.al.*, 1991; Nuryanti dan Agusni, 2002).

2.2.4 Faktor resiko insidens kusta

Masuknya *M.leprae* dalam tubuh manusia tidak segera diikuti oleh timbulnya manifestasi klinis. Beberapa faktor resiko untuk terjadinya penularan maupun terjadinya manifestasi klinis, antara lain :

1. Lama, frekuensi dan kedekatan kontak

Beberapa penelitian menyatakan bahwa angka seropositifitas kusta tampaknya tidak berhubungan dengan jenis sumber penularan, namun berhubungan dengan lama kontak (Agusni, 1997). Faktor yang dianggap penting untuk terjadinya penularan kusta adalah kontak yang lama, intim, serta berlangsung terus menerus (Noordeen, 1994). Individu yang tinggal serumah dengan penderita kusta tipe MB diperkirakan mempunyai resiko terkena kusta 5-10 kali lipat lebih besar dibandingkan dengan populasi lainnya, demikian pula individu yang tinggal serumah dengan penderita kusta tipe PB juga memperlihatkan resiko yang lebih besar terkena kusta dibandingkan dengan mereka yang tidak kontak, namun risikonya lebih kecil dibandingkan kontak dengan penderita MB (ILA, 2002).

Ekskresi nasal *M.leprae* pada individu yang terinfeksi secara subklinis juga bertanggung jawab dalam hal transmisi penyakit, meskipun hal ini belum dapat dibuktikan (ILA, 2002). Pada daerah endemis didapati DNA *M.leprae* pada apusan hidung orang sehat, keadaan ini dijumpai juga pada pekerja rumah sakit kusta dan sejumlah besar proporsi orang yang hidup di daerah endemis memperlihatkan seropositif terhadap antigen spesifik *M.leprae* (Izumi, 1999; ILA, 2002).

2. Status sosial ekonomi, nutrisi, lingkungan dan perilaku

Telah diketahui dengan jelas bahwa faktor sosioekonomi memainkan peranan penting pada kusta. Salah satu gambaran yang jelas berupa penurunan insidens kusta pada

beberapa bagian dunia dihubungkan dengan adanya perbaikan status sosioekonomi (Noordeen, 1994; ILA, 2002). Beberapa penelitian yang dilakukan memperlihatkan adanya hubungan yang penting antara resiko kusta dengan kondisi rumah, dimana kondisi rumah yang baik berhubungan dengan penurunan resiko kusta, sementara kondisi rumah yang tidak memenuhi syarat, misalnya kelembaban dan pertukaran udara yang kurang berhubungan dengan peningkatan resiko kusta (ILA, 2002).

Faktor kepadatan penduduk dan kepadatan anggota keluarga yang tinggal dalam satu rumah mempengaruhi kesempatan seseorang untuk tertular kusta (Izumi, 1999).

Faktor nutrisi juga mempengaruhi penularan *M.leprae* (ILA, 2002; Meima and Irgens, 2002). Kondisi nutrisi yang membaik pada pertengahan abad 19 dan juga perbaikan pendapatan perkapita membuat populasi Norwegia lebih resisten terhadap infeksi *M.leprae* (Meima and Irgens, 2002).

Pada studi epidemiologis yang dilakukan di Brazil didapatkan bahwa tingkat pendidikan yang rendah, kondisi kekurangan makanan, mandi seminggu sekali ditempat terbuka selama lebih dari 10 tahun dan mengganti alas tidur lebih dari dua minggu sekali memiliki korelasi dengan terjadinya kusta. Pada daerah endemis kusta tersebut sebagian besar kasus tidak memiliki kontak serumah dengan penderita kusta, ini menimbulkan pemikiran kemungkinan terjadinya pola transmisi selain dari manusia ke manusia (Kerr-Pontes *et.al.*, 2006).

3. Faktor genetik

Faktor genetik telah lama dipertimbangkan berperan pada terjadinya penyakit kusta pada suatu kelompok tertentu. Pada pengamatan yang dilakukan pada suatu kelompok masyarakat terlihat pada kelompok individu tertentu dapat berkembang menjadi kusta,

sedangkan kelompok lainnya tidak berkembang menjadi kusta, tidak dapat disangkal bahwa faktor genetik host berperan penting (Noordeen, 1994). Selain itu perbedaan spektrum manifestasi klinis penyakit kusta yang terjadi dapat bergerak dari kutub ringan (Tuberkuloid) sampai ke kutub berat (lepromatous) seiring dengan penurunan *cell mediated immunity* (CMI) secara bertahap. Perubahan derajat imunitas seluler seseorang terhadap infeksi suatu mikroorganisme patogen diatur oleh faktor genetik. Perubahan tersebut timbul karena adanya predisposisi genetik (Kandouw, 1999).

Scollard *et.al* (2006) menyatakan beberapa faktor genetik yang mempengaruhi respon imun alami terhadap *M.leprae*, yaitu gen *PARK2/PACRG* dan *NRAMP1*, sedangkan yang mempengaruhi respon imun adaptif yaitu gen HLA, Chromosome 10p13, TAP, *TNFA*, TLRs, dan *VDR*.

2.2.5 Mekanisme respon imun

Respon imun setelah terinfeksi *M. leprae* sangat kompleks, melibatkan imunitas selular dan humoral. Sebagian besar gejala dan komplikasi penyakit ini disebabkan oleh reaksi imunologi terhadap antigen yang ditimbulkan oleh *M. leprae*. Jika respon imun yang terjadi setelah infeksi baik, maka multiplikasi bakteri dapat dihambat pada stadium yang lebih awal dan perkembangan tanda dan gejala klinis selanjutnya dapat dicegah (Harboe, 1994).

M. leprae merupakan parasit obligat intrasellular, sehingga respon imun selular memegang peran lebih penting dalam ketahanan tubuh terhadap infeksi. Respon imun selular sendiri merupakan hasil dari aktivasi makrofag dengan meningkatkan kemampuan untuk menekan multiplikasi atau menghancurkan bakteri (Harboe, 1994).

Meskipun *M. leprae* tidak dapat dihancurkan dengan antibodi humoral, basil kusta menstimulasi produksi antibodi humoral terhadap berbagai variasi antigen basil tersebut (WHO, 2003).

Untuk menghadapi rangsangan dari luar tubuh dikenal dua macam tingkatan sistem kekebalan tubuh, yaitu sistem imun alami dan sistem imun adaptif. Perbedaan utama keduanya adalah mengenai spesifisitas dan *immunologic memory*. Adanya defek imunologis pada kusta yang bersifat spesifik menunjukkan bahwa gangguan yang terjadi adalah pada tingkat imunitas adaptif dan bukan pada tingkat imunitas alami. Dengan demikian gangguan dapat terjadi pada tingkat sel penyaji antigen (*Antigen Presenting Cell / APC*), limfosit T atau B, atau pada proses pembentukan limfokin atau antibodi (Job, 1994; Agusni, 1998).

2.2.5.1 Respons imun alami

M. leprae masuk ke dalam tubuh dan berhasil melewati sistem pertahanan lapis pertama yang akan memfagosit, 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 sistem imunitas yang ada (Agusni, 1998).

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*. Sel Schwann adalah *non profesional phagocyte* serta tidak mengekspresikan molekul MHC tipe II di permukaannya, kecuali bila sudah diaktifkan oleh interferon-gamma (IFN- γ). Dengan tidak adanya MHC tipe II ini maka sel Schwann

yang terinfeksi tidak dapat berkomunikasi dengan sel limfosit T, sehingga kuman di dalam sel Schwann tidak terdeteksi oleh sistem imun. Karena *M. leprae* sendiri tahan terhadap lisosim, maka kuman tersebut dapat berkembang biak di dalam sel Schwann. (Sampaio, 1998; Kandouw, 1999; Abbas *et.al.*, 2000).

Bila sel Schwan mati dan pecah maka *M. leprae* akan keluar dan menyebar. *M. leprae* akan ditangkap kembali oleh sel-sel fagosit lain termasuk sel Schwann. Respon imun seluler akan bekerja bila kuman ditangkap oleh sel fagosit profesional khususnya makrofag. Setelah dicerna dan disajikan ke MHC kelas II maka sel Th/CD4⁺ akan mengenal dan selanjutnya dimulailah rangkaian imunitas seluler (Kandouw, 1999).

2.2.5.2 Respon imun adaptif

Setelah *M. leprae* yang masuk dikenal oleh sistem imun tubuh, maka dimulailah proses imunitas yang spesifik. Oleh karena *M. leprae* adalah kuman yang obligat intrasellular maka penghancuran kuman yang efektif adalah melalui respon imun seluler. Pada individu yang sehat rangkaian respons ini akan segera berlangsung dengan hasil akhir penghancuran *M. leprae* baik penghancuran di dalam makrofag maupun melalui penghancuran sel target oleh sel T sitotoksik (Tc). Respon imun seluler pada penyakit kusta ditujukan untuk mengeliminasi kuman *M. leprae* yang hidup dan berkembang di dalam sel-sel tubuh (Abulafia and Vignale, 1999).

Teori yang klasik tentang imun seluler penyakit kusta dimulai dengan makrofag yang menangkap dan memproses antigen tidak terjadi kontak dengan sel limfosit T yang akan memproduksi IFN- γ untuk mengaktifkan makrofag tersebut sebagai penghancuran antigen (Sampaio, 1998).

Makrofag yang telah menangkap dan menyajikan antigen akan mengaktifkan sel limfosit $CD4^+$ dan $CD8^+$, menghasilkan proliferasi dan diferensiasi menjadi beberapa jenis sel limfosit yang aktif. Terbentuknya beberapa jenis sel limfosit T sitotoksik (Tc) dan limfosit $CD4^+$ yang memproduksi sitokin (Th), serta IFN- γ dari sel NK memperkuat penghancuran kuman dalam makrofag. (Abbas *et.al.*, 2000).

Limfosit T memegang peranan sentral dalam respon imun adaptif terhadap *M. leprae*. Limfosit T tidak mampu secara langsung mengenali *naive antigen*, sel T hanya mampu mengenali polipeptida spesifik yang dikenalkan oleh APC melalui molekul MHC. Sel T mengenali antigen yang dipresentasikan molekul MHC melalui kompleks *T Cell Reseptor* (TCR) dan *Cluster of Differentiation 3* (CD3) yang terdapat pada permukaan sel T (Kaufmann, 1994).

Peptida yang dihasilkan dari fagositosis *M. leprae*, dipresentasikan oleh APC melalui molekul MHC tipe II kepada sel T $CD4^+$, sedangkan protein yang disekresikan di dalam sitoplasma juga didegradasi dan dipresentasikan oleh MHC tipe I kepada sel T $CD8^+$. Jadi *M. leprae* mampu menginduksi baik sel Th maupun Tc (Kaufmann, 1994).

Presentasi antigen oleh molekul MHC merupakan faktor esensial untuk memulai aktivasi sel T, tetapi masih membutuhkan signal/kostimulator yang lain, misalnya sitokin (Kaufmann, 1994). Sitokin yang diproduksi pada awal infeksi mempengaruhi diferensiasi sel T $CD4^+$ menjadi sel Th1 atau sel Th2. Perkembangan sel ini sangat menentukan respon imun adaptif apa yang akan mendominasi, yaitu aktivasi makrofag (respon imun seluler) atau produksi antibodi (respon imun humoral) (Abulafia *and* Vignale, 1999).

Respon imun humoral terhadap *M. leprae* merupakan aktifitas sel limfosit B yang berada dalam jaringan limfosit 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. Tetapi pada penyakit kusta fungsi respon imun humoral ini tidak efektif malahan justru menyebabkan timbulnya beberapa penyakit karena terbentuknya berlebihan (Harboe, 1994).

2.2.6 Patogenesis dan perjalanan klinik

Sampai saat ini belum diketahui secara pasti bagaimana cara penularan penyakit kusta. Secara teoritis penularan ini dapat terjadi melalui saluran nafas bagian atas dan melalui kontak kulit yang tidak utuh, kemudian melalui aliran darah dan limfe, *M.leprae* menuju tiga target utama yaitu jaringan saraf tepi (Sel Schwann), pembuluh darah kecil (Sel endotelial dan perisit), dan sistem monosit makrofag (Abulafia and Vignale, 1999).

M.leprae merupakan parasit obligat intraselular yang terutama terdapat pada sel makrofag di sekitar pembuluh darah superficial pada dermis atau sel Schwann di jaringan saraf. Bila *M.leprae* masuk ke dalam tubuh, maka tubuh akan mengeluarkan makrofag (berasal dari sel monosit darah, sel mononuklear, histiosit) untuk memfagositnya (Abulafia and Vignale, 1999).

Perjalanan klinik penyakit kusta merupakan suatu proses yang lambat dan berjalan bertahun-tahun, sehingga acapkali penderita tidak menyadari proses penyakit di dalam tubuhnya. Setelah melewati masa inkubasi yang cukup lama (sekitar 2-5 tahun) akan muncul gejala awal penyakit yang bentuknya belum khas berupa bercak dengan sedikit gangguan sensasi pada kulit disertai berkurangnya produksi keringat setempat. Keadaan ini disebut fase indeterminate, dimana kelainan yang terjadi masih belum dipengaruhi sistem kekebalan tubuh, yang dapat sembuh spontan, menetap atau berkembang menjadi bentuk-bentuk lain dari spektrum kusta (Amiruddin dkk, 2003).

Dalam beberapa tahun setelah kelainan klinik yang pertama ditemukan, biasanya akan muncul gejala klinik yang spesifik. Kelainan ini bervariasi, bisa pada kulit, saraf tepi maupun organ-organ lainnya. Bentuk kelainan yang terjadi tergantung tipe penyakit kusta dan berkaitan erat dengan status imunologik penderita (Kaufmann, 1994).

Timbulnya manifestasi klinik kusta sebagai akibat adanya multiplikasi *M.leprae* dan reaksi tubuh terhadap basil. Mekanisme pertahanan tubuh yang berperan terutama sistem imunitas seluler. Bila *M.leprae* masuk ke dalam tubuh yang peka, maka penyakit akan timbul dan tipenya tergantung pada reaksi imunitas seluler penderita. Tetapi pada kebanyakan orang yang terinfeksi *M.leprae*, hanya akan mengalami infeksi subklinik tanpa menimbulkan gejala klinik dan dapat sembuh secara spontan (Harboe, 1994).

2.2.7 Gejala klinik

a. Tipe Tuberkuloid Tuberkuloid (TT)

Lesi ini mengenai kulit maupun saraf. Lesi kulit bisa berjumlah satu atau beberapa, bisa berupa makula atau plak, berbatas jelas dan pada bagian tengah dapat ditemukan lesi yang mengalami regresi atau penyembuhan di tengah. Permukaan lesi dapat bersisik dengan tepi yang meninggi, bahkan dapat menyerupai gambaran psoriasis. Tanda ini dapat disertai penebalan saraf perifer yang biasanya teraba, hilangnya rasa dan kelemahan otot (Amiruddin, 1998).

b. Tipe Borderline Tuberkuloid (BT)

Lesi tipe ini menyerupai tipe TT, berupa makula anestesi atau plak yang sering disertai lesi satelit dipinggirnya, jumlah lesi satu atau beberapa, dengan gambaran hipopigmentasi, kulit kering atau skuama jelas seperti pada tipe TT. Gangguan saraf tidak

seberat tipe TT dan biasanya asimetrik. Pada umumnya terdapat lesi satelit di dekat saraf perifer yang menebal (Amiruddin, 1998).

c. Tipe Borderline Borderline (BB)

Tipe BB merupakan tipe yang paling tidak stabil. Tipe ini disebut juga sebagai bentuk dimorfik. Lesi dapat berbentuk makula infiltrat. Permukaan lesi dapat mengkilat, batas lesi kurang jelas dengan jumlah lesi melebihi tipe BT dan cenderung simetrik. Lesi sangat bervariasi baik ukuran, bentuk maupun distribusinya. Bisa didapat lesi *punched out*, yaitu hipopigmentasi yang oval pada bagian tengah, batas yang jelas yang merupakan ciri khas dari tipe ini (Amiruddin, 1998).

d. Tipe Bordeline Lepromatosa (BL)

Secara klasik lesi dimulai dengan makula. Awalnya hanya jumlah sedikit, kemudian 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 simetrik dan beberapa nodus tampak melekung pada bagian tengah. Lesi bagian tengah sering tampak normal dengan pinggir di dalam infiltrat lebih jelas dibandingkan pinggir luarnya, dan beberapa plak tampak seperti *punched out* (Amiruddin, 1998).

e. Tipe Lepromatus Lepromatosa (LL)

Jumlah lesi sangat banyak, simetris, permukaan halus, lebih eritem, mengkilat, berbatas tidak tegas dan tidak ditemukan gangguan anastesi dan anhidrosis pada stadium dini. Pada stadium lanjut tampak penebalan kulit yang progresif, cuping telinga menebal, garis muka menjadi kasar dan cekung membentuk *facies leonine*, yang dapat disertai madarosis, iritis dan karatitis. Lebih lanjut dapat terjadi deformitas pada hidung, dapat

disertai pembesaran kelenjar limfe, orkitis yang selanjutnya dapat menjadi atropi testis, kerusakan saraf dermis menyebabkan gejala *stocking and glove anaesthesia* (Amiruddin, 1998).

2.2.8 Klasifikasi

Terdapat beberapa sistem klasifikasi yang dipakai dalam diagnosis penyakit kusta, antara lain:

a. Klasifikasi Madrid (1953) :

- 1) *Indeterminate* (I)
- 2) *Tuberculoid* (T)
- 3) *Bordeline* (B)
- 4) *Lepromatosa* (L)

b. Klasifikasi Ridley-Jopling (1962) :

- 1) *Tuberculoid leprosy* (TT)
- 2) *Bordeline tuberculod leprosy* (BT)
- 3) *Mid bordeline leprosy* (BB)
- 4) *Bordeline lepromatous leprosy* (BL)
- 5) *Lepromatous leprosy* (LL)

c. Klasifikasi WHO (1981) dan modifikasi WHO (1988) :

- 1) *Pausibasilar* (PB)

Termasuk kusta tipe TT dan BT menurut kriteria Ridley dan Jopling atau tipe I dan T menurut klasifikasi Madrid dengan BTA negatif.

2) *Multibasilar* (MB)

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

Adapun klasifikasi yang banyak digunakan dalam bidang penelitian adalah klasifikasi menurut Ridley dan Jopling yang mengelompokkan penyakit kusta menjadi 5 kelompok berdasarkan gambaran klinis, bakteriologis, dan histopatologis (Agusni, 1997; Amiruddin dkk, 2003). Lebih lanjut Kandouw (2001) menjelaskan bahwa klasifikasi Ridley dan Jopling dirasa paling tepat penggunaannya karena mempunyai korelasi dengan imunitas penderita.

2.2.9 Diagnosa

Untuk menetapkan diagnosis penyakit kusta, perlu dicari tanda-tanda pokok atau *cardinal signs*, yaitu :

1. Lesi (kelainan) kulit yang mati rasa.

Kelainan kulit/lesi dapat berbentuk bercak-bercak keputihan (*hypopigmentasi*) atau kemerah-merahan (*erithematous*) yang mati rasa (*anaesthesi*).

2. Penebalan syaraf tepi yang disertai dengan gangguan fungsi syaraf.

Gangguan fungsi syaraf ini merupakan akibat dari peradangan kronis syaraf tepi (*neuritis perifer*). Gangguan fungsi syaraf dapat berupa:

a) Gangguan fungsi sensoris: mati rasa.

b) Gangguan fungsi motoris: kelemahan otot (*parese*) atau kelumpuhan (*paralise*).

c) Gangguan fungsi otonom: kulit kering dan retak-retak.

3. Adanya basil tahan asam di dalam kerokan jaringan kulit (BTA positif).

Seseorang dinyatakan sebagai penderita kusta bilamana terdapat satu dari tanda-tanda utama di atas. Pada dasarnya sebagian besar penderita dapat di diagnosis dengan pemeriksaan klinis. Namun demikian pada penderita yang meragukan dapat dilakukan pemeriksaan kerokan kulit (Depkes RI, 2007).

2.2.10 Pengobatan

Setelah diagnosis kusta ditegakkan, harus segera dilakukan tindakan atau tatalaksana yang meliputi:

1. Pengobatan secara kausal.

Pada era sebelum tahun 1940 untuk mengobati kusta digunakan suntikan minyak *chaulmogra*, namun cara ini menimbulkan banyak efek samping dan perlu waktu sangat lama (Trautman, 1994). Sejak ditemukannya DDS (*Diamino-Diphenyl Sulphone*) tahun 1942 dimulailah era kemoterapi antikusta yang menunjukkan hasil yang nyata secara klinik dan bakteriologik. Namun setelah 20 tahun digunakan monoterapi, muncul laporan adanya kasus-kasus resisten terhadap DDS. Oleh karena itu, WHO pada tahun 1980 menerapkan metode pengobatan kombinasi MDT-WHO (Rifampisin, DDS, dan Clofazimine) (Scollard *et.al.*, 2006).

2. Pengobatan untuk penyulit yang timbul dan pencegahan kecacatan

Dalam perjalanan klinik serta pengobatan kusta, seringkali timbul penyulit seperti reaksi neuritis, timbulnya tukak pada kaki dan lain-lain. Untuk keadaan yang demikian diperlukan penanganan khusus, termasuk obat-obat tambahan disamping pengobatan MDT. Pencegahan kecacatan diperlukan jika terjadi kerusakan syaraf dan luka, untuk hal ini pekerja kesehatan perlu memberi nasehat, bantuan dan dukungan kepada penderita untuk

memelihara dan menjaga kaki, tangan, maupun matanya dengan penanganan khusus (ILEP, 2002; Depkes RI, 2007).

3. Pengobatan suportif

Umumnya obat kemoterapi mempunyai efek samping terhadap hepar dan darah, sebaiknya disamping pengobatan tersebut diberikan pula pengobatan suportif, misalnya obat anti anemia serta vitamin B1 untuk perbaikan fungsi saraf tepi yang terganggu akibat proses penyakit (Depkes RI, 2007).

4. Rehabilitasi medik

Bagi penderita kusta yang terlanjur menjadi cacat akibat terlambat berobat, setelah selesai pengobatan kemoterapi diperlukan tindakan rehabilitasi secara medik untuk cacatnya. Tindakan yang dilakukan tergantung jenis cacat yang terjadi dan hasilnya juga tergantung pada tingkat kecacatan yang terjadi. Semakin awal dan ringan cacatnya maka akan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan bila cacatnya sudah parah. Dalam rehabilitasi medik ini mencakup usaha fisioterapi, operasi rekontruksi cacat kusta dan bila terpaksa dilakukan tindakan bedah amputasi yang disusul dengan pemakaian protesa (Smith, 1996; Smith, 2000).

5. Rehabilitasi sosial

Sebagai akibat dari lamanya sakit serta kecacatan yang diderita, banyak penderita kusta kehilangan pekerjaannya. Adanya faktor *lepro-fobia* di masyarakat juga menyulitkan penderita untuk mendapatkan pekerjaan, bahkan keluarganya sendiri pun acapkali menolak kehadiran penderita di rumahnya. Untuk itu perlu dijalankan rekayasa sosial guna menyelesaikan program pengobatan lepra secara lengkap. Rekayasa sosial bertujuan untuk mengembalikan para mantan penderita kusta yang telah sembuh agar dapat diterima

masyarakat dan mereka tidak merasa tersisih dari masyarakat. Mereka juga diharapkan dapat hidup secara mandiri tanpa harus tergantung pada belas kasihan orang lain (Vyas *et.al.*, 1982; Mudatsir, 2003).

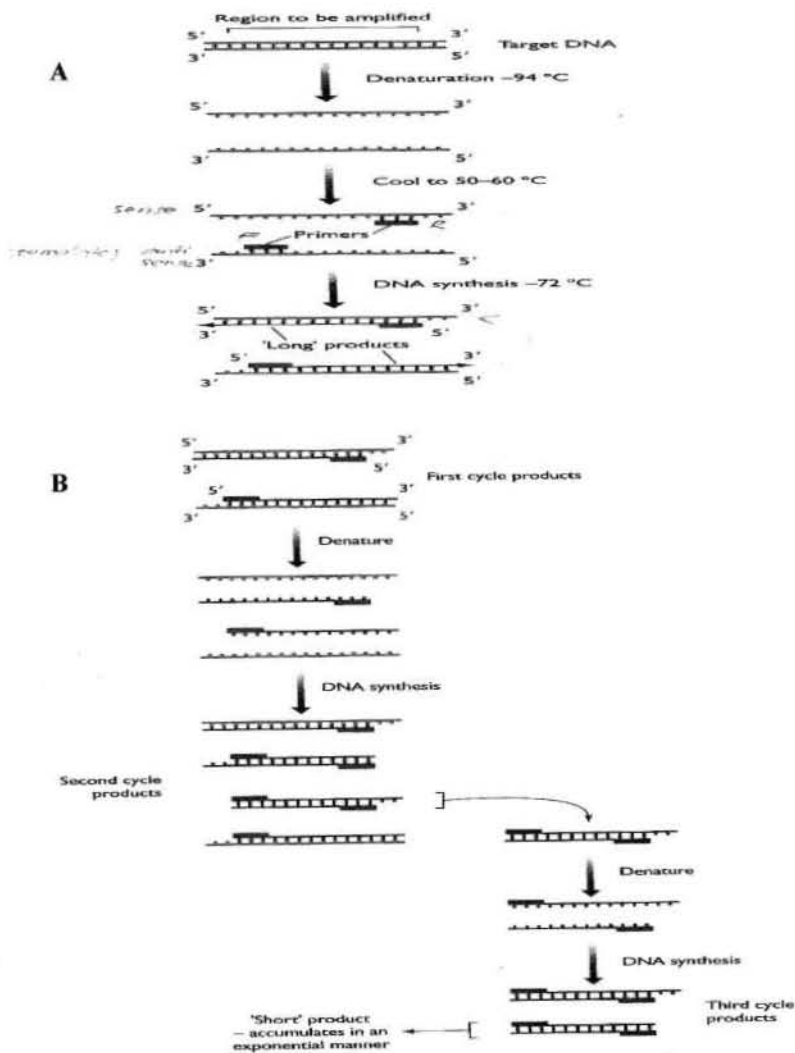
2.3 Deteksi *Mycobacterium leprae*

Diagnosa penderita kusta sebagian besar ditegakkan berdasarkan gejala klinis disertai pemeriksaan bakteriologis, namun cara tersebut memiliki banyak kekurangan, karena penyakit kusta dapat menunjukkan gejala yang mirip dengan penyakit lain seperti *Pityriasis versicolor*, *Pityriasis alba*, *Psoriasis vulgaris*, *Mycosis superficialis* dan TB cutis (Agusni, 1997).

Deteksi basil *M.leprae* dilakukan dengan pemeriksaan bakteriologis melalui pengecatan Basil Tahan Asam (BTA) menggunakan pewarna Ziehl Neelsen (Rees and Young, 1994). Pemeriksaan BTA bersifat tidak spesifik dalam mendeteksi basil *M.leprae*, karena juga dapat memberikan hasil positif dengan mikobakteria lain, apalagi untuk sampel yang berasal dari lingkungan (Adriaty, 2005). Sedangkan dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). memberikan hasil yang cukup sensitif yakni dapat mendeteksi 1-100 bakteri (Santos *et.al.*, 1994) dan juga spesifik (Donoghue and Spigelman, 2001).

PCR adalah suatu teknik enzimatik *in vitro* yang digunakan untuk menghasilkan gugus DNA spesifik dalam jumlah besar dan dalam waktu singkat melalui langkah *denaturation*, *annealing* dan *extension* pada temperatur yang berbeda (Wichitwechekarn *et al.*, 1996; Agusni, 2001). Proses PCR merupakan proses amplifikasi asam nukleat dari suatu DNA target dengan hasil akhir jumlah eksponensial amplicon. Untuk memulai suatu proses PCR, DNA target dicampur dengan Taq DNA polymerase, sepasang primer

oligonukleotida, dan kebutuhan nukleotida untuk proses amplifikasi. Reaksi kemudian dimulai dengan menginkubasi campuran tersebut pada suhu 94°C untuk denaturasi (*denaturation*) *double stranded* DNA menjadi *single stranded*, kemudian 50-60°C untuk perlekatan primer (*annealing*) pada DNA target, dan yang terakhir 72°C sebagai suhu optimum dari taq polymerase untuk memulai sintesis DNA (*extension*). Inkubasi kemudian diulang sampai beberapa siklus dengan hasil akhir produk didapatkan penjumlahan eksponensial 2^n (n =jumlah siklus) (Brown, 2002).



Gambar 2.5 Proses tahapan PCR A. Siklus pertama, B.Siklus kedua dan seterusnya (Brown, 2002).

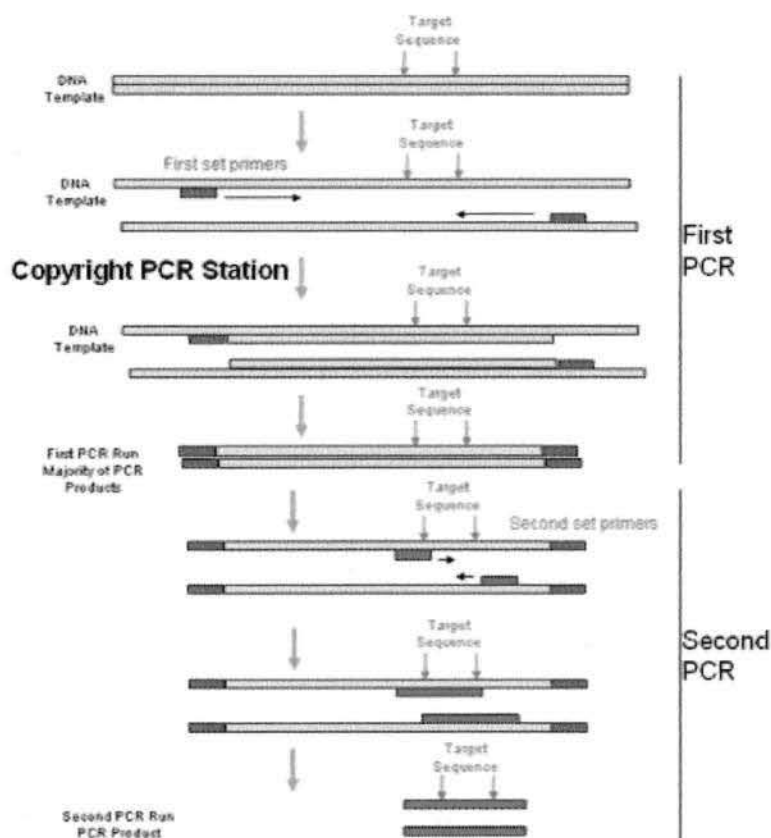
Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, PCR mempunyai tingkat spesifitas dan sensitifitas yang tinggi serta dalam waktu yang cepat dapat digunakan untuk mendeteksi *M. leprae* pada penderita kusta dengan gejala klinik maupun penderita subklinik. Amplifikasi dilakukan pada berbagai potongan gen yang berbeda dari *M. leprae*. Termasuk gen yang mengkode berbagai macam protein *M. leprae* (18 kDa, 36 kDa, 65 kDa) serta *leprosy serum reactive* (LSR), rRNA dan *repetitive sequences* (Hartskeerl *et al.*, 1989; Santos *et al.*, 1994; Wichitwechekarn *et al.*, 1995; Katoch and Sharma, 2000).

Pada penelitian sekarang ini, semakin banyak dilaporkan penggunaan PCR untuk mendeteksi *M. leprae* dari berbagai spesimen, seperti spesimen dari jaringan biopsi, hapusan mukosa hidung, jaringan hewan coba, bahkan dari sumber air dan tanah di lingkungan sekitar tempat tinggal penderita di daerah endemis kusta (Misra *et al.*, 1995; Izumi *et al.*, 1999; Matsuoka *et al.*, 1999; Izumi *et al.*, 2002; Agusni *et al.*, 2004; Rahimah, 2004; Adriaty, 2005; Adriaty *et al.*, 2005, Lavania *et al.*, 2006; Lavania *et al.*, 2008).

Proses PCR untuk sampel lingkungan, khususnya sampel tanah, dapat terganggu karena adanya suasana *humic acid*. Hal ini dapat diatasi dengan penambahan potassium asetat pada sampel tanah sebelum proses PCR (Lavania *et al.*, 2008).

Faktor yang paling penting dalam PCR adalah karakteristik *primer* dan bagaimana *primer* tersebut spesifik berikatan dengan target. Berbagai variasi teknik PCR telah dilaporkan, meliputi amplifikasi berbagai rangkaian DNA target yang telah digunakan untuk deteksi *M. leprae*. Umumnya terdapat rangkaian DNA yang mengkode sebagian besar antigen seperti 18 kDa, 36 kDa, 65 kDa, atau rangkaian penyandi non-antigen seperti *M. leprae* specific repetitive sequence atau ribosomal RNA sequences (Misra *et al.*, 1995; Sharma *et al.*, 1996; Donoghue and Spigelman, 2001).

Penggunaan teknik PCR dalam mendeteksi DNA *M. leprae* dapat menggunakan beberapa cara, salah satunya adalah *Nested PCR*. *Nested PCR* berarti menggunakan dua pasang primer untuk *locus* DNA. Penggunaan primer pertama akan mengamplifikasi *locus* yang sama seperti pada *single PCR*, sedangkan pasangan primer kedua (*nested primer*) akan melekat pada produk PCR pertama dan akan menghasilkan produk PCR kedua yang lebih pendek dari produk PCR pertama. Pemikiran logis dibalik ini adalah bahwa probabilitas untuk mengamplifikasi *locus* yang salah akan kecil oleh karena akan diamplifikasi kedua kalinya oleh pasangan primer kedua, sehingga secara teoritis dapat meningkatkan spesifitas (Plikaytis *et al.*, 1990; Donoghue *et.al.*, 2005). Sedangkan kelemahan dari teknik PCR antara lain: dituntut peryaratan laboratorium yang tinggi, khususnya dalam persyaratan aseptik untuk menghindari kontaminasi yang dapat menyebabkan hasil positif palsu. Kendala lain adalah masih belum ditetapkan primer secara baku untuk *M.leprae* karena penggunaan berbagai potongan gen spesifik seperti tersebut di atas (Agusni, 2001).

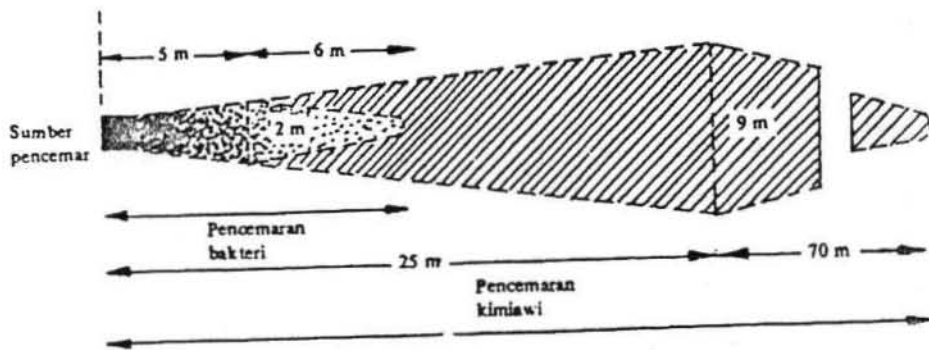


Gambar 2.6 Proses *nested* PCR (PCR station, 2007).

2.4 Pencemaran Tanah oleh Bakteri

Pencemaran yang ditimbulkan oleh bakteri terhadap air yang ada di dalam tanah dapat mencapai jarak 11 meter searah dengan arah aliran air tanah. Keadaan ini dapat diperpendek jaraknya apabila sumber pencemar belum mencapai permukaan air tanah, karena perjalanan bakteri di dalam tanah sangat dipengaruhi oleh aliran air di dalam tanah. Sedangkan pencemaran yang diakibatkan oleh kandungan bahan kimia dapat mencapai jarak sejauh 95 meter (Sugiharto, 1987).

Sebagai ilustrasi, berikut ini adalah suatu gambaran pola pencemaran yang ada di dalam tanah apabila suatu sumber pencemar diletakkan di dalam tanah :



Gambar 2.7 Penyebaran mikroorganismen dan bahan kimia dalam suatu pencemaran terhadap air tanah disekitarnya (Sugiharto, 1987).