

MYCOBACTERIUM LEPRAE
LEPROSY.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK
KPA
Tl. 02/11
Har
P

TESIS

**PROPORSI LIMFOSIT PENGHASIL IFN- γ DAN IL-10
TERHADAP ANTIGEN *Mycobacterium leprae* PADA KUSTA
TIPE BORDERLINE DENGAN
REAKSI REVERSAL YANG MENDAPAT MDT**

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA



JONI HARYANTO
090135023 M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006

**PROPORSI LIMFOSIT PENGHASIL IFN- γ DAN IL-10
TERHADAP ANTIGEN *Mycobacterium leprae* PADA KUSTA
TIPE BORDERLINE DENGAN
REAKSI REVERSAL YANG MENDAPAT MDT**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Imunologi
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
Surabaya**

Oleh :

**JONI HARYANTO
090135023 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

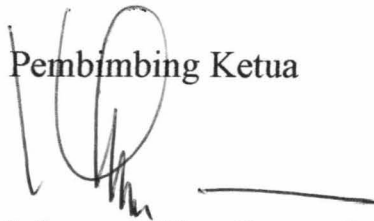
Tanggal, 27 Februari 2006

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 27 Agustus 2006

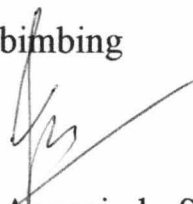
Oleh :

Pembimbing Ketua



Prof Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS.
NIP : 130 934 628

Pembimbing



Prof Dr Indropo Agusni, dr, SpKK(K)
NIP : 130 610 751

Mengetahui,
Ketua Program Studi Imunologi
Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga
Surabaya



Prof Dr Sri Hidajati Baju S, dr, DTM&H, MS.
NIP : 130 680 855

Telah diuji pada

Tanggal 27 Februari 2006

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr Sri Hidajati Baju S, dr, DTM&H, MS

Anggota : 1. Prof Dr Suhartono Taat Putra, dr., MS

2. Prof Dr Indropo Agusni, dr., Sp.KK (K)

3. Prof. Dr Fedik Abdurantam, drh.

4. Dr I Ketut Suidiana, Drs., M.Si

UCAPAN TERIMA KASIH

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya, sehingga tesis dengan judul **Proporsi Limfosit Penghasil IFN- γ Dan IL-10 Terhadap Antigen *Mycobacterium leprae* Pada Kusta Tipe Borderline Dengan Reaksi Reversal Yang Mendapat MDT** ini dapat diselesaikan.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof Dr Suhartono Taat Putra, dr., MS selaku Pembimbing Ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan berbagai saran dalam penyusunan tesis ini. Ucapan terima kasih yang setinggi-tingginya juga saya sampaikan kepada Prof Dr Indropo Agusni, dr., Sp.KK (K), yang telah banyak memberikan bimbingan dengan penuh perhatian dan kesabaran, bantuan dan arahan dalam penyusunan tesis ini.

Saya ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Pendidikan Nasional melalui Tim Manajemen Program Pascasarjana yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Pada kesempatan akhir selesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Surabaya, Prof Dr Med H Puruhito, dr, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.
2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya, Prof Dr H Muhammad Amin, dr, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Prof Dr H.M.S. Wiyadi, dr., Sp. THT (K), yang telah memberikan keizinan mengikuti Program Pascasarjana pada Program Studi Imunologi dan fasilitas laboratorium Gramik sebagai tempat pelaksanaan penelitian dengan teknik imunohistokimia.
4. Direktur Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya, Dr. H Slamet Riyadi, dr., DTM&H., MARS, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk melakukan penelitian di Poli MH RSU Dr. Soetomo Surabaya.
5. Ketua Program Studi Imunologi Dr Sri Hidajati Baju S, dr, DTM&H, MS, yang telah memberi kesempatan juga motivasi, arahan dan pembinaan pada diri saya dalam penyelesaian tesis ini.
6. Ketua Panitia Penguji Prof. Dr Sri Hidajati Baju S, dr, DTM&H, MS, dan anggota penguji Prof Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS., Prof Dr Indropo Agusni, dr, Sp. KK (K), Prof. Dr. Fedik Abdulantam, drh., dan Dr I Ketut Suidiana, Drs., M.Si, atas kesediaan menguji dan membimbing dalam perbaikan tesis ini.
7. Ketua Program Studi Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Prof H. Eddy Soewandojo, dr, Sp.PD., KTI, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan di Program Pascasarjana pada Program Studi Imunologi.

8. Tim Kelaikan Etik Penelitian, Prof Dr. Hariadi, dr., Sp. OG (K) dan seluruh staf, yang telah memberikan bimbingan dan arahan sehingga dapat tercapainya tujuan dalam penelitian ini.
9. Seluruh Responden, yang dengan penuh kesabarannya berkenan berpartisipasi aktif dalam kegiatan penelitian ini.
10. Teman seperjuangan, Mahasiswa Program Studi Immunologi Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya angkatan 2003/2004, Agung Dwi W, dr., Adi Prijo S., Drh., dan Setya Budi, Drh., atas segala dukungan dan kekompakan dalam pendidikan.
11. Istriku tercinta Sulistin, S.Pd dan syifa tersayang atas kesabaran, pengertian dan dukungan, sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan di Pasacasarjana Program Studi Immunologi ini dapat terselesaikan.

Tak lupa saya ucapkan terima kasih yang tiada tara kepada semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan namanya satu-persatu disini dan telah banyak memberikan bantuan baik moril maupun materiil sehingga tesis ini terselesaikan.

Akhir kata kukembalikan kepada Allah swt yang senan tiasa melimpahkan rahmat, taufiq, irodah dan inayah kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian tesis ini dan harapan penulis semoga tesis ini bermanfaat bagi kemaslahkhatan semua umat. Amin.

Surabaya, Februari 2006

RINGKASAN

RINGKASAN

**Proporsi Limfosit Penghasil IFN- γ dan IL-10 Terhadap
Antigen *Mycobacterium Leprae* Pada
Kusta Tipe Borderline dengan Reaksi Reversal yang Mendapat MDT**

Penyakit kusta disebabkan oleh mikroorganisme intraseluler yaitu *Mycobacterium leprae*, masih menjadi masalah kesehatan Dunia. Indonesia penyumbang kusta terbesar ke 4. *Multi Drug Therapy* (MDT-WHO) dapat mengakibatkan fragmentasi *M leprae* dan menimbulkan respon imun seluler reaktif yaitu kusta reaksi reversal. Walaupun telah diketahui bahwa limfosit T bertanggungjawab terhadap *M. leprae*, namun imunopatogenesis reaksi reversal penderita kusta tipe borderline yang mendapat MDT masih belum jelas. Kejadian kusta reaktif saat mendapatkan MDT sebesar 23,5%. Di RSUD Dr. Soetomo mempunyai jumlah kasus kusta 3353 pasien dan kasus baru 8,38%. Hal ini berpotensi menjadi kusta reaktif.

Penelitian imunopatogenesis reaksi reversal penderita kusta ini secara umum bertujuan untuk mengungkap perbandingan proporsi limfosit penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT.

Mycobacterium leprae terfragmentasi menimbulkan perubahan respon imun seluler yang cepat sehingga terjadi reaksi *delayed type hypersensitivity*. Aktivitas Th-1 mengekspresikan IFN- γ sangat potensial menimbulkan kejadian epiteloid mensekresi TNF- α , makrofag dan sel NK sangat aktif, sehingga muncul rasa nyeri dan terderness pada saraf, adanya neuritis dan inflamasi yang begitu cepat pada kulit. Keadaan yang dulunya hipopigmentasi menjadi eritema, lesi eritema makin mejadi eritematosa, lesi macula menjadi infiltrate, yang *infiltrate* makin infiltratif dan lesi lama makin bertambah luas. Granuloma dan kerusakan jaringan tidak hanya dipicu adanya penimbunan makrofag tetapi oleh karena TNF- α yang diproduksi epiteloid dan makrofag, juga IFN- γ yang diproduksi sel T. Telah diketahui bahwa TNF- α selain meningkatkan pembentukan dinding fibrotik yang membungkus *M leprae* juga memberikan kontribusi pada kerusakan jaringan.

Peningkatan reaksi *cell mediated immunity* terhadap antigen *M leprae* terfragmentasi. Secara histopatologi tampak adanya lesi akibat invasi sel *polymononuclear* (PMN) sehingga membentuk edema dan hiperemia. Umumnya kejadian kusta reaktif reversal setelah mendapatkan MDT sebelum 6 bulan. Sering komplikasi berupa neuritis akut dan kecacatan, tetapi terlihat tidak tampak sakit. Kasus ringan antiinflamasi dan bila berat dengan pemberian steroid sistemik.

Penelitian ini tergolong jenis penelitian studi analitik observasional, karena didalam tujuan penelitian ingin membuktikan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT. Penelitian yang dilakukan dengan menggunakan studi potong lintang, yaitu mencuplik sebuah sampel dari polpulasi dalam waktu tertentu, dilanjutkan pemeriksaan status penyakit pada waktu yang sama dari masing-masing kelompok sampel yang telah ditentukan

Data hasil rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ sebesar (84.25%) SD

± 4.505 pada tipe BT dan (82.82%) SD ± 3.599 pada tipe BB, sedangkan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada tipe BT non-reaksi (56.28%) SD ± 3.0917 dengan tipe BT reaksi reversal (26.11%) SD ± 8.4596 dan tipe BB non-reaksi (68.90%) SD ± 2.79758 dengan tipe BB reaksi reversal (41.62%) SD ± 3.03718 , mampu membuat komponen imunitas tubuh seperti sel epiteloid, makrofag dan fibrosit mengalami peningkatan aktivitas yang berpotensi menimbulkan gejala klinis kusta reaktif reversal. Hal ini sesuai dengan uji *One-Sample Kolmogorov Smirnov* rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 didapatkan $p > 0,01$ sehingga dapat dikatakan distribusi normal. Uji homogenitas dengan *Lavene Test* didapatkan $p > 0,01$ sehingga dapat dikatakan varians beberapa kelompok homogen, sehingga memenuhi syarat untuk uji Anava. Hasil uji Anava didapatkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ , dan IL-10 secara bermakna minimal lebih dari 1 kelompok.

Peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta reaksi reversal yang mendapat MDT merupakan bentuk aktivitas Th-1 merespon antigenisitas *M leprae* terfragmentasi akibat MDT tersebut telah jelas dan ini juga memperjelas immunopatogenesis reaksi reversal penderita kusta akibat pemberian MDT.

Penderita kusta tipe borderline non-reaksi yang mendapatkan terapi MDT sebelum 6 bulan agar di ketahui rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 untuk pencegahan dini kejadian reaksi reversal. Rumah Sakit yang melayani penderita kusta agar membuat program pemeriksaan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10, sehingga kejadian kusta reaktif dapat ditekan. Pemerintah, hendaknya memfasilitasi program pemeriksaan ini, sehingga kasus kusta reaksi reversal dapat ditekan dan perlu ada penelitian lanjutan agar hasil penelitian dapat di generalisasi dan menyederhanakan permasalahan klinik kusta reaksi reversal.

SUMMARY

**The Proportion of IFN-gamma and IL-10-Producing Lymphocyte to
Mycobacterium leprae Antigen in MDT-Receiving Borderline-Type
Leprosy Patients with Reversal Reaction**

Leprosy, which is caused by an intracellular microorganism, *Mycobacterium leprae*, remains a worldwide health problem. Indonesia holds the fourth highest contributor of leprosy in the world. Multi Drug Therapy (MDT-WHO) may result in *M leprae* fragmentation and induce reactive cellular immune response, reversal reaction leprosy. Although it has been established that T lymphocyte is responsible to *M leprae*, the immunopathogenesis of reversal reaction in MDT-receiving borderline-type leprosy patients remains unclear. The incidence of reactive leprosy at the time of MDT-receiving was 23.5%. Dr Soetomo Hospital has leprosy case in 3353 patients and the rate of new cases is 8.38%. These cases may become potential reactive leprosy. This immunopathogenetic study on reversal reaction in leprosy patients was intended in general to disclose the proportion of IFN-gamma and IL-10-producing lymphocyte in skin lesion of MDT-receiving borderline-type leprosy patients with reversal reaction.

Mycobacterium leprae is fragmented, resulting in rapid change of cellular immune response, leading to delayed type hypersensitivity. The activity of Th-1 to express IFN-gamma is highly potential to induce the epitheloid to secrete actively TNF-alpha, macrophage, and NK cells, so that there will be pain and tenderness in nerve, the rapid presence of dermal neuritis and inflammation. The previous hypo pigmentation becomes erythema, and erythematous lesion becomes erythematosa. Macular lesion becomes infiltrate, and the latter become more infiltrative, so that the lesion becomes wider. Granuloma and tissue damage are not only triggered by macrophage augmentation, but also the augmentation of TNF-alpha produced by epitheloid and macrophage, as well as IFN-gamma produced by T cells. It is well-recognized that in addition to enhance the formation of fibrotic wall that encloses *M leprae*, TNF-alpha also contributes to tissue damage.

The increase of cell-mediated immunity reaction against *M leprae* antigen is fragmented. Histopathologically, there is a lesion due to the invasion of polymononuclear (PMN) cells, resulting in the formation of edema and hyperemia. In general, reversal reactive leprosy occurs after receiving MDT before 6 months. Complications often presence as acute neuritis and disability, although the patient does not look ill. Mild cases are overcome with anti-inflammatory, and the severe ones with systemic steroid. This study was an observational analytic study, as the objective of this study was to prove the mean of the proportion of IFN-gamma and IL-10-producing lymphocyte in skin lesion of MDT-receiving borderline-type leprosy patients with reversal reaction. This study used cross-sectional design. Samples was taken from the population in a certain time, and followed with the examination of disease status at the same time from each determined samples.

The mean proportion of IFN-gamma producing T lymphocyte was (84.25%) SD + 4.505 at BT type and (82.82%) SD + 3.599 at BB type, while the

mean proportion of IL-10 producing T lymphocyte at non-reactive BT was (56.28%) SD + 3.0917 with reversal reaction BT type (26.11%)SD + 8.4596 and non-reaction BB type (68.90%) SD + 2.79758 with reversal reaction BB type (41.62%) SD + 3.03718, were able to increase the activity of immunity components, such as epitheloids, macrophage, and fibrocyte, leading to potentially induce clinical symptoms of reversal reactive leprosy. It was also confirmed by the result of One-Sample Kolmogorov Smirnov test, in which the mean proportion of IFN-gamma-producing T lymphocyte had $p > 0.01$, showing a normal distribution. Homogeneity test with Lavene Test revealed $p > 0.01$, indicating that the variance of several groups were homogeneous, meeting the requirement for Anava test. The result of Anava test had $p = 0.0000$, which was < 0.01 , so that it could be concluded that there was significant difference in the mean proportion of IFN-gamma and IL-10 producing T lymphocyte minimally in more than 1 group. It was obvious that the increase of mean proportion of IFN-gamma producing T lymphocyte and the reduction of mean proportion of IL-10-producing T lymphocyte in skin lesion of reversal reaction leprosy patient who received MDT was a manifestation of Th-1 activity in response to MDT-resulting fragmented *M leprae* antigenicity. It also confirmed the immunopathogenesis of reversal reaction in leprosy patients due to MDT administration. The mean proportion of IFN-gamma and IL-10 producing T lymphocyte in non-reactive borderline-type leprosy patient receiving MDT therapy before 6 months should be identified to make early prevention of reversal reaction. Hospitals that provide treatment for leprosy patients should create a program for examining the mean proportion of IFN-gamma and IL-10 producing T lymphocytes to suppress the occurrence of reactive leprosy. The government should facilitate this examination program. Further studies are needed in order to generalize the results and simplify the clinical problem of reversal reaction leprosy.

ABSTRAK

ABSTRAK

Proporsi Limfosit Penghasil IFN- γ dan IL-10 Terhadap Antigen *Mycobacterium Leprae* Pada Kusta Tipe Borderline dengan Reaksi Reversal yang Mendapat MDT

Penelitian imunopatogenesis reaksi reversal penderita kusta ini secara umum bertujuan untuk mengungkap perbandingan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat *Multi Drug Therapy* (MDT). Sedangkan secara detail untuk membuktikan peningkatan proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT.

Penelitian ini tergolong jenis penelitian studi analitik observasional, karena didalam tujuan penelitian ingin membuktikan proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT. Penelitian yang dilakukan dengan menggunakan studi potong lintang, yaitu mencuplik sebuah sampel dari populasi dalam waktu tertentu, dilanjutkan pemeriksaan status penyakit pada waktu yang sama di sesuaikan kriteria inklusi yaitu : Umur antara 15 sampai 40 tahun, laki-laki, mendapat obat antikusta dengan tipe kusta borderline non-reaksi dan reaksi reversal yang belum mendapat obat reaksi.

Hasil penelitian dari 23 responden tipe kusta borderline non-reaksi dan 23 responden tipe kusta borderline reaksi reversal sebagai berikut : untuk rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ pada tipe BT (69,35%) SD \pm 2,8514, dan tipe BB (53,77%) SD \pm 4,2687 sedangkan tipe BT reaksi reversal (84,25%) SD \pm 4,5049 dan tipe BB reaksi reversal (82,82%) SD \pm 3,5990. Untuk rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada tipe BT (56,28%) SD \pm 3,0917 dan tipe BB (68,90%) SD \pm 2,7976, sedangkan tipe BT reaksi reversal (26,11%) SD \pm 8,4596 dan tipe BB reaksi reversal (41,62%) SD \pm 3,0372. Hasil uji Anava didapatkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 secara bermakna.

Perbandingan tersebut terlihat nyata pada limfosit T penghasil IFN- γ lebih tinggi pada kondisi reaksi reversal sedangkan limfosit T penghasil IL-10 lebih rendah pada kondisi reaksi reversal. Hal ini semakin menjelaskan bahwa bila terjadi aktivitas lebih dominan Th-1 mengekspresikan IFN- γ dari pada Th-2 mengekspresikan IL-10, sehingga respon komponen imunitas tubuh dapat menimbulkan gejala reaksi reversal.

Pada tipe kusta BT reaksi reversal dan tipe BB reaksi reversal mengalami peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan terjadi penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10. Jadi dapat disimpulkan bahwa kejadian reaksi reversal berbanding langsung terhadap peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10

Keywords : Kusta, reaksi reversal, IFN- γ , IL-10 dan MDT

ABSTRACT

The Proportion of IFN-gamma and IL-10-Producing Lymphocyte to *Mycobacterium leprae* Antigen in MDT-Receiving Borderline-Type Leprosy Patients with Reversal Reaction

The general objective of this immunopathogenetic study on reversal reaction in leprosy patients was to disclose the mean proportion of IFN-gamma and IL-10 producing T lymphocyte in skin lesion of Multi Drug Therapy (MDT)-receiving borderline-type leprosy patient with reversal reaction. The particular objective was to prove the increase of IFN-gamma and IL-10 producing T lymphocyte in skin lesion of Multi Drug Therapy (MDT)-receiving borderline-type leprosy patient with reversal reaction. This was an observational analytic study, as the objective of this study was to prove the proportion of IFN-gamma and IL-10-producing T lymphocyte in skin lesion of MDT-receiving borderline-type leprosy patient with reversal reaction. This study used cross-sectional design. Samples were recruited from population in certain time, followed with the examination of disease status at the same time, referred to the inclusion criteria, i.e., age of 15 - 40 years, male, receiving anti-leprosy drug, having non-reactive borderline-type leprosy, and the reversal reaction had not been treated with reactive drugs.

The result of study to 23 respondents with non-reactive borderline-type leprosy and 23 respondents with reversal reaction borderline-type leprosy was as follows: mean proportion of IFN-gamma producing T-lymphocyte in BT-type was (69.35%) SD + 2.8514, and BB type (53.77%) SD + 4.2687, while in reversal reaction BT type was (84.25%) SD + 4.5049 and reversal reaction BB type was (82.82%) SD + 3.5990. For the mean proportion of IL-10 producing T lymphocyte in BT type was (56.28%) SD + 3.0917 and BB type was (68.90%) SD + 2.7976, while in reversal reaction BT type was (26.11%) SD + 8.4596 and reversal reaction BB type was (41.62%) SD + 3.0372. The result of Anava test showed $p = 0.0000$ which was < 0.01 , so that it can be concluded that there was significant difference in the mean proportion of IFN-gamma and IL-10-producing T lymphocyte.

The difference was significant, in which IFN-gamma-producing T lymphocyte was high at reversal reaction, while IL-10-producing T lymphocyte was low at reversal reaction. This indicated that if there is an activity, Th-1 is more predominantly express IFN-gamma than Th-2 expressing IL-10, so that the response of immunity components may result in reversal reaction symptom.

In reversal reaction BT-type and BB type leprosy there was an increase in the proportion of IFN-gamma producing T lymphocyte and there is a reduction in the mean proportion of IL-10-producing T lymphocyte. As a conclusion, the occurrence of reversal reaction is directly comparable to the increase of mean proportion of IFN-gamma producing T lymphocyte and the reduction of the mean proportion of IL-10-producing T lymphocyte.

Keywords: leprosy, reversal reaction, IFN-gamma, IL-10, and MDT

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI

Daftar isi	xi
Daftar tabel	xiii
Daftar gambar	xiv
Daftar lampiran	xvi
Daftar Singkatan	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan umum	6
1.3.2 Tujuan khusus	6
1.4 Manfaat	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Aspek Umum Penyakit Kusta	8
2.1.1 Pengertian	8
2.1.2 Epidemiologi	8
2.1.3 Sejarah	11
2.1.4 Etiologi	11
2.1.5 Patogenesis penyakit kusta	12
2.1.6 Manifestasi klinis penyakit kusta	14
2.1.7 Klasifikasi penyakit kusta	15
2.1.8 Gambaran klinis lain	19
2.1.9 Diagnosis dan prognose penyakit kusta	20
2.2 Kusta Reaktif	21
2.2.1 Pengertian	22
2.2.2 Manifestasi kusta reaktif	22
2.2.3 Kejadian kusta reaktif	24
2.2.4 Imunopatologi kusta reaktif	26
2.2.5 Histopatologi kusta reaktif	28
2.3 Respon Imun Terhadap Antigen <i>Mycobacterium leprae</i>	30
2.3.1 Antigenesitas <i>Mycobacterium leprae</i>	31
2.3.2 Imunogenesitas terhadap <i>Mycobacterium leprae</i>	32
2.3.3 Peran sel T terhadap <i>Mycobacterium leprae</i>	34
2.3.4 Interaksi CMI dan Humoral	36
2.3.5 Peran sel B terhadap <i>Mycobacterium leprae</i>	37
2.3.6 Protein mirip reseptor	37
2.3.7 Predisposisi genetik	38
2.3.8 Toleransi imunologik	38

2.4	Penatalaksanaan Penyakit Kusta	39
2.4.1	Prinsip pengobatan kusta	40
2.4.2	Efek farmakologis obat kusta	41
2.4.3	Pengobatan kusta reaktif	42
2.5	Biopsi Penyediaan Jaringan	42
2.5.1	Metode parafin	44
2.5.2	Uji dekalsifikasi	45
2.5.3	<i>Freezing microtome</i>	46
2.5.4	Pewarnaan jaringan	46
2.6	Imunohistokimia	47
2.6.1	Prosedur pemeriksaan IL-10	47
2.6.2	Prosedur pemeriksaan IFN- γ	48
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN..	50
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian	50
3.2	Hipotesis	52
BAB 4	MATERI DAN METODE PENELITIAN	53
4.1	Rancangan Penelitian	53
4.2	Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	54
4.3	Variabel Penelitian Meliputi Klasifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel	56
4.4	Bahan Penelitian	58
4.5	Instrumen Penelitian	58
4.6	Lokasi dan Waktu Penelitian	60
4.7	Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data	60
4.8	Cara Pengolahan dan Analisa Data	61
4.9	Cara Sistesis	61
4.10	Etik Penelitian	62
BAB 5	HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN	63
5.1	Data Penelitian	63
5.2	Hasil dan Analisis Data	69
BAB 6	PEMBAHASAN	73
6.1	Pelaksanaan Penelitian	73
6.2	Penalaran Hasil Penelitian	76
6.3	Perpaduan Temuan Penelitian	79
6.4	Keterbatasan Penelitian	84
BAB 7	PENUTUP	85
7.1	Kesimpulan	85
7.2	Saran	85
DAFTAR PUSTAKA	87

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1 Kunjungan Kusta di Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya Tahun 2004	3
Tabel 2.1 Perbandingan Genome <i>Mycobacterium leprae</i> dan <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	12
Tabel 2.2 Perbedaan Kusta Reaktif Tipe 1 dan Tipe 2	26
Tabel 2.3 <i>Multidrug Therapy Untuk Multibacillary (MB) Leprosy</i>	41
Tabel 2.4 <i>Multidrug Therapy Untuk Pausibacillary (PB) Leprosy</i>	41
Tabel 2.5 <i>Multidrug Therapyfor Single Lesion Paucibacillary (SLPB)</i> <i>Leprosy</i>	41
Tabel 2.6 Efek Farmakologis Obat Kusta	41
Tabel 2.7 <i>Gene Mycobacterium leprae</i> terhadap Pengobatan.....	42
Tabel 2.8 Pengobatan Pada Kusta Reaktif.....	42
Tabel 4.1 Proporsi IFN- γ dan IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline.....	61
Tabel 5.1 Jumlah Responden Klien Kusta di Poli MH RSU Dr. Soetomo.....	62
Tabel 5.2 Rerata Proporsi IFN- γ dan IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline.....	69
Tabel 5.3 Uji One-Sample Kolmogorov-Smirnov Proporsi IFN- γ dan IL-10	71
Tabel 5.4 Test of Homogeneity of Variances	71
Tabel 5.5 Uji Anava Rerata Proporsi Limfosit T Penghasil IFN- γ dan IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta	72
Tabel 6.1 Perbandingan Rerata Proporsi Limfosit T Penghasil IFN- γ dan IL-10 pada Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta reaksi Reversal Yang Mendapat MDT	83

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Penyebaran Kusta di Dunia	9
Gambar 2.2 <i>Global distribution of leprosy, showing prevalence rates:</i>	10
Gambar 2.3 Tanda Kusta Awal	14
Gambar 2.4 Klasifikasi Kusta dari Ridley & Jopling, 1966	16
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	50
Gambar 5.1 Distribusi Responden Berdasarkan Waktu Pemberian Multi Drug Therapy Menurut WHO	63
Gambar 5.2 Distribusi Responden Berdasarkan Umur	64
Gambar 5.3 Hasil BTA + Penderita Kusta Tipe Borderline Yang Telah Mendapatkan MDT Kurang dari 6 bulan	64
Gambar 5.4 Distribusi Responden Berdasarkan Tipe Kusta Menurut Ridley & Jopling	65
Gambar 5.5 Histopatologi Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT	66
Gambar 5.6 Histopatologi Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BB	66
Gambar 5.7 Histopatologi Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BL	67
Gambar 5.8 Histopatologi Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT Dengan Reaksi Reversal	67
Gambar 5.9 Imunohistokimia IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT	68
Gambar 5.10 Imunohistokimia IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT dengan Reaksi Reversal	68
Gambar 5.11 Imunohistokimia IFN- γ Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT	68
Gambar 5.12 Imunohistokimia IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT dengan Reaksi Reversal	69
Gambar 5.13 Diagram Batang Rerata Proporsi IFN- γ dan IL-10 Lesi	

Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline	70
Gambar 5.14 Grafik Rerata Proporsi IFN- γ dan IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline.....	70

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Jadwal Kegiatan	92
Lampiran 2	Rincian Biaya	93
Lampiran 3	Penjelasan dan Informasi (<i>Informed Consent</i>)	94
Lampiran 4	Pernyataan Persetujuan	96
Lampiran 5	Lembar Persetujuan	97
Lampiran 6	Persetujuan Tindakan Medik	98
Lampiran 7	<i>Ethical Clearence</i>	99
Lampiran 8	Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi	100
Lampiran 9	Prosedur Pewarnaan Hematoxylin Eosin	101
Lampiran 10	Data Proporsi IFN- γ Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline	102
Lampiran 11	Data Proporsi IFN- γ Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline Reaksi Reversal	103
Lampiran 12	Data Proporsi IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline	104
Lampiran 13	Data Proporsi IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline Reaksi Reversal	105
Lampiran 14	<i>One Sample Kolmogorov-Smirnov Test</i>	106
Lampiran 15	LSD Multiple Comparisons	108

DAFTAR SINGKATAN

APC	= Antigen Presenting Cell
BB	= Borderline-borderline
BL	= Borderline Lepromatous
BT	= Bordeline tuberculoid
BTA	= Bakteri Tahan Asam
C3a	= Complement
CAM	= Clarithromycine
CD4	= Cluster of Differentiation 4
CD8	= Cluster of Differentiation 8
CDR	= Case Detection Rate
CLF	= Clofazimine
CMI	= Cell Mediated Immunity
CO ₂	= Carbon Dioxida
CTL	= Cytotoxic T Lymphocyt
D-DOPA	= D-dihydroxy phenylalanine
DDS	= Diaphenylsulfone
DNA	= Dioxiribonuclead Acid
DTH	= Delayed Type Hypersensitify
ENL	= Erythema nodosum lepromatosa
FNAB	= Fine Needle Aspiration Biopsy
GM-CSF	= Granulocyte-macrophag-colony stimulating factor
HLA	= Human Leucocyte Antigen
HSP	= Heat Shock Proteins
IFN- γ	= Interferon – gamma
Ig G	= Immunoglobulin G
Ig M	= Immunoglobulin M
IL	= Interleukin
kD	= Killo Dalton
LAM	= Lipoarabinomannan
LL	= Lepromatous-Lepromatous
LT	= Limfotoksin
LVFX	= Levofloxacin
MB	= Multi Basiler
MDT	= <i>Multi Drug Terapy</i>
MH	= Morbus Hansen's
MHC	= Major Histocompability Complex
MINO	= Minocycline
NK	= Natural Killer Cells
OFLX	= Sparfloxacin
PB	= Pausi Basiler
PGL-1	= Phenolic Glycolipid I
PMN	= Polymononuclear
PPDS	= Program Pendidikan Dokter Spesialis
RFP	= Rifampicine
ROS	= Reactive Oxigen Species

RSU	= Rumah Sakit Umum
SLPB	= Single Lesion Paucibacillary
SM	= Sebelum Masehi
SOP	= Standard Operating Procedures
SPFX	= Sparfloxacin
Tc	= Lymphocyt T cytotoxic
Th	= Lymphocyt T helper
TLR-1	= Toll-like receptor 1
TNF	= Tumor Necrosis Factor
Tr	= Lymphocyt T regulator
Ts	= Lymphocyt T supressor
TT	= Tuberculoid-Tuberculoid
WHO	= <i>World Health Organization</i>



BAB 1 PENDAHULUAN

BAB 1

PENDAHULUAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit kusta disebabkan oleh mikroorganisme intraseluler yaitu *Mycobacterium leprae*, sampai sekarang masih menjadi masalah kesehatan dunia. *Multi Drug Therapy* (MDT-WHO) mempunyai efek samping berupa reaksi kusta tipe 1 (*reversal reaction*) dan tipe 2 (*erithema nodosum leprosum*) (ENL). Reaksi reversal ini dapat terjadi pada semua tipe borderline. Walaupun telah diketahui bahwa limfosit T bertanggungjawab terhadap mikroorganisme intrasel, namun imunopatogenesis reaksi reversal penderita kusta tipe mid-borderline yang mendapat MDT masih belum jelas. (Pfaltzgraff, 1995)

Sistem ketahanan tubuh yang bertanggung jawab terhadap *Mycobacterium leprae* adalah limfosit T, yang terdiri atas subset Tc, Th, Ts dan Tr. Peran Tc (CD8⁺) telah diketahui sebagai sitolitik terhadap *Mycobacterium leprae*, sedangkan Th (CD4⁺) akan berdiferensiasi dan berproliferasi menjadi Th1 dan Th2. (Mosmann & Coffman, 1991; Sridharan, 2001; Abulafia, 1999) Interferon gamma (IFN- γ) dihasilkan oleh Th0, Th1, CD8⁺ dan sel NK yang dapat mengaktifkan makrofag, sedangkan IL-10 dihasilkan oleh Th2, dapat juga dihasilkan oleh monosit, makrofag dan sel B. Interleukin 10 menghambat Th1 dan sel NK untuk memproduksi sitokin. (Hamblin, 2003; Theze, 1999)

Perubahan aktivitas sistem ketahanan tubuh yang didapat (*adaptive*) yaitu respon imun seluler menuju ke respon imun humoral memungkinkan terdapat hubungan antara antigen *Mycobacterium leprae* terfragmentasi akibat MDT.

Aktivitas imun seluler dikendalikan oleh sel T yaitu $CD8^+$ dan $CD4^+$, sedangkan aktivitas imun humoral oleh sel B. Kejadian kusta merupakan kegagalan dalam sistem pertahanan alami dan $CD8^+$ melakukan proses sitolisis, maka Th1 mengambil peran untuk proses aktivasi makrofag dan CD8 melalui IFN- γ bersama TNF dan Th2 menghasilkan IL-4, IL-5, dan IL-6 untuk menstimulasi sel B dan plasma menghasilkan imunoglobulin spesifik, sedangkan IL-10 dihasilkan oleh Th2 untuk proses *down regulate* sitokin, namun proporsi limfosit penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe mid-borderline dengan reaksi reversal yang mendapatkan MDT masih belum jelas.

Di Norwegia penderita kusta yang mendapatkan MDT terjadi reaksi yang hebat sebanyak 1,1% pada tipe Pausi-Basiler (PB) dan 0,7% pada tipe Multi-Basiler (MB), Sedangkan studi retrospektif dari 386 penderita kusta di Nepal selama 21 bulan terdapat 28% reaktif tipe reversal dan 5,7% tipe *erithema nodul lepromatous* (ENL). Saat pertama kali kejadian reaksi reversal ditemukan setelah 2 bulan pengobatan dan umum terjadi sebelum 6 bulan pengobatan, tetapi bisa berlanjut sampai 12 bulan setelah pengobatan. (Britton, 2004; Moschella, 2004) Resiko kusta reaktif ini meningkat pesat setelah satu tahun mendapatkan MDT. (Van Brakel, 1994) Menurut Ganapati, Pai dan Kingsley (2003) hasil analisa dari 892 penderita kusta yang mendapat MDT-WHO mempunyai resiko terjadi reaktif sebanyak 5% lebih. Studi kohort retrospektif terhadap 786 penderita kusta di Banglades, resiko menjadi reaktif tiap tahunnya sebanyak 3,5% pada tipe PB dan 7,5% pada tipe MB. Laporan dari Pannikar dkk menyatakan terdapat 4 kusta reaktif tipe reversal dari 17 pasien kusta atau 23,5% pasien kusta terjadi reaksi reversal setelah mendapatkan MDT. (Michael Skacel, 2000) Tipe borderline kusta

dalam klasifikasi Ridley-Jopling (1962) secara teoritis lebih sering terjadi reaktif tipe reversal.

Indonesia peringkat 4 penyumbang penderita kusta terbanyak di dunia setelah India, Brazil dan Nepal. Pemberantasan penyakit kusta di Indonesia memang telah mencapai tingkat eliminasi, yakni kurang dari 1 per 10.000 penduduk, tetapi di 13 provinsi dan 111 kabupaten dari 30 provinsi masih diatas target eliminasi kusta menurut WHO. Daerah tersebut seperti Jawa Timur, Maluku dan Sulawesi Selatan prevalensi penderita kusta sekitar 0,3 hingga 6,5 per 10.000 penduduk. (Suyudi, 2003) Kunjungan penderita kusta di RSUD Dr Soetomo Surabaya pada tahun 2004, baik di rawat jalan dan rawat inap sebanyak 3353 orang, dengan rincian seperti dalam tabel 1.1 tersebut.

Tabel 1.1 Kunjungan Kusta di Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya Tahun 2004

Tipe Kusta Kriteria WHO	Tipe Kusta Kriteria Ridley & Jopling	Kunjungan		Σ
		Lama	Baru	
1	2	3	4	5
PB	TT	197	17	214
	BT	174	15	189
MB	BB	1137	98	1235
	BL	964	83	1047
	LL	600	68	668
Total		3072	281	3353

Case Detection Rate(CDR) penderita kusta tidak banyak perubahan dimana pada th 1990 sebanyak 0,8 per 10.000 penduduk dan di th 2001 sebanyak 0,62 per 10.000 penduduk. (Achmadi, 2004). Kejadian kusta di Indonesia masih cukup tinggi, bisa jadi jumlah kusta reaktif juga tinggi

Mycobacterium leprae yang berada dalam tubuh manusia yang mendapatkan MDT akan terfragmentasi sehingga terjadi jumlah antigen yang

sangat banyak. Keadaan ini dapat meningkatkan resiko perubahan imunitas secara mendadak. Menurut Murata (2003) reaksi kusta tipe reversal muncul 2 sampai 6 bulan setelah mendapatkan obat anti kusta. Sedangkan menurut Bryceson dan Jopling (2003) reaksi kusta tipe ENL lebih banyak terjadi pada pengobatan 6 bulan berikutnya sampai tahun kedua setelah terapi, tetapi menurut Kramansky, Edmonson dan Peters (1986) kejadian reaktif bisa mendadak setelah pemberian MDT. Reaksi kusta tipe reversal dapat menimbulkan dampak kecacatan yang menetap, sedangkan tipe ENL menimbulkan gejala seperti nyeri dan pembengkakan, disertai panas tinggi dan malaise. Lesi kulit bersifat pustular dan ulseratif dengan diikuti hilangnya fungsi saraf. Perkembangan tipe ini sampai terjadi *iridocyclitis*, *orchitis*, nefritis dengan albuminuria yang disertai *non-pitting oedema*. (Koshy, 2001; Brockman, 2000).

Banyak hal yang belum jelas pada penyakit kusta atau *Morbus Hansen*, walaupun penyakit ini sama tuanya dengan peradaban manusia. *Mycobacterium leprae* adalah mempunyai rantai DNA yang lebih pendek dari pada rantai DNA *Mycobacterium tuberculosis*. Ini merupakan hasil evolusi hingga hilang sekitar 25% atau 1700 gen penting yang menyandi fungsi metabolik, sehingga basil kusta merupakan kuman primitif yang dapat hidup dengan metabolisme secara sederhana. Berkembangnya basil kusta selama 12 hari, ini dihubungkan dengan masa inkubasi kusta menjadi begitu lama, sekitar 3 sampai 10 tahun. (Agusni, 2003) *Mycobacterium leprae* hidup dalam monosit, dan sub set limfosit T yaitu sitotoksik (CTL) mampu mensitolisis sel yang terinfeksi, sedangkan sel T helper (Th) punya peran sentral mengatur respon imun seluler (CMI) terhadap suatu infeksi. Termasuk didalamnya peran mematangkan imunoglobulin, aktivasi

makrofag dan sel NK, begitu juga CTL (Claudia, 1999; Eric, 2001).

Limfosit T tersebut terbagi menjadi sel T sitotoksik ($CD8^+$), sel T helper ($CD4^+$) dan sel T supresor. (Stites, 1994) Dominasi peran subset limfosit T tersebut sangat dipengaruhi oleh genetik seseorang. Peran $CD8^+$ sebagai sitolisis cukup potensial, sedangkan subset limfosit T helper (Th) yaitu Th-1 lebih mengarah pada tipe tuberkuloid pada spektrum klinik kusta, dan Th2 lebih pada tipe lepromatosa. (Mosmann & Coffman, 1991; Sridharan, 2001; Abulafia, 1999) Menurut Mahaisavariya, (1999) bahwa percobaan dengan monoklonal antibodi (mAb) limfosit Th dan Ts pada 17 kusta non-reaktif dan 20 kusta reaktif akan terjadi agregasi di dalam granuloma yaitu rasio limfosit Th atau Ts pada *borderline tuberculoid* (BT) (3,11), tipe reversal (2,54) dan pada tipe ENL (5,83) lebih tinggi dari kasus non reaktif lepromatosa.

Perubahan peran masing-masing subset limfosit Th tersebut pada penderita kusta reaktif yang mendapatkan terapi MDT tersebut masih membutuhkan penjelasan. Perubahan indikator yang mencerminkan respon imun dari infeksi basil intrasel antara lain sebagai berikut $CD4^+$ yaitu Th1 akan menghasilkan IL-2 dan $INF-\gamma$ dan $CD4^+$ (Th-2) menghasilkan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10. (Roitt, 2002; Abulafia, 1999). Suatu hipotesis bahwa sifat antigenisitas *Mycobacterium leprae* terfragmentasi akibat MDT tersebut sangat bervariasi sehingga dapat mengaktifkan berbagai sub set limfosit Th, yaitu bila Th1 yang lebih aktif akan mengarah pada kusta reaktif tipe reversal, sedangkan bila Th2 berperan lebih dominan maka akan terjadi kusta reaktif tipe ENL. Sebagai solusi dari berbagai permasalahan tersebut perlu diketahui secara jelas tentang peran sub set Th pada kusta reaktif setelah pemberian MDT. Manfaat dari hasil penemuan ini untuk

memperjelas imunopatogenesis reaksi reversal penderita kusta akibat pemberian MDT, sehingga dapat dijadikan dasar penentuan terapi kusta reaktif yang lebih rasional.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan penjabaran dalam latar belakang masalah perubahan imunopatobiologi kusta tersebut, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut: Apakah terjadi peningkatan proporsi limfosit penghasil IFN- γ dan penurunan proporsi limfosit penghasil IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Penelitian imunopatogenesis reaksi reversal penderita kusta ini secara umum bertujuan untuk mengungkap perbandingan proporsi limfosit penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat *Multi Drug Therapy* (MDT).

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan peningkatan proporsi limfosit penghasil IFN- γ pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT
2. Membuktikan penurunan proporsi limfosit penghasil IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT
3. Membandingkan proporsi limfosit penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi

jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat *Multi Drug Therapy* (MDT).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi

1. Memperjelas patogenesis dan patofisiologis kusta reaktif
2. Memperjelas imunopatobiologi dari kusta reaktif yang mendapat MDT
3. Menjadi dasar pertimbangan pemberian terapi kusta reaktif yang rasional

1.4.2 Pemecahan masalah pembangunan

1. Memberikan kontribusi terhadap pencegahan terjadinya kefatalan kusta reaktif yang mendapatkan MDT.
2. Menjadi dasar pertimbangan penentuan diagnosis dini sebelum kusta menjadi reaktif, sehingga biaya pengobatan dan biaya perawatan dapat ditekan, akhirnya dapat mengurangi distorsi ekonomi negara.

1.4.3 Pengembangan kelembagaan

1. Eksistensi divisi imunopatobiologi
2. Untuk pengembangan riset imunopatobiologi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aspek Umum Penyakit Kusta

2.1.1 Pengertian

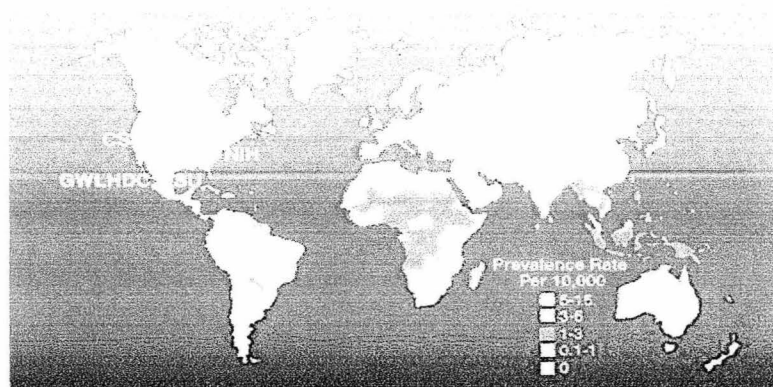
Penyakit kusta disebut juga lepra (*leprosy*) dan *Morbus Hansen*, dan nama lain di India : *Korh*, *Vaahi* (*Kala Vaah*), *Motala / Motali Mata*, *Pathala* dan *Bada Dukh*. Nama tersebut berbeda karena daerah yang beda menyebutkanpun lain, seperti *Pathala* di *Sondwa* dan *Korh* dan *Kala Vaah* di *Thandla*. (Kandouw, 2000; Bhopal, 2002)

Penyakit kusta adalah penyakit kronik yang disebabkan oleh mikroorganisme intraseluler atau kuman *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) yang pertama kali menyerang saraf tepi dan selanjutnya menyerang kulit serta organ tubuh lainnya (Jopling, 1996; Se Jong Kim, 1985; Norihisa, 2003) Penyakit kusta dapat mengakibatkan kecacatan tubuh serta menimbulkan masalah psikososial akibat masih adanya *stigma* dan persepsi masyarakat yang jelek pada penderitanya.

2.1.2 Epidemiologi

Penderita kusta tersebar diseluruh dunia, walaupun terbanyak di daerah tropic dan subtropik. Penyebarannya terutama di benua Afrika, Asia dan Amerika latin. Jumlah yang tercatat diseluruh dunia 888.340 orang pada tahun 1977. Pada melinium ini telah ditemukannya 800.000 kasus baru kusta setiap tahunnya. Di Indonesia diperkirakan kasus kusta mencapai 1 – 3 per 10.000 penduduk atau menempati urutan ke 4 terbanyak di dunia setelah negara India, Brazil dan

Bangladesh. (lihat gambar 2.1) Frekuensi terbanyak terdapat pada kelompok umur produktif yaitu 15 ~ 29 tahun, walaupun penyakit yang disebabkan *Mycobacterium leprae* ini dapat mengenai semua kelompok umur, karena pernah ditemukan pada bayi usia 2,5 bulan dan lansia diatas 70 tahun.(Harahap, 2000; Brennan, 2002; WHO, 1995).



Gambar 2.1 Penyebaran Kusta di Dunia (Brennan, 2002)

Sumber penularan kusta adalah penderita kusta tipe lepromatosa yang belum mendapat pengobatan. Keluarga yang serumah dengan penderita kusta lepromatosa mempunyai resiko tertular 4–10 kali lebih besar dibandingkan dengan mereka yang tinggal tidak serumah. Sedangkan penderita tipe tuberkuloid mempunyai kemampuan menularkan pada orang lain yang serumah sekitar 2 kali dari yang tidak serumah. Resiko penularan kepada anaknya lebih dominan dibandingkan resiko terhadap pasangan hidupnya. (Noordeen, 1994; Agusni, 2001)

Penularan kusta yang sebenarnya masih belum seluruhnya terungkap. Saat ini yang diperkirakan sebagai sumber penularan (*port d'exit*) adalah mukosa hidung penderita kusta tipe lepromatosa yang belum terobati. Selain itu juga pada lesi kulit nodular yang pecah bisa ditemukannya banyak kuman *Mycobacterium leprae*. Sebagai tempat *port d' entry* berada di mukosa hidung secara *droplet*

infection. Seterusnya *Mycobacterium leprae* melakukan adesi dan masuk kedalam monosit dan beredar di darah. Monosit berperan sebagai kuda troya yang akhirnya pecah lalu kuman masuk ke sel *Schwann* yang berada di perineurium. (Hastings, 1985; Boddingius, 1995)

Setelah *World Health Organization* (WHO) melakukan program eliminiasi kusta, dengan menggunakan MDT selama 22 tahun sebelum tahun 2003 dapat terlihat pada gambar 2.2. Pada tahun 1992 terdapat 88 negara yang melakukan program eliminiasi tercatat adanya penurunan jumlah kusta, yaitu 1 per 10.000 penduduk. Di tahun 2003 terdapat 9 negara yang tercatat kasus kusta pada prevalensi rata-rata 2.0 – 4.1 per 10.000 penduduk dan 3 negara mempunyai prevalensi kusta rata-rata 1 – 2 kasus per 10.000 penduduk. Sejak tahun 1981 sampai sekarang telah lebih 12 juta penderita kusta telah mendapatkan pengobatan MDT (Morel, 2003)



Gambar 2.2 *Global distribution of leprosy, showing prevalence rates:*
Britton WJ., et all (2004)

- 2.0–4.1 per 10,000 (9 countries)
- 1.0–2.0 per 10,000 (3 countries)
- 0.0–1.0 per 10,000 (data from only 73 countries)

Penyakit kusta banyak menyerang pada masyarakat golongan sosio-ekonomi rendah. Keadaan ini dikaitkan dengan gizi yang buruk dan dapat mengakibatkan rendahnya daya tahan tubuh secara umum. Faktor sanitasi lingkungan yang tidak baik selalu ditemukan pada tempat penderita yang terinfeksi *Mycobacterium*

leprae .(Jopling & Mc.Dougal, 1996; Agusni, 2003)

2.1.3 Sejarah

Penyakit kusta sudah dikenal sejak zaman purbakala. Pada waktu itu penyebabnya tidak diketahui. Masyarakat hanya mengetahui akibat yang terjadi pada penderita kusta karena menimbulkan kecacatan. Saat itulah muncul anggapan bahwa cacat pada penderita kusta disebabkan kutukan Tuhan atau karena ilmu gaib yang sulit disembuhkan. Bahkan dalam kitab perjanjian Lama pada Leveticus XIII-XIV dikatakan bahwa “ini adalah sesuatu yang najis dan merupakan kutukan dari Tuhan, sehingga tindak lanjutnya sudah jelas yaitu dengan membuang para penderita ini dan tidak diperbolehkan berkumpul dengan masyarakat” (Ilias, 1990).

Didalam kitab *Sushrat Samhita* di zaman India kuno (1300 SM) telah tercantum istilah *khust* yang diartikan sebagai kusta atau lepra (*leprosy*) pada 600 SM dan di Cina pada 400 SM. *Mycobacterium leprae* telah ditemukan sejak 129 tahun yang lalu. Isitilah *zaraath* yang merupakan bahasa Ibrani kuno juga mengartikan sebagai kusta. Di dalam kitab-kitab kuno dari Tiongkok (*Da Feng*) dan adanya tulisan pada daun lontar di zaman Mesir kuno (*Eber Papyrus*), telah tertuliskan mengenai penyakit yang sekarang kita sebut lepra. Istilah lepra sendiri berasal dari bahasa Yunani kuno. (WHO, 2003; Agusni, 2003).

2.1.4 Etiologi

Penyebab penyakit kusta oleh karena *Mycobacterium leprae*, yaitu kuman yang bersifat gram positif, berbentuk batang lurus atau melengkung, ukuran panjang 1-8 mikron, diameter 0,2-0,5 mikron dan mempunyai sifat pleomorfik. (Sasaki, , 2001).

Tabel 2.1 : Perbandingan Genome *Mycobacterium leprae* dan *Mycobacterium tuberculosis*

Uraian	<i>M.leprae</i>	<i>M.tuberculosis</i>
Besar Genom (bp)	3,268,203	4,411,532
G+C (%)	57.79	65.61
Kode Protein (%)	49.5	90.8
Protein-koding genes (no.)	1,604	3,959
Pseudogenes (no.)	1,116	6
Densitas Gene (bp per gene)	2,037	1,114
Average gene length (bp)	1,011	1,012
Average unknown gene length (bp)	338	653

(Nature 409:1007-11, 2001)

Mycobacterium leprae termasuk golongan basil tahan asam (BTA) bila dilakukan pewarnaan *Ziehl Neelsen*, namun dalam mengikat warna merah dari karbol fuchsin tidak sekuat *Mycobacterium tuberculosis* (Agusni, 2001; Ramaratnam, 2001)

Mycobacterium leprae, mempunyai 5 (lima) sifat penting yang perlu diketahui yaitu :

1. Merupakan organisme intraseluler dan tidak bisa dibiakkan dalam media buatan.
2. Sifat mengikat asamnya dapat diekstraksi dengan *pyridine*.
3. Mampu mengoksidasi zat *D-dihydroxy phenylalanine* (D-DOPA).
4. Menginvasi sel schwann dari system saraf tepi terutama di perineurium.
5. Permukaan membrane mengandung *phenolic glycolipid I* (PGL-I) dan *lipoarabinomannan* (LAM). (Agusni, 1996; Claudia, 1999; Shimoji, 1999)

2.1.5 Patogenesis penyakit kusta

Mycobacterium leprae masuk kedalam tubuh manusia dan sampai timbulnya gejala dan tanda adalah sangat lama dan bahkan bertahun-tahun. Masa

inkubasinya bisa 3–20 tahun. Sering kali penderita tidak menyadari adanya proses penyakit di dalam tubuhnya. Umumnya penduduk yang tinggal di daerah endemis telah terinfeksi, namun banyak orang punya kekebalan alamiah dan tidak menjadi penderita kusta. (Agusni, 2001; Richard, 2001; Scott, 2004).

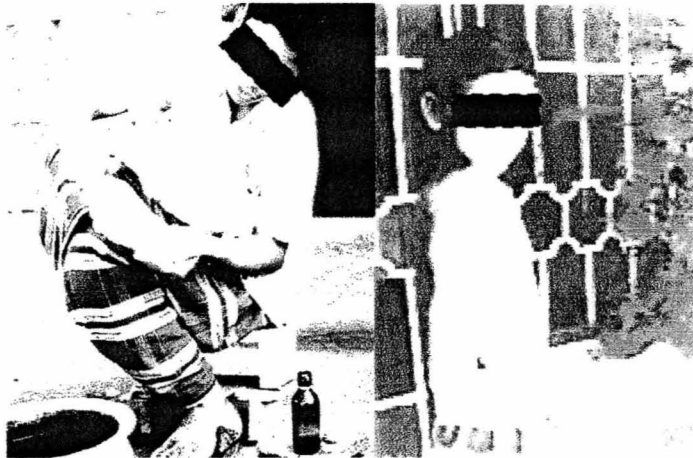
Mycobacterium leprae seterusnya bersarang di sel *Schwann* yang terletak di perineurium, karena basil kusta suka daerah yang dingin yang dekat dengan kulit dengan suhu sekitar 27–30°C. *Mycobacterium leprae* mempunyai kapsul yang dibentuk dari protein 21 kD, yang mampu berikatan dengan reseptor yang dimiliki sel *Schwann* yaitu laminin α -2 G receptor sejenis α -dystroglycan. Kemampuan adesi tersebut merupakan cara invasi basil kusta pada perineurium. Sel *Schwann* sendiri merupakan sejenis fagosit yang bisa menangkap antigen seperti *Mycobacterium leprae*, tetapi tidak dapat melisiskan, karena sel *Schwann* tidak mempunyai MHC kelas I yang mampu berikatan dengan CD8⁺ limfosit, akibatnya basil kusta dapat berkembang biak di sel *Schwann*. (Richard, 2001; Agusni, 2003).

Sel *Schwann* seterusnya mengalami kematian dan pecah, lalu basil kusta dikenali oleh sistem imunitas tubuh host. Tubuh melakukan proteksi melalui 2 aspek yaitu imunitas non-spesifik dan spesifik. Makrofag menjadi aktif memfagosit dan membersihkan dari semua yang tidak dikenali (*non-self*). Peran *Cell Mediated Immunity* (CMI) sebagai proteksi kedua tubuh mulai mengenali dan mengidentifikasi antigen dari *Mycobacterium leprae*. Ternyata makrofag mampu menelan *Mycobacterium leprae* tetapi tidak mampu mencernanya. Limfosit akan membantu makrofag untuk menghasilkan enzim dan *juices* agar proses pencernaan dan pelumatan berhasil. Keterkaitan *humoral immunity* dan CMI

dalam membunuh basil kusta dapat memunculkan rentangan spektrum gambaran klinik penyakit kusta seperti tipe tuberkuloid-tuberkuloid (TT), tipe borderline tuberkuloid (BT), tipe borderline-borderline (BB), tipe borderline lepromatous (BL) dan tipe lepromatous- lepromatous (LL). (Amiruddin, 2000; Bryceson & Jopling, 2003).

2.1.6 Manifestasi klinis penyakit kusta

Manifestasi klinik yang jelas berupa kekakuan tangan dan kaki, *clawing* pada jari tangan dan jari kaki, pemendekan jari, bahkan mudah terjadi perdarahan dan adanya makula dengan hilangnya rasa tusukan.(lihat gambar 2.3). (Bhopal, 2002) Keadaan tersebut merupakan penderita yang sudah lanjut dan sudah dipastikan penyakit kusta tanpa pelaksanaan diagnostik yang cukup.



Gambar 2.3. Tanda Kusta Awal (Bhopal, 2002)

Gambaran klinis awal umumnya sulit untuk diketahui oleh penderita sendiri dan datang ke tenaga kesehatan sudah dalam keadaan adanya penyebaran tanda-tanda klinis di beberapa tempat sehingga tidak begitu sulit untuk ditegakkan suatu kusta tetapi dalam pembedaan spektrum kusta perlu pengamatan yang cukup teliti.

Bentuk keluhan bervariasi, mulai dari keluhan anestesi di kulit, parestesi, neuralgia, dan bisa juga muncul gangguan kelumpuhan otot intrinsik pada tangan

dan kaki. Kelainan pada kulit bisa berupa bercak kulit yaitu *macula anaesthetica*, penebalan kulit (*papula* atau plak), *nodula* maupun *ulcer*. Pada saraf tepi biasanya timbul penebalan saraf yang disertai peradangan (*neuritis*)

Umumnya ditemukan dalam 2 (dua) bentuk yaitu Pausibasiler (PB) dan Multibasiler (MB) dan menurut WHO untuk menentukan kusta perlu adanya 4 kriteria yaitu :

1. Ditemukannya lesi kulit yang khas
2. Adanya gangguan sensasi kulit
3. Penebalan saraf tepi
4. BTA positif dari sediaan syatan kulit.

2.1.7 Klasifikasi penyakit kusta

Klasifikasi penyakit kusta berdasarkan spektrum klinik, guna menentukan penatalaksanaan dan penentuan prediksi terjadinya kecacatan, dapat di gunakan klasifikasi sebagai berikut :

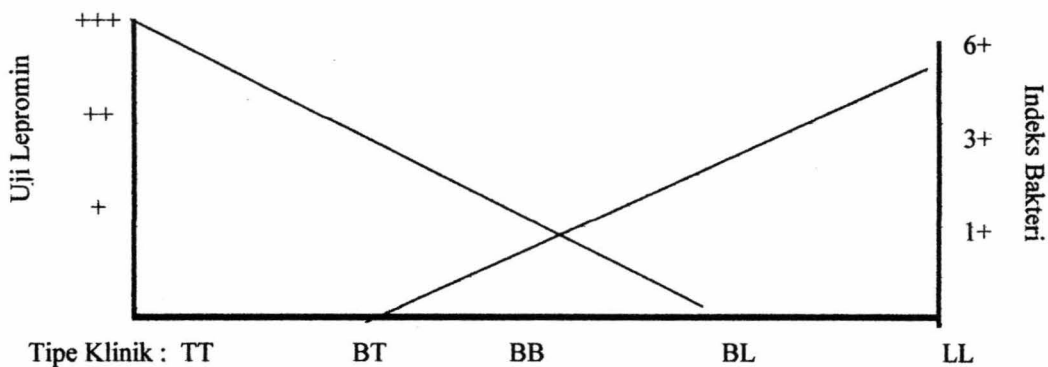
2.1.7.1 Klasifikasi Madrid

Klasifikasi Madrid merupakan klasifikasi yang paling sederhana yang ditentukan atas dasar kriteria klinik, bakteriologik, dan histopatologik. Ini sesuai dengan rekomendasi *International Leprosy Association* di Madrid tahun 1953 (Sekula, 2003) Klasifikasi Madrid tersebut memutuskan bahwa penyakit kusta dibagi atas : tipe *indeterminate*, tipe tuberkuloid, tipe lepromatosa dan tipe *borderline (dimorphous)*.

2.1.7.2 Klasifikasi Ridley & Jopling

Klasifikasi penyakit kusta ini lebih di kaitkan dengan spektrum klinik kusta yang sangat lebar rentangannya. Bisa dari kekebalan paling rendah seorang

penderita sampai pada kekebalan yang tinggi.(lihat gambar 2.4) Maka klasifikasi ini didasarkan gejala klinik, bakteriologik, histopatologik, dan imunologik. (Mittal & Gupta, 1997). Menurut klasifikasi ini terdapat 5 tipe klinik penyakit kusta yang erat hubungannya dengan sistem kekebalan yaitu tipe polat tuberkuloid (TT), tipe *borderline* tuberkuloid (BT), tipe *mid borderline* (BB), tipe *borderline* lepromatous (BL) dan tipe polar lepromatous (LL).



Gambar 2.4 Klasifikasi Kusta dari Ridley & Jopling, 1966

Konsep ini dapat digunakan untuk menentukan keadaan imunitas yang stabil dan keadaan imunitas yang labil. Dimana pada tipe polar tuberkuloid dan polar lepromatosa merupakan keadaan imunitas yang stabil sedangkan tipe *borderline* lepromatosa, mid lepromatosa dan *borderline* tuberkuloid merupakan keadaan imunitas yang labil.

1. Tipe tuberkuloid (TT)

Lesi mengenai kulit dan saraf. Lesi kulit bisa satu atau beberapa, dapat berupa makula atau plak, batas jelas dan pada bagian tengah dapat ditemukan lesi yang regresif atau *central healing*. Permukaan lesi dapat bersisik dengan tepi meninggi, bahkan dapat menyerupai gambaran psoriasis atau tinea sirsinata. (Thangaraj, & Yawalkar, 2001) Dapat disertai penebalan saraf perifer yang

biasanya teraba, kelemahan otot dan sedikit rasa gatal. Adanya infiltrasi tuberkuloid dan tidak adanya basil merupakan tanda terdapat respon imun tubuh pasien yang adekuat terhadap antigen *M. leprae*. (Dharmendra, 2003)

2. Tipe borderline tuberkuloid (BT)

Lesi menyerupai tipe TT, tetapi disertai lesi satelit dipinggirnya. Jumlah lesi dapat satu atau beberapa dan ada gambaran hipopigmentasi, kekeringan kulit atau skuama yang tidak jelas seperti pada tuberkuloid. (Pfaltzgraff & Ranu, 1994) Gangguan saraf tidak seberat pada tipe TT, umumnya asimetris. Lesi satelit terletak dekat saraf perifer yang menebal. (Ridley & Jopling, 1966)

3. Tipe mid borderline (BB)

Merupakan tipe yang paling tidak stabil dari semua spektrum penyakit kusta. Jarang dijumpai dalam bentuk dimorfik. Lesi dapat berbentuk makula infiltrat. Permukaan lesi mengkilat, dengan batas lesi kurang jelas dan jumlah lesi yang melebihi tipe BT dan cenderung simetris. (Thangaraj & Yawalkar, 2001) Lesi sangat bervariasi, baik dalam ukuran, bentuk atau distribusinya. Bisa didapatkan lesi *punched out*, yaitu hipopigmentasi oval pada bagian tengah dengan batas jelas. (Ridley & Jopling, 1966)

4. Tipe borderline lepromatosa (BL)

Lesi berupa makula yang awalnya dalam jumlah sedikit dan dengan cepat menyebar ke seluruh tubuh. Makula lebih jelas dan bentuk bervariasi. Walaupun masih kecil, papul dan nodul lebih tegas dengan distribusi lesi yang hampir simetris. Beberapa nodul tampak melekok pada bagian tengah. Lesi bagian tengah lebih tampak normal dengan pinggir terjadi infiltrat dan batas jelas. Beberapa plak tampak seperti *punched out*. Tanda kerusakan saraf berupa hilangnya sensai,

hipopigmentasi, berkurangnya keringat dan rontoknya rambut lebih cepat muncul dibandingkan dengan tipe LL, dengan penebalan saraf yang dapat teraba pada tempat predileksi. (Amirudin, 1997)

5. Tipe lepromatosa (LL)

Jumlah lesi sangat banyak dan simetris, permukaan halus, lebih erimatososa, berkilat, berbatas tidak tegas dan tidak ditemukan anestesi dan anhidrosis. Distribusi lesi khas, yakni di wajah mengenai dahi, pelipis, dagu, cuping telinga. Sedangkan di badan mengenai lengan, punggung tangan dan permukaan ekstensor tungkai bawah. Pada stadium lanjut tempat penebalan kulit yang progresif, cuping telinga menebal, garis muka menjadi kasar dan cekung membentuk fasies leonina yang dapat disertai madarosis, iritis dan keratitis. Lebih lanjut dapat terjadi deformitas hidung.

Dijumpai pembesaran kelenjar limfe, dan orkhitis bila kusta lanjut dapat terjadi atrofi testis. Kerusakan saraf yang luas menyebabkan gejala *stocking & glove anaesthesia*. Bila 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 anestesi dan pengecilan otot tangan dan kaki. (Amirudin, 1997)

2.1.7.3 Klasifikasi WHO

Sejak program eliminasi kusta di laksanakan secara merata di seluruh dunia oleh WHO dengan memperkenalkan MDT, maka klasifikasi kusta perlu ada standarisasi dengan lebih disederhanakan. Oleh karena itu WHO menyepakati untuk membagi menjadi 2 tipe yaitu : (Morel, 2003; Norihisa, 2003; Abulafia, 1999)

1. Tipe Pausi-Basiler (PB)

Tipe PB ini sesuai dengan tipe tuberkuloid pada klasifikasi Madrid atau tipe TT dan BT pada klasifikasi Ridley & Jopling dengan sarat BTA (-).

2. Tipe Multi-Basiler (MB)

Tipe MB ini sesuai dengan tipe lepromatosa atau borderline pada klasifikasi Madrid atau tipe BB, BL dan LL pada klasifikasi Ridley & Jopling.

2.1.8 Gambaran klinis lain

Pada bagian tubuh yang bisa terkena adalah mata berupa iritis, iridosiklitis, gangguan visus sampai kebutaan. Pada tulang rawan berupa episteksis dan hidung pelana, sedangkan tulang dan sendi berupa absorpsi, mutilasi dan artritis. Kelainan di lidah berupa ulkus dan nodus, sedangkan dilaring berupa suara parau. Kelainan di testis berupa ginekomastia, epididemistis akut, orkitis dan atrofi. Kelainan kelenjar limfe berupa limfadenitis. Kelainan di rambut berupa alopesia dan madarosis. Sedangkan ginjal bisa mengalami glomerulonefritis, amiloidosis ginjal, pielonefritis dan nefritis interstisial. (Jopling, 1999)

Predileksi lesi kulit pada bagian tubuh yang relatif lebih dingin, misalnya pada muka, hidung (mukosa), telinga, anggota tubuh dan bagian tubuh yang terbuka. (Bryceson & Pfaltzgraff, 2000) Predileksi kerusakan saraf tepi, mirip pada lesi kulit. Lebih sering menyerang saraf tepi yang terletak superfisial dengan suhu yang relatif dingin. Saraf tepi yang terserang yaitu :

1. N. fasialis berupa lagofthalmos, mulut mencong.
2. N. trigeminus berupa anestesi kornea.
3. N. aurikularis berupa magnus.

4. N. radialis berupa tangan lunglai (*drop wrist*).
5. N. ulnaris berupa anestesi dan paresis/paralisis otot tangan jari V dan sebagian jari IV
6. N. medianus berupa anestesi dan paresis/paralisis otot tangan jari I, II, III dan sebagian jari IV. Kerusakan N. ulnaris dan N. medianus menyebabkan jari kelingking (*claw toes*), tangan cakar (*claw hand*).
7. N. peroneus komunis berupa kaki semper (*drop foot*)
8. N. tibialis posterior berupa mati rasa telapak kaki, jari kaki kiting (*claw toes*).

Manifestasi penyakit kusta yang masih aktif, menunjukkan kulit berupa lesi membesar, jumlah bertambah, ulserasi, eritematosa, infiltrat atau nodus dan tanda sisa kelainan kulit berupa atrofi, keriput. Non-pigmentasi dan bulu hilang. Pada sistem persarafan berupa nyeri, gangguan fungsi bertambah, jumlah saraf yang terkena bertambah dan tanda sisa berupa mati rasa persisten, paralisis, kontraktur dan atrofi otot. (Adi Djuanda, 1997; Katoch & Girdhar, 2004))

2.1.9 Diagnosis penyakit kusta

Diagnosis ditegakkan berdasarkan manifestasi klinis dan ditemukannya bakteri tahan asam, disamping itu bila perlu dapat dilakukan prosedur penegakan diagnosis melalui :

1. Pemeriksaan histopatologis, dengan menggunakan lesi kulit atau syaraf dari tindakan biopsi.
2. Serologis, untuk melihat adanya antibodi spesifik yaitu anti PGL-1
3. Histokimia, untuk melihat sel-sel spesifik secara kimia dan reaksi imunologis.

Klasifikasi hitopatologi di kaitkan dengan spektrum klinik menurut Ridley

& Jopling (1966) Secara histopatologi lesi awal kusta dapat dikenali dengan tidak adanya granuloma. Pada tipe TT menunjukkan adanya sel epiteloid dan limfosit pada selubung saraf membentuk granuloma. Granulomatosa saraf dalam jumlah besar dan di perineurium yang masih utuh, terdapat erosi epidermis oleh sel epiteloid untuk tipe TTs. Ini terjadi pada *upgrading reaction* dan saat pemberian steroids. Pada tipe BT, secara histopatologi dapat diketahui adanya sel epiteloid non matur yang mungkin tidak terdapat limfosit. Pada selubung saraf terdapat infiltrat limfosit dalam jumlah sedang menjadi granuloma dan sedikit terjadi demarkasi perineurium dan ditemukannya *small giant cell* dalam jumlah sedikit.

Pada tipe BB, ditemukan sel epiteloid yang kecil lalu berubah menjadi edema, *giant cell* dan limfosit dalam jumlah sedikit. Pada tipe BL, ditemukannya makrofag dan beberapa limfosit. Limfosit bergranuloma sedikit bersegmen di saraf tepi atau diselubung saraf dan adanya perineurium infiltrat. Adanya loki kecil dari sel epiteloid dalam makrofag yang membentuk granuloma. Pada tipe LL ditemukannya makrofag sedikit limfosit atau *very scanty*. Sitoplasma makrofag menghilang. Limfosit berbentuk klaster masuk kedalam segmen granuloma dan mencul di perifer.

2.2 Kusta Reaktif

Reaksi kusta termasuk dalam pembahasan imun patologik, yaitu terjadi gangguan pada *cell mediated immunity* dan terjadi peningkatan aktivitas makrofag, *natural killer cell*. Peran komplemen juga berpengaruh. Sebetulnya reaksi imun itu dapat menguntungkan, tetapi bisa juga merugikan seperti kusta reaktif. (Mellors, 2002)

2.2.1 Pengertian

Kusta reaktif adalah episode akut dalam perjalanan klinis penyakit kusta yang sering kali terjadi setelah pengobatan atau suatu gangguan yang berupa munculnya secara spontan proses akut dari suatu penyakit pada perjalanan penyakit yang sebenarnya kronik. Kusta reaktif ini tidak selalu disebabkan oleh MDT, tetapi merupakan kondisi alami dari suatu penyakit kusta. (Kosasih, dkk, 1999; WHO, 2003; Agusni, 2003)

Klasifikasi reaksi kusta adalah merupakan reaksi tubuh yang hebat terhadap suatu invasi bakteri atau antigen, dimana menimbulkan manifestasi klinis sangat hebat, yang dapat digolongkan menjadi 2 (dua) tipe yaitu :

Tipe 1: Reaksi Reversal, merupakan perubahan *cell mediated immunity* secara mendadak contoh imunopatologi reaksi hipersensitivitas tipe IV.

Tipe 2: ENL, ini merupakan pembentukan imun kompleks, perubahan imunitas humoral yaitu peran Ig M, Ig G dan komplemen, disamping itu juga ada bentuk reaksi klinis yang disebut *Lucio's phenomenon*, yang sebenarnya merupakan reaksi kusta tipe 2 (Ang Por, 2002, Bryceson & Jopling, 2003)

2.2.2 Manifestasi kusta reaktif

Pada kusta reaktif dapat muncul gejala seperti *malaise*, sefalgia, arthralgi dll Beberapa penderita LL dapat relaps dengan lesi BL dan BT, juga penderita BL dapat relaps dengan lesi BT. Identifikasi relaps non-lepromatosa (BT dan TT), membedakan relaps dari reaksi sangat sulit, maka untuk mengetahuinya dengan perubahan jaringan penderita berupa *granuloma cell mediated immune* atau hipersensitivitas, reaksi inflamasi sebagai respon terhadap antigen *M. leprae*. Hal ini tidak mungkin membedakan respons jaringan terhadap adanya antigen

Mycobacterium leprae hidup atau antigen tersebut mati. Namun relaps mudah di diagnosis jika macam-macam sel epiteloid kembali dengan makrofag yang berisi BTA menyebar. (Hartati, 1992). Peneliti lain membagi dalam 3 (tiga) golongan yaitu :

2.2.2.1 Reaksi reversal

Reaksi kusta tipe reversal merupakan reaksi *delayed type hypersensitivity*. Antigen *Mycobacterium leprae* akibat dari berbagai kematian atau terfragmentasi akan direspon oleh limfosit T disertai perubahan sistem imunitas seluler yang cepat. Pada reaksi reversal jarang ditemukan *Mycobacterium leprae* yang hidup, hal ini dapat dikatakan *upgrading*. Kasus yang sering dijumpai dalam kondisi ini adalah setelah mendapatkan terapi MDT.

Gejala klinik reversal umumnya terdapat rasa nyeri dan terderness pada saraf, adanya neuritis dan inflamasi yang begitu cepat pada kulit. Keadaan yang dulunya hipopigmentasi menjadi eritema, lesi eritema makin mejadi eritematosa, lesi macula menjadi infiltrate, yang *infiltrate* makin infiltratif dan lesi lama makin bertambah luas. (Shetty, 1994; Birke, 2000)

Secara histologi ditemukan epiteloid dari sel granuloma, dan sel limfosit yang banyak. Ditemukan basil lepra yang banyak, ephiteloid mensekresi TNF- α .

2.2.2.2 Reaksi ENL

Reaksi eritema nodosum lepromatosa merupakan reaksi hipersensitivitas tipe III. Jadi antigen *Mycobacterium leprae* yang mati dan terfragmentasi akan menjadi solubel antigen dan berikatan dengan antibodi membentuk kompleks Ag-Ab. Kompleks Ag-Ab tersebut merangsang terbentuknya dan interaksi dengan komplemen sehingga timbul gejala klinik ENL. Jadi ENL merupakan reaksi

humoral yang mempunyai manifestasi sindroma kompleks imun.

Gejala yang muncul seperti nyeri dan tenderness disertai panas tinggi dan malaise. Lesi kulit berupa pustular dan ukeratif diikuti dengan hilangnya fungsi saraf. Perkembangan tipe ini sampai terjadi *iridocyclitis*, *orchitis*, nefritis dengan albuminuria yang disertai *non-pitting oedema*. *Erythema nodosum leprosum* dapat berkembang menjadi perbaikan setelah mendapatkan kortikosteroid (Koshy, 2001; Brockman, 2000) Secara histologi ditemukannya *foamy histiocyte*, dan limfosit tidak banyak

2.2.2.3 Fenomena Lucio

Kejadian ulseratif yang berbeda dan sering terjadi seperti vaskulitis yang hebat, terdapat makula dan plak yang disertai nyeri dan adanya nekrotik jaringan. Bulu mata hilang, rambut menjadi rontok dan alopesia, bagian distal tubuh tubuh mengalami anaesthesia, destruksi rhinitis dan nodul kulit tidak kelihatan. Timbulnya panas badan, limfadenopati, splenomegali dengan limfopenia, mikrositik anemia, hipoalbuminemia dan hipokalsemia. Keadaan ini dalam kondisi akut dapat mengakibatkan kefatalan. (Rutledge, 2004; Ang Por, 2002)

2.2.3 Kejadian kusta reaktif

Reaksi kusta reversal muncul 2 sampai 6 bulan setelah pengobatan dengan obat anti kusta, sedangkan obat lain seperti *progesterone*, *vitamin A*, *potassium iodide* merupakan faktor presipitasi. Pada tipe ENL lebih banyak terjadi pada pengobatan setelah 6 bulan dan sampai tahun kedua. Pada pengobatan banyak *Mycobacterium leprae* yang mati dan hancur menjadi banyak fragmen artinya banyak sekali antigen yang dilepaskan dan bereaksi dengan antibodi serta

mengaktifkan sistem komplemen membentuk kompleks imun. (Murata, 2003; Bryceson & Jopling, 2003).

Kompleks imun terus beredar di dalam sirkulasi darah yang akhirnya dapat bersarang diberbagai organ seperti kulit akan timbul gejala klinis yang berupa nodus, eritema dan nyeri dengan predileksi di lengan dan tungkai. Pada organ mata akan menimbulkan gejala iridosiklitis, pada saraf perifer gejala neuritis akut, pada kelenjar getah bening gejala limfadenitis, pada sendi gejala arthritis, pada testis gejala orkitis dan pada ginjal menimbulkan gejala nefritis yang akut dengan adanya protein urin. (Kosasih, 1999; Murata, 2003; Mellor, 2002)

Reaksi kusta tipe 1 dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan detruksi saraf yang bersifat irreversibel, sehingga mengalami ketidak mampuan dalam fungsi normal organ. (Claudia, 1999; Eric, 2001). Secara spesifik respon DTH (*delayed type hypersensitiftiy*) yang merupakan peningkatan reaksi CMI terhadap antigen *Mycobacterium leprae* terfragmentasi. Secara histopatologi tampak adanya lesi akibat invasi sel *polymononuclear* (PMN) sehingga membentuk edema dan hiperemia. Hal ini dikaitkan dengan manifestasi klinis. Pasien dengan peningkatan aktivitas inflamasi sebelum timbul lesi kulit, telah dapat diketahui dari peningkatan stimulasi limfosit oleh antigen *Mycobacterium leprae* terfragmentasi.

Erythema nodosum leprosum merupakan contoh klasik penyakit kompleks imun. Immunoglobulin dan komplemen menempati lesi ENL. Penurunan sel T supresor menimbulkan perubahan dan atau afinitas antibodi terhadap antigen *Mycobacterium leprae* yang terformasi dalam kompleks imun deposision. Kondisi ini merupakan bentuk hipersensitiviti tipe III.. Untuk lebih jelasnya lihat tabel 2.2

dibawah.

Tabel 2.2 Perbedaan Reaksi Kusta Tipe 1 dan Tipe 2

Kusta Tipe 1	Kusta Tipe 2
1. Muncul setelah 2-6 bulan pengobatan	1. Muncul setelah 6 bulan pengobatan
2. Tipe menurut Ridley & Jopling (BT/BB/BL) dan WHO (PB/MB)	2. Tipe menurut Ridley & Jopling (BL/LL) dan menurut WHO (MB)
3. Peningkatan aktivitas <i>cell mediated immunity</i> .	3. Imun kompleks / Fenomenal arthus
4. Klinis : lesi kulit yang tenang mendadak berubah menjadi radang akut. Gejala sistemik ringan.	4. Timbul nodul-nodul merah dikulit disertai gejala sistemik, panas, atralgia dan sefalgia.
5. Sering komplikasi neuritis akut dan kecacatan. Masih tidak tampak sakit.	5. Glomerulonefritis, Iridosiklitis dan keadaan umum tampak sakit.
6. BTA hancur	6. BTA ditemukan
7. Granuloma akut dan sel radang akut	7. Vaskulitis dan disertai radang akut
8. Ekspresi Th1, dimana IFN γ (+++) dan IL-10 (-)	8. Ekspresi Th2, IL-10 (+), dan IFN γ (+)
9. Tes lepromin (+++)	9. Umumnya (-)
10. Terapi : kasus ringan antiinflamasi dan bila berat dengan pemberian steroid sistemik	10. Umumnya menggunakan steroid oral, bila kronik dapat diberikan thalidomid

Reaksi Lucio merupakan komplikasi yang terjadi pada pasien dengan difus leprosi lepromatosa. Fase reaktif pasien kusta yang ditandai adanya reaksi imunologik leprosi lepromatosa yang tidak teratur. Keadaan ini tidak terdapat tanda aktivitas yang meningkat dari CMI. Umumnya pasien menunjukkan aktivitas antibodi terhadap antigen *M leprae* yang tinggi, tetapi aktivitas antibodi dan spesifisitasnya sangat individual. Reaksi Lucio terjadi dalam bentuk vaskulitis alergika akut dan secara histologi lesi menunjukkan adanya formasi kompleks imun dan deposision dengan bentuk mengelilingi vaskuler hingga infark terjadi tampak pada kulit. Ini merupakan bentuk spesial dari reaksi ENL akibat antigen dan menginfeksi sel endotelial.

2.2.4 Imunopatologi kusta reaktif

Pengobatan kusta dengan MDT akan menyebabkan *Mycobacterium leprae*

dan terfragmentasi. Fragmen-fragmen dari kuman tersebut berpotensi menginduksi imunitas tubuh. Dalam keadaan tidak reaksi (klinis tenang) maka akan terbentuk jaringan fibrosis dan granuloma.

Timbulnya granuloma dan kerusakan jaringan tidak hanya dipicu adanya penimbunan makrofag tetapi diproduksinya TNF- α oleh makrofag dan IFN- γ yang diproduksi sel T. Telah diketahui bahwa TNF- α selain meningkatkan pembentukan dinding fibrotik yang membungkus *Mycobacterium leprae* juga memberikan kontribusi pada kerusakan jaringan.

Reaksi reversal dapat terjadi dari kusta tipe BL, BB dan BT. Antigen *Mycobacterium leprae* dikenali oleh monosit, makrofag dan sel *Schwann* yang berprofesi sebagai APC dan mampu memproduksi IL-12, molekul MHC dan molekul ko-stimulan sehingga sel T berdiferensiasi dan berproliferasi. Pada saat *Mycobacterium leprae* terfragmentasi, maka fragmen-fragmen tersebut memicu sel-sel yang telah mengenal adanya antigen dari *M leprae*. Th1 menghasilkan IL-3, *granulocyte-macrophage-colony stimulating factor* (GM-CSF), limfotoksin (LT) dan IFN- γ yang mengaktifkan makrofag dan membunuh antigen *M leprae*. Kegagalan dalam eradikasi antigen tersebut, dengan adanya sitokin yang persisten mengakibatkan diferensiasi makrofag menjadi sel epitheloid. Produksi TNF- α dalam jumlah besar secara bersamaan akan menimbulkan bentuk *multinucleate giant cell*. Ini merupakan contoh dari reaksi *delayed-type hypersensitivity* (DTH).

Reaksi kusta dalam bentuk *erythema nodosum leprosum* (ENL), lebih diakibatkan oleh kompleks imun. Keadaan imunopatologi akibat pembentukan kompleks imun. Kompleks imun yaitu antigen *Mycobacterium leprae* berinteraksi dengan antibodi spesifik berinteraksi dengan sistem komplemen (C3a dan C5a)

merupakan anafilatoksin. Fragmen-fragmen komplemen merangsang pelepasan vasoaktif amin termasuk histamin dan faktor khemotatik yang berasal dari mastosit dan basofil. C5a juga merupakan faktor khemotaktik bagi basofil, eosinofil dan neutrofil.

Disini makrofag distimulasi untuk melepaskan sitokin yaitu TNF- α dan IL-1 yang mempunyai peran penting dalam proses inflamasi. Kompleks imun segera berinteraksi dengan basofil dan trombosit melalui reseptor Fc dan menghasilkan vasoaktif amin. Substansi ini menyebabkan retraksi sel endotel dengan demikian meningkatkan permeabilitas vaskuler. Ini memberi kesempatan pengendapan kompleks imun pada dinding pembuluh darah dan endapan itu membentuk C3a dan C5a lebih lanjut. Sel-sel PMN seharusnya menangkap kompleks imun tetapi karena lengket di endotel dan kesulitan akhirnya mengeluarkan enzim lisosom dengan cara eksositosis untuk menghancurkan deposit kompleks imun, yang akibatnya juga terjadi rusaknya jaringan.

Kadar antigen *M leprae* yang melebihi antibodi yang ada, kompleks imun cepat mengendap sehingga reaksi yang ditimbulkan berupa infiltrasi sel-sel PMN, agregasi trombosit dan vasodilatasi, kemudian menimbulkan eritema dan edema. Agregasi trombosit dapat meningkatkan pelepasan vasoaktif amin dan mungkin menimbulkan mikro-trombus yang berakibat iskemia lokal. Dalam suasana solubel antigen *M leprae* berlebihan, kompleks imun yang terbentuk larut dan beredar dalam sirkulasi sehingga bisa menimbulkan reaksi sistemik.

2.2.5 Histopatologi kusta reaktif

Histopatologi diambil didasarkan sayatan atau hasil biopsi yang dilakukan untuk pemeriksaan jaringan yang terjadi kelainan dibawah mikroskop, umumnya

jaringan kulit dan jaringan seraf tepi pada penderita kusta. Pengelompokan didasarkan gejala yang muncul seperti reaksi reversal, eritema nodosum lepromatosa dan kejadian lucio.

2.2.5.1 Histopatologi reaksi reversal.

Reaksi reversal merupakan reaksi *delayed type hypersensitivity* dari respon imun tubuh yang dapat dikenali dari hasil pemeriksaan secara histopatologi yaitu berupa granuloma, giant cell, jaringan fibrinoid yang nekrosis dan jaringan fibrosis.

2.2.5.2 Histopatologi ENL

Reaksi eritema nodosum lepromatosa (ENL) merupakan reaksi kompleks imun yang interaksi dengan komplemen menghasilkan berbagai macam gejala klinik dan secara histopatologi akan tampak sebagai berikut, yaitu masuknya polimorf (PMN) kedalam limfosit predominan, edema yang tidak prominen, vaskulitis kerusakan jaringan pembuluh darah arteri dan vena. Terjadi migrasi polimorfoneutrofil dari arteriol dan berkonsentrasi pada makrofag.

Pada keadaan akut ENL terlihat kerusakan jaringan kulit dengan nekrosis fibrinoid, serat elasti bengkak dan edema. Keadaan ekstra sel jaringan kulit terdapat imun kompleks, makrofag yang terpisah dengan basil dari debris dan jumlah PMN yang banyak.

2.2.5.3 Histopatologi *Lucio Phenomenon*

Reaksi Lucio merupakan fenomena baru sebagai bagian dari ENL tetapi secara histopatologi mempunyai tanda yang dapat dibedakan yaitu adanya eritema di jaringan, nekrosis kapiler, nekrosis iskemik epidermis, formasi bula dan ulserasi. Ini merupakan keadaan eritema nodosum lepromatosa yang difus.

2.3. Respon Imun Terhadap Antigen *Mycobacterium leprae*

Pada kasus penyakit kusta perlu adanya pembahasan tentang kekebalan tubuh yang mengalami kondisi yang *imbalance* karena suatu antigen *Mycobacterium leprae*. Reaksi imun tubuh penting untuk pertahanan terhadap infeksi *Mycobacterium leprae*. Respon imun tubuh yang tidak adekuat setelah terinfeksi, memudahkan *Mycobacterium leprae* multiplikasi dan memunculkan perkembangan tanda klinik. *Mycobacterium leprae* merupakan obligat intrasel, tetapi respon imun bisa seluler dan juga humoral. Umumnya reaksi imun humoral tidak begitu bermakna untuk mempertahankan infeksi *Mycobacterium leprae*. Reaksi imun seluler dapat mengaktifkan makrofag sehingga meningkatkan kemampuan membatasi perkembangan *Mycobacterium leprae* atau secara langsung dapat membunuh *M leprae* dan penting untuk proteksi terhadap infeksi.

Dalam menghadapi *Mycobacterium leprae*, respon yang terjadi adalah respon imun seluler. Sementara makrofag sebagai eksekutor non spesifik dan sel T merupakan mediator spesifik untuk menghancurkan basil obligan endogenus tersebut. Walaupun sebenarnya peran sel T dalam mekanisme proteksi adalah multifaktorial, pada dasarnya mekanisme proteksi itu dapat dibagi dalam beberapa mekanisme dasar. Subset sel T yaitu $CD4^+$ dan $CD8^+$ mempunyai peran penting dalam proteksi terhadap *Mycobacterium leprae*. Sedangkan sel T- $\gamma\delta$ juga punya peran tetapi hanya 10%, walaupun sebenarnya proporsi sel T- $\gamma\delta$ terbesar dari limfosit intraepitel dalam jaringan mukosa, yang mengindikasikan bahwa *port d'entre Mycobacterium leprae* sel T- $\gamma\delta$ memegang peran utama.

Mycobacterium leprae mampu menimbulkan perkembangan sel Th0 menjadi sel Th1 dan Th2. Ini dikarenakan sekresi IL-12 oleh makrofag terinfeksi

dan produksi IFN- γ oleh sel NK. Kedua jenis sitokin tersebut mampu menginduksi Th1 untuk memproduksi IFN- γ yang mengaktifkan makrofag untuk memproduksi oksigen reaktif dan enzim yang dapat membunuh *Mycobacterium leprae*. Interferon- γ juga merangsang produksi isotop antibodi, yaitu Ig.G2 yang mengaktifkan komplemen dan opsonisasi basil sehingga meningkatkan fungsi makrofag. Selain itu Th1 memproduksi limfotoksin dan TNF yang menginduksi inflamasi lokal

Aktivitas CD8⁺ meningkat dengan memproduksi IFN- γ yang menyebabkan aktivasi makrofag dan melisis sel terinfeksi melalui produksi perforin dan granzim. Keterbatasan kemampuan *cell mediated immunity* akan berdampak pada aktivitas subset sel T yaitu Th2 memproduksi IL-4 dan IL-5 yang dapat mengaktifkan sel B dan IL-6 mengaktifkan sel plasma untuk memproduksi imunoglobulin. Imunoglobulin spesifik mengakibatkan terjadinya Ag-Ab kompleks yang dengan bantuan komplemen dapat melisis *Mycobacterium leprae*.

Respon imun seluler dan kompleks humoral setelah terinfeksi dapat menimbulkan tanda klinik komplikasi penyakit seperti kerusakan saraf dan jaringan perifer. Hal ini disebut reaksi reversal, bila terjadi DTH delayed *type hypersensitifity* dan bila terjadi penyakit imun kompleks akan timbul gejala klasik yaitu ENL. Bukti perubahan reaksi imunologi individu setelah terekspos *Mycobacterium leprae* akan memunculkan tanda klinik

2.3.1 Antigenisitas *Mycobacterium leprae*

Mycobacterium leprae dapat hidup dalam vakuola sitoplasmik. Pada bagian membran luar terdapat *phenolic glycolipid-1* (PGL-1) dan lipoarabinomannan

yang bersifat antigen bagi tubuh *host*. PGL-1 merupakan antigen spesifik dari *Mycobacterium leprae* yang dapat berikatan dengan komponen komplemen C3. PGL-1 dapat melindungi *Mycobacterium leprae* dari radikal bebas seperti radikal hidroksil dan anions superoksida. (Verhagen, 1999; Sridharan, 2001)

Heat shock proteins (HSP) 70 dan 65-kD merupakan protein antigen dari *Mycobacterium leprae* dan HSP 12 dan 18-kD juga sebagai antigen *Mycobacterium leprae*. HSP yang lain adalah 28-kD yang ditampilkan *Mycobacterium leprae* sebagai superoksida dismutase. Kemampuan 45-kD antigen *Mycobacterium leprae* mampu menstimulasi sel mononuklear darah tepi untuk berproliferasi dan stimulasi untuk menghasilkan IFN- γ pada penderita kusta. (Macfarlane, 2001; Sridharan, 2001).

Mycobacterium leprae dapat memunculkan berbagai antigen, dan ini dimungkinkan untuk terjadinya proses imun kompleks yang sangat banyak dan menghasilkan spektrum klinik dari kusta.

2.3.2. Imunogenisitas terhadap *Mycobacterium leprae*

Tubuh manusia mempunyai sistem kekebalan terhadap *M. leprae*, seperti *cell mediated immunity*, makrofag, eosinofil, sel NK, PMN dan imunitas humoral. Secara lebih jelas dapat digolongkan menjadi 2 tingkatan sistem kekebalan tubuh dalam menghadapi antigen atau *material non-self* yaitu *innate immunity* dan *adaptive immunity*. (Stefan, 2002; Adams, 2002)

Menurut Zerva (1996) penderita kusta tipe tuberkuloid konsisten dengan tipe HLA-DR2 dan di India penderita kusta tipe tuberkuloid konsisten pada alela DRB1*1501, DRB1*1502 dan DRB11404. Sedangkan penderita kusta tipe lepromatosa lebih pada HLA-DR3 (Stefan, 2002)

2.3.2.1 *Innate immunity* terhadap kusta

Kejadian kusta lebih dikarenakan adanya defek sistem kekebalan tubuh, dimana *innate immunity* seperti makrofag sudah mengalami kelemahan (*foamy*), sel Nk dan komponen komplemen tidak teraktivasi sehingga tidak berfungsi. PMN juga tidak bisa berfungsi sebagai fagosit. (Roitt, 2002; Abbas, 2000)

Mycobacterium leprae masuk kedalam tubuh mampu menembus pertahanan lapis pertama (sel epitel), lalu dibawa monosit yang sebagai kuda troya. *Trojan horse phenomenon* merupakan fenomena dimana basil ikut menumpang dan berkembang di dalam sel tetapi tanpa bisa terdeteksi oleh yang ditempatinya. Monosit pecah akhirnya kuman menyebar dan akan mencapai perineurium sel schwann saraf tepi yang merupakan predileksi *Mycobacterium leprae*. Sel ini tidak mampu melakukan fagositosis karena tidak mengekspresikan molekul MHC kelas II dipermukaannya, kecuali bila sudah diaktifkan IFN- γ . Sel *Schwann* yang terinfeksi tidak bisa berkomunikasi dengan sel limfosit T. *Mycobacterium leprae* tahan terhadap lisosim, maka kuman ini dapat bertahan di dalam sel schwann. *Mycobacterium leprae* keluar dari sel pecah dan ditangkap kembali oleh sel-sel fagosit, tetapi keadaan sel NK dan makrofag tidak mampu berfungsi sebagaimana layaknya.

2.3.2.2 *Adaptive immunity* terhadap kusta

Mycobacterium leprae di fagositosis oleh makrofag yang berprofesi sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) yang akhirnya di presentasikan ke permukaan dengan molekul *Human leucocyte antigen* (HLA) klas I, maka makrofag menghasilkan IL-1 dan menstimulasi sel limfosit T untuk memunculkan CD8+ yang aktif. *Mycobacterium leprae* selanjutnya dihancurkan oleh *perforin*

dan *granzymes* yang dibantu dengan *Fas ligand*. Penghancuran terjadi di dalam makrofag oleh sel *T-cytotoxic* (Tc).

Bila HLA klas I tidak dapat berkembang secara baik, maka HLA klas II akan mengambil alih fungsi HLA klas I adalah suatu hipotesa. Suatu bantuan protein yang mirip dengan reseptor (*Toll-Like Receptor*) APC yang masih polos dengan adanya antigen akan menjadi APC yang teraktivasi dan menghasilkan IL-1 dan IL-12 untuk menstimulasi sel limfosit T CD4+ yang aktif sehingga melakukan proliferasi dan diferensiasi menjadi Th-1 dan Th-2. Bila Th-1 yang aktif maka akan menghasilkan TNF- β dan IFN- γ mengaktivasi makrofag dan akhirnya makrofag menghasilkan komponen sitotoksik yaitu IL-1, TNF- α dan super okside, dan seterusnya membunuh *M. leprae* (Mempel, 2000; Rosane, 2001; Oliveira,2003).

Bila Th-2 yang aktif, maka akan menghasilkan IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10 dan melakukan proliferasi dan diferensiasi dari sel B limfosit, dimana plasma darah menghasilkan Ig. M, dan Ig.G yang dibantu dengan komponen komplemen membentuk imun kompleks untuk melisisikan *Mycobacterium leprae*. (Kulthanan, 1999; Stefan, 2002; Kirchner, 1999)

2.3.3. Peran sel T terhadap *Mycobacterium leprae*

Peran sel T terhadap antigen *Mycobacterium leprae* pada umumnya akan melewati beberapa tahapan antara lain :

1. Pengenalan antigen *Mycobacterium leprae* oleh makrofag sebagai APC
2. Presentasi antigen *Mycobacterium leprae* oleh makrofag sebagai APC
3. Interaksi makrofag dengan limfosit T dengan bantuan HLA
4. Proliferasi dan diferensiasi limfosit T

5. Produksi limfokin sebagai sinyal komunikasi

6. Amplifikasi proses lisis *Mycobacterium leprae* dalam makrofag

Cell mediated immunity (CMI), mengaktivasi makrofag, mengaktivasi sel NK dan memproduksi IL-2 dan IFN- γ sebagai respon adanya antigen. Ini merupakan respon imunitas seluler untuk melindungi tubuh. CMI juga memproduksi sel T-helper (Th) yang berperan proteksi tubuh terhadap antigen atau material *non-self*. Th juga berperan sebagai dirigen yang memegang peran sentral dalam rangkaian proses respon imun seluler. Th akan mengeluarkan sinyal yang akan mengaktivkan komponen lain dari respon imun yaitu sel B, sel Ts, sel Tc dan makrofag. (Bellanti, 1999; Kaiser, 2003)

Sel Tc yang teraktivasi akan mengeluarkan perforin dan granzim dibantu oleh Fas ligan untuk melisiskan makrofag terinfeksi *Mycobacterium leprae*. Sel Th yang teraktivasi oleh IL-1 dari makrofag sebagai respon adanya antigen akan melakukan proliferasi dan diferensiasi sehingga terjadi Th-1 dan Th-2. Sel Th-1 memunculkan IL-2 yang mengaktivasi sel Tc dan mengaktifkan sel Th-2. Sel Th-1 mensekresi IFN- γ , bersama IL-2 dan IL-1 akan mengaktivasi sel NK yang berperan dalam pembunuhan *Mycobacterium leprae*. Efek samping dari penghancuran *Mycobacterium leprae* oleh Th-1 bisa mengakibatkan kusta reaktif tipe reversal yaitu terjadinya *new epitheloid cells* dan limfosit membentuk granuloma, udem ekstraseluler, proliferasi fibrosit dan kolagen dermis dengan dilatasi pembuluh limfe. IL-2 mengaktifkan sel Ts yang akhirnya akan menghasilkan faktor supresi terhadap sel Th, disamping merangsang perubahan sel B menjadi sel plasma untuk menghasilkan antibodi. (Abulafia, 1999; Sridharan, 2001)

Interferon- γ akan mengaktifkan sel Th-2 untuk menghasilkan IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10. Sel Th-2 melalui IL-4, IL-5, dan IL-6 akan mengaktifkan sel B dan sel plasma memproduksi IgM dan IgG. Imunoglobulin dengan bantuan komponen komplemen akan membentuk imun kompleks yang bertujuan menghancurkan *M. leprae*. Efek dari imun kompleks tersebut, akan terjadi kusta reaktif yang berupa *Eritema nodosum leprosum* dan *Lucio phenomenon*. *Eritema nodosum leprosum* dengan karakteristik adanya PMN, foci nekrotik, neutrofil dan granuloma persisten. Sedangkan *Lucio phenomenon* berupa vaskulitis leukoklastik dan adanya imun kompleks di sirkulasi pada vessel kecil. Sel Th-2 mempunyai peran lebih menonjol untuk infeksi kronik seperti *M. leprae*. (Fizzotti, 1998; Bellanti, 1999)

Peran sel Th dalam proses respon imun seluler semakin jelas dengan ditemukannya berbagai reseptor dipermukaan seperti IL-2R, dan IL-1R.

2.3.4 Interaksi CMI dan humoral

Kelompok penderita dengan klasifikasi klinik memunculkan petanda adanya tendensi interaksi antara CMI (*cell mediated immune*) dan imunitas humoral. Tanda klinis polar LL merupakan aktivitas kuat imun humoral dan tidak terdapat aktivitas CMI. Ini lebih dikarenakan antibodi yang terbentuk mampu menghambat CMI. Sedangkan Tanda klinis polar TT merupakan aktivitas kuat CMI dan tidak adanya aktivitas kuat imun humoral. Reaksi CMI terjadi setelah limfosit terstimulasi dan ini berhubungan dengan aktivitas antibodi dengan komponen antigen *Mycobacterium leprae*. Pada setiap individu mempunyai variasi yang dapat diketahui dari klasifikasi kusta dari Ridley & Jopling.

2.3.5 Peran sel B terhadap *Mycobacterium leprae*

Antibodi dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari sel B yang bertransformasi. Antibodi bekerja sama dengan komplemen dapat merusak sel dinding *Mycobacterium leprae* sehingga lisis. Disamping itu antibodi juga membantu proses opsonisasi, sehingga memudahkan makrofag melakukan penelanan kuman.

Antibodi (Ig. M dan Ig. G) yang berperan terhadap antigen *Mycobacterium leprae* dibentuk di jaringan getah bening dari organ khusus seperti limpa dan kelenjar getah bening, namun bisa pula di daerah peradangan. Setelah terjadi Ag-Ab kompleks, maka terjadi proses proliferasi dan diferensiasi menjadi sel plasma yang mengeluarkan antibodi. Sebagian sel B akan menjadi sel B memori yang berumur lebih panjang, yang selalu siap bila terdapat antigen serupa.

Antibodi yang berupa Ig. M dan Ig. G berinteraksi dengan antigen *M leprae* dibantu oleh komponen komplemen C2 akan terjadi proses penghancuran *M leprae*. Proses imun humoral pada penyakit kusta akan timbul antibodi yang berlebihan. Antibodi terhadap komponen PGL-1 dan LAM mempunyai arti penting untuk diagnostik kusta secara serologi. (Jopling & Mc. Dougal, 1996)

2.3.6 Protein mirip reseptor

Toll-like receptor (TLR) yaitu protein yang mirip dengan reseptor yang mampu mengaktifkan makrofag yang malas. *Toll-like receptor 1* (TLR1) di ekspresikan oleh monosit darah tepi dalam jumlah rendah. TLR1 ternyata dapat bereaksi dengan mAb manusia. TLR1 juga dihasilkan oleh sel dendritik dalam jumlah tidak banyak. Ada 2 reseptor yaitu (TLR2 dan TLR4) merupakan bentuk pengenalan reseptor dan merupakan molekul sebagai sinyal terhadap bakteri

lipoprotein dan mempunyai implikasi terhadap *innate immunity* dan inflamasi. Aktivasi dan pengaturan *Toll-like receptor 2* dan *1* pada penderita kusta telah dapat dimanfaatkan. (Krutzik, 2003; DH. Wyllie, 2000; A. Visintin, 2001) *Toll-like receptor* merupakan bagian dari *innate immunity* yang punya peran penting dalam respon imunitas tubuh terhadap infeksi *M leprae*.

2.3.7 Predisposisi genetik

Faktor genetik berperan dalam penyakit kusta, dimana kusta seakan-akan sudah di program secara genetic untuk tidak memberikan respon terhadap *M leprae*. Pada daerah endemis kusta menunjukkan adanya beberapa individu dalam keluarga yang tes leprominnya selalu negatif. Dalam bidang genetic khususnya HLA, menunjukkan bahwa insiden HLA-DR2 dan HLA-DR3 lebih mengarah pada kusta tuberkuloid sedangkan HLA-DR2-DQw1 lebih mengarah pada kusta tipe lepromatosa. (Mempel, 2000; Rosane. 2001)

Kondisi diatas menunjukkan bahwa perkembangan limfosit sangat dipengaruhi oleh genetik, sehingga hipotesa yang kuat adalah HLA-DR2 dan HLA-DR3 yang lebih dominan akan mengakibatkan perkembangan limfosit Th-1 lebih baik dibandingkan Tc limfosit dan HLA-DR2-DQw1 lebih dominant akan mengakibatkan perkembangan Th-2 lebih baik dibandingkan Th-1 dan Tc limfosit. HLA tersebut yang di ekspresikan pada permukaan sel dalam bentuk MHC klas I maupun MHC klas II yang akan berikatan dengan limfosit T, yang sitotoksik atau yang helper.

2.3.8 Toleransi imunologik

Limfosit Th setelah mendapat rangsangan antigen *M leprae*, ternyata jumlah sel Th-1 berkurang jumlahnya pada kusta tipe LL dibandingkan dengan tipe TT.

Kemungkinan lain timbulnya anergi ini adalah karena adanya klon yang menghilang pada saat *immunologic repertoire*, yaitu saat sel-T berproliferasi setelah di rangsang oleh antigen. Teori ini sesuai dengan *clonal deletion hypothesis*. Hal ini mengakibatkan tidak terbentuknya limfosit T helper yang seharusnya bereaksi dengan antigen *M leprae*. (Modlin, 1994)

2.4 Penatalaksanaan Penyakit Kusta

Obat yang digunakan dan direkomendasikan oleh WHO adalah MDT adalah kombinasi antara rifampicin, clofazimine dan dapson dan umumnya kombinasi itu untuk pasien kusta tipe MB (multi basiler), sedangkan untuk pasien kusta tipe PB (pausi basiler) adalah rifampisin dan dapson saja. Rifampisin penting untuk semua tipe kusta. Pengobatan kusta dengan menggunakan salah satu obat akan selalu menimbulkan perkembangan resistensi terhadap obat, maka pengobatan monoterapi pada kusta adalah tidak etis.

Rifampisin adalah obat yang diberikan sekali dalam satu bulan, jarang sekali terdapat efek toksisitas obat dalam laporan penderita yang diberikan rifampisin tiap bulannya. Urine penderita berubah warna agak kemerahan beberapa jam setelah mengkonsumsi. Klofazimine adalah obat kusta yang harus diminm setiap hari dan tidak menimbulkan keracunan bila sesuai dengan dosis yang ditentukan WHO. Obat ini dapat menyebabkan warna kulit kehitaman dan kering dan akan hilang setelah dihentikan pengobatan, biasanya diberikan untuk kusta tipe MB. Dapson adalah obat yang aman dalam dosis yang direkomendasikan dan mempunyai efek samping sedikit. Efek samping berupa reaksi alergi, atau dapat menyebabkan gatal dan dermatitis. Pasien yang telah

diketahui alergi terhadap golongan sulfa tidak boleh diberikan dapson. (Sutjita, 2004)

Dilihat dari sejarahnya pengobatan kusta telah melalui beberapa fase perkembangan, yaitu dari era pra sulfon, sampai diketemukannya obat yang bersifat mikobakteriosidal yang efektif. Program MDT sendiri dimulai sejak tahun 1981, karena banyak yang resisten terhadap obat dapson, maka menjadi rejimen MDT-WHO yang merupakan kombinasi dari dapson, rifampisin dan klofasimin.

2.4.1 Prinsip pengobatan kusta

Tujuan umum program kontrol kusta adalah untuk deteksi dini pasien, pengobatan dan pelayanan adekuat untuk pencegahan ketidakmampuan dan rehabilitasi. Kusta adalah penyakit infeksi dan pengobatan kombinasi punya peran terhadap keberhasilan program dan perlu segera penegakan diagnosis secara tepat. Obat yang digunakan adalah Dapsone (*diaphenylsulfone*, DDS), rifampicin (RFP), *clofazimine* (CLF, B663), *ofloxacin* (OFLX), and *minocycline* (MINO) ini merupakan obat (MDT) yang direkomendasikan oleh WHO. Obat lain seperti *Levofloxacin* (LVFX), *sparfloxacin* (SPFX), dan *clarithromycin* (CAM) juga efektif untuk *Mycobacterium leprae*. (Sasaki, 2001).

Dosis yang direkomendasikan oleh WHO untuk kusta tipe multi basiler (MB), pausi basiler (PB) dan *Single lesion paucibacillary* (SLPB) baik untuk dewasa maupun untuk anak-anak adalah sebagai berikut dalam tabel 2.2 bagi penderita kusta tipe MB, tabel 2.3 untuk penderita kusta tipe PB dan tabel 2.4 untuk penderita kusta tipe SLPB.

Tabel 2.3 Multidrug Therapy Untuk Multibacillary (MB) Leprosy

	RFP	Dapsone	CLF
Adult 50-70kg	600mg/m*	100mg/d	50mg/d & 300mg/m*
Child 10-14 years	450mg/m*	50mg/d	50mg/d & 150mg/m*
Less than 10	300mg/m*	25mg/d	50mg twice/w & 100mg/m*

*RFP and CLF monthly doses are given under supervision

Tabel 2.4 Multidrug Therapy Untuk Paucibacillary (PB) Leprosy

	RFP	Dapsone
Adult (50-70kg)	600mg/m*	100mg/d
Child (10-14 years)	450mg/m*	50mg/d
Less than 10	300mg/m*	25mg/d

*RFP and CLF monthly doses are given under supervision

Tabel 2.5 Multidrug Therapy for Single Lesion Paucibacillary (SLPB) Leprosy

	RFP	OFLX	MNO
Adult (50-70kg)	600mg	400mg	100mg
Child (5-14 years)	300mg	200mg	50mg

Not recommended for pregnant women and children less than 5 years old

2.4.2 Efek farmakologis obat kusta

Efek farmakologi obat MDT-WHO tersebut dapat di pahami dari tabel 2.5 dibawah ini. Obat MDT untuk kusta tersebut juga dapat menimbulkan resisten pada gene tertentu dari *M. leprae* yang dapat dilihat dalam tabel 2.6 dibawah.

Tabel 2.6 Efek Farmakologis Obat Kusta

Rifampisin	bactericidal
Dapsone	bacteriostatic, weakly bactericidal
Klofazimin	slow bactericidal
Ofloksasin	bactericidal
Minosiklin	bacteriostatic
SPFX	bactericidal
CAM	bacteriostatic, weakly bactericidal

Tabel 2.7 Gene *Mycobacterium leprae* terhadap Pengobatan

Drug	gene	Function of gene
RFP	rpoB	DNA dependent-RNA polymerase β subunit
DDS	folP	dihydropteroate synthesis
CLF	?	?
OFLX	gyrA	DNA gyrase

2.4.3 Pengobatan kusta reaktif

Penderita kusta yang mengalami reaksi baik reversal maupun eritema nodosum lepromatosa perlu mendapat perhatian khusus dan mendapatkan pengobatan yang berbeda dengan biasanya, yaitu dapat terlihat pada tabel 2.7. Ini merupakan pengobatan kusta reaktif yang telah mendapat rekomendasi dari WHO.

Tabel 2.8 Pengobatan pada Kusta Reaksi

Reaction	Prednisolone	CLF	Thalidomide
Reversal reaction (type 1)	up to 1 mg/kg/d then gradually reduced		
ENL (type 2)	up to 1 mg/kg/d then gradually reduced	up to 300 mg	up to 400 mg

Pada prinsipnya pengobatan kusta reaktif terutama ditujukan untuk; mengatasi neuritis dan mencegah agar tidak berkelanjutan menjadi paralisis atau kontraktur, secepatnya dilakukan tindakan agar tidak terjadi kebutaan bila mengenai mata, membunuh kuman penyebab agar penyakit tidak meluas dan mengatasi rasa nyeri.

2.5 Biopsi dan Penyediaan Jaringan

Serangkaian penelitian ini perlu melakukan tindakan biopsi, yaitu suatu tindakan aspirasi atau pengambilan jaringan dengan menggunakan jarum ukuran tertentu yang berguna untuk mengetahui tampilan jaringan sebagai sasaran yang

akan di analisa. Hasil biopsi jaringan kulit penderita kusta tersebut dapat untuk menentukan spektrum klinis kusta yang dapat di konfirmasi pada manifestasi klinis kusta Ridley dan Jopling (1962).

Jarum yang digunakan biopsi kulit atau saraf tepi penderita kusta diperlukan jarum berukuran 16 atau 18 dengan menggunakan spuit steril ukuran 3 ml. Sedangkan peralatan yang perlu dipersiapkan adalah larutan antiseptik, kain kasa steril (4x4), dan kapas alkohol di dalam bak instrumen steril.(Perry & Potter, 1998)

Menurut *Standard Operating Procedures (SOP) SMF Penyakit Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya (2004)* biopsi adalah pengambilan sepotong kulit untuk pemeriksaan histologi, yang terdiri atas :

1. Biopsi insisi : bila yang diambil untuk pemeriksaan histologi berupa sepotong lesi.
2. Biopsi eksisi : bila yang diambil untuk pemeriksaan histologi berupa seluruh lesi kulit.
3. Biopsi kerok : bila yang dikeluarkan untuk pemeriksaan histologi berupa kerokan lesi kulit.
4. FNAB (*Fine Needle Aspiration Biopsy*) : untuk mengetahui adanya keganasan.

Tujuan biopsi untuk diagnostik, yaitu konfirmasi diagnosis klinik dan menyingkirkan diagnose banding dan setelah pengobatan, merupakan suatu uji kesembuhan pada lesi-lesi infeksi, seperti *Morbus Hansen* dan granuloma jamur.

Prosedur tindakan pelaksanaan biopsi terdiri atas 2 (dua) hal yaitu :

1. Persiapan penderita, berupa memperoleh *informed consent* dari

penderita, menjelaskan prosedur dan tujuan tindakan ini pada penderita untuk menghilangkan kecemasan dan memperoleh sikap kooperatif dari penderita. Baringkan penderita dengan posisi yang menyenangkan dan lokasi yang telah dipilih untuk dilakukan biopsi dibiarkan terbuka. Gunakan kain pelindung disposable untuk menghindari pengotoran dari tempat tidur.

2. Persiapan peralatan, bersihkan trolley dengan kapas spiritus, pakailah baju panjang, masker dan cuci tangan. Bukalah perlengkapan biopsi. Tuangkan cairan desinfektan yang dibutuhkan dan siapkan spuit injeksi, jarum, pisau dan benang.

Penyulit yang sering muncul adalah infeksi sekunder. Umumnya lama tindakan 5 – 15 menit. Kontra indikasi bila masih ada infeksi sekunder. Tempat pelayanan dapat dilakukan di Unit Rawat jalan Divisi kosmetik medik, dan kamar operasi kulit. Sedangkan pelaksana adalah staf medis/spesialis dan PPDS I.

Botol dalam kondisi steril yang berisikan formalin dipersiapkan, untuk mengfiksasi bahan hasil biopsi. Formalin yang digunakan adalah buffer formalin dengan pH antara 7 – 7,4 yang kadarnya identik dengan formaldehyde 3,7 – 4%, maka waktu yang dibutuhkan untuk fiksasi adalah 12 – 18 jam. Tujuan fiksasi jaringan untuk mempertahankan morfologi sel seperti semula, untuk mencegah terjadinya otolisis dan untuk mencegah pertumbuhan bakteri atau jamur.

2.5.1 Metode parafin

Metode parafin adalah salah satu metode pemrosesan jaringan hasil biopsi, yang terdiri dari beberapa tahapan yaitu :

1. Tahap dehidrasi dengan menggunakan etanol. Pemrosesan jaringan dengan

metode parafin dengan ketebalan jaringan biopsi sekitar 3mm, yaitu pencucian dengan etanol 70% 3-8 jam, lalu etanol 90% selama 3-8 jam, etanol 100% selama 2 jam, diulang lagi etanol 100% selama 3 jam lalu berakhir dengan etanol 100% selama 3 jam.

2. Tahap clearing (penjernihan). Penjernihan ini dilakukan dengan menggunakan bisa xylol/ chloroform/ benzen/ toluol selama 16 jam. Setelah itu baru masuk pada tahap impregnasi.
3. Tahap impregnasi. Impregnasi ini dapat menggunakan paraffin dengan suhu 56°C di ulang beberapa kali yaitu paraffin ($56-58^{\circ}\text{C}$) selama 2 jam, lalu paraffin ($56-58^{\circ}\text{C}$) selama 1 jam, berikutnya paraffin ($56-58^{\circ}\text{C}$) selama 1 jam dan terakhir juga paraffin ($56-58^{\circ}\text{C}$) selama 1 jam. Diteruskan embedding dalam paraffin

2.5.2 Uji dekalsifikasi

Mengetahui sempurna dan tidaknya dekalsifikasi tidaklah suatu pekerjaan yang mudah, agar sempurna dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu :

1. Cara radiologis, artinya untuk sempurna tidaknya dekalsifikasi dengan menggunakan sinar X, dan akan tampak gambaran radiolusion dan yang tidak sempurna gambaran menjadi radiopak.
2. Cara fisika, yaitu dengan jalan menggunakan jarum yang berukuran sangat kecil. Caranya dengan menusukkan jarum tersebut pada jaringan yang telah di dekalsifikasi, bila tusukan sangat mudah menembus jaringan berarti proses dekalsifikasi sudah sempurna dan sebaliknya bila ditusuk keras berarti proses dekalsifikasi belum sempurna.
3. Cara kimiawi, yaitu dengan menggunakan larutan dekalsifikasi jaringan

dimasukkan selama 5 menit, dengan pengamatan cermat maka akan terjadi gelembung pada permukaan jaringan itu menandakan larutan dekalsifikasi belum sempurna, bila tidak terdapat gelembung berarti proses dekalsifikasi sempurna.

2.5.3 Freezing microtome

Ini merupakan cara penyayatan jaringan dengan metode pendinginan. Jaringan yang diperiksa dipotong setebal 3 mm kemudian difiksasi dengan normosalin 1-2 menit, bila perlu dengan pemanasan dengan suhu 58-60⁰C agar meresap kedalam jaringan. Lalu jaringan dipindahkan dalam suhu kamar, kemudian jaringan diletakkan di *tissue holder* dari mikrotome, selanjutnya disemprot dengan menggunakan CO₂, sehingga jaringan menjadi beku. Baru dilakukan penyayatan. Sayatan diambil dengan menggunakan kuwas dan dimasukkan kedalam petridisk yang berisi aquadest. Setelah itu dilakukan pewarnaan, kemudian diletakkan pada *obyek glass* dan dimounting dengan menggunakan gliserin.

2.5.4 Pewarnaan jaringan

Pada dasarnya pewarnaan jaringan secara rutin digunakan berdasarkan afinitasnya dengan jaringan, terdapat dua cara yaitu :

1. Cara langsung (*direct*) Disini ikatan antara bahan cat dengan jaringan dapat berikatan secara langsung.
2. Cara tidak langsung (*indirect*) Disini ikatan antara bahan cat dengan jaringan tidak dapat berikatan secara langsung, agar dapat berikatan maka harus diberi bahan perantara yang disebut sebagai mordant.

2.6 Imunohistokimia

Metode imunohistokimia adalah perpaduan antara reaksi imunologi dengan kimiawi. Reaksi imunologi ditandai adanya raksi antara antigen dengan antibodi dan reaksi kimiawi ditandai adanya reaksi antara enzym dengan substrat.

2.6.1 Prosedur pemeriksaan IL-10

Persiapan Reagen ; H_2O_2 : 3%, Trypsin 0,025% dalam PBS dan larutan kerja DAB; Aquadistilata : 1 ml, Buffer substrat H_2O_2 : 50 tetes dan Larutan DAB stock : 1 tetes.

Prosedur pewarnaan adalah sebagai berikut :

1. Xylol : 2 menit
2. Xylol : 2 menit
3. Etanol absolut : 1 menit
4. Etanol absolut : 1 menit
5. Etanol 95% : 1 menit
6. Etanol 95% : 1 menit
7. Etanol 80% : 1 menit
8. Etanol 70% : 1 menit
9. Air mengalir : 10-15 menit
10. Masukkan kedalam larutan H_2O_2 3530 menit
11. Cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit
12. Trypsin 0,025% selama 6 menit pada suhu $37^{\circ}C$
13. Cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit
14. Masukkan kedalam anti IL-10 selama 30 menit (1 : 50)
15. cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit

16. Masukkan kedalam sekunder antibodi selama 30 menit
17. cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit
18. Masukkan kedalam sterptavidin HRP label selama 30 menit
19. Cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit
20. Masukkan kedalam substrat kromogen selama 5 menit
21. Cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit, kemudian dibilas dengan aquadistilata
22. Masukkan kedalam Mayer Hematoxylin selama 6 menit
23. Cuci dengan air mengalir
24. Mounting

2.6.2 Prosedur pemeriksaan IFN- γ

Persiapan Reagen ; H₂O₂ : 3%, Trypsin 0,025% dalam PBS dan larutan kerja DAB; Aquadistilata : 1 ml, Buffer substrat H₂O₂ : 50 tetes dan Larutan DAB stock : 1 tetes.

Prosedur pewarnaan adalah sebagai berikut :

1. Xylol : 2 menit
2. Xylol : 2 menit
3. Etanol absolut : 1 menit
4. Etanol absolut : 1 menit
5. Etanol 95% : 1 menit
6. Etanol 95% : 1 menit
7. Etanol 80% : 1 menit
8. Etanol 70% : 1 menit
9. Air mengalir : 10-15 menit

10. Masukkan kedalam larutan H_2O_2 3530 menit
11. Cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit
12. Trypsin 0,025% selama 6 menit pada suhu $37^{\circ}C$
13. Cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit
14. Masukkan kedalam anti IFN- γ selama 30 menit (1 : 50)
15. cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit
16. Masukkan kedalam sekunder antibodi selama 30 menit
17. Cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit
18. Masukkan kedalam sterptavidin HRP label selama 30 menit
19. Cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit
20. Masukkan kedalam substrat kromogen selama 5 menit
21. Cuci dengan PBS 3 kali @ 2 menit, kemudian dibilas dengan aquadistilata
22. Masukkan kedalam Mayer Hematoxylin selama 6 menit
23. Cuci dengan air mengalir
24. Mounting

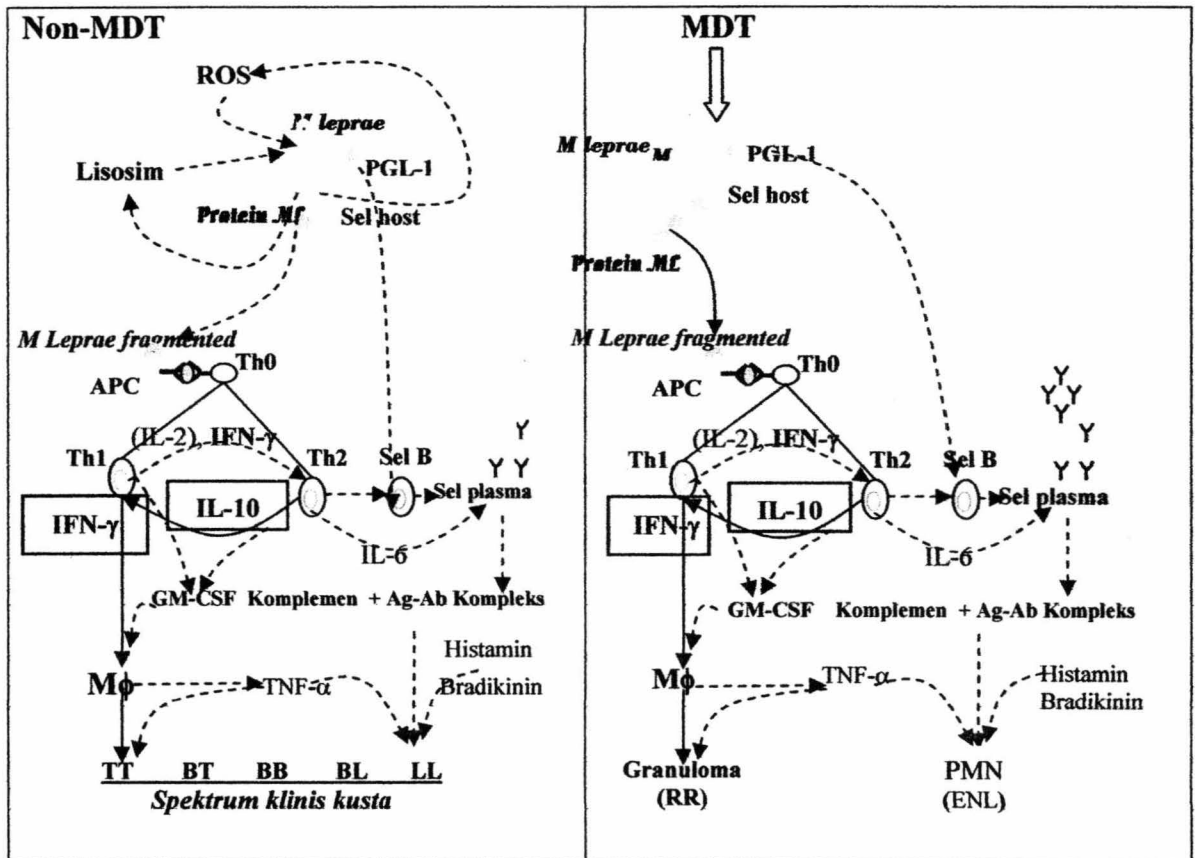
BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan :

————— : Variabel yang diteliti

----- : Variabel yang tidak diteliti

Dalam kerangka konseptual diatas, *Mycobacterium leprae* yang berada dalam monosit, makrofag dan sel *Schwan* sebagai sel host, sebagian muncul dipermukaan membran dan dikenali sel B, sehingga sel B dan sel plasma menghasilkan imunoglobulin spesifik untuk PGL-1 (*phenolicglycolipid-1*) suatu antigen spesifik *M leprae*. Setelah *M leprae* berinteraksi dengan ROS (*reactive*

oxigen species) dan lisosim intra sel atau terpapar dengan MDT protein spesifik *M leprae* suatu antigen muncul atau terjadi fragmentasi *M leprae*.

Antigen protein *M leprae* atau *M leprae* yang telah terfragmentasi, merupakan antigen baru dan difagositosis oleh makrofag yang berperan sebagai APC, lalu diekspresikan melalui molekul MHC klas II dengan antigen protein spesifik itu di permukaan membran dan mampu berikatan dengan reseptor Th0, sehingga teraktivasi, yang dilanjutkan proses berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi Th1 dan Th2. Interleukin-2 dan IFN- γ disekresi oleh Th1 yang teraktivasi dapat menimbulkan aktivitas Th2 sehingga mensekresi IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10. Aktivitas Th1 dengan sekresi IFN- γ dapat menghambat sekresi IL-10 oleh Th2 dan sebaliknya perkembangan aktivitas Th2 dengan mensekresi IL-10 sebagai sitokin utama dapat menghambat perkembangan Th1.

Interleukin-2 yang disekresi oleh Th1 teraktivasi memberikan sinyal kepada beberapa makrofag untuk mengelilingi makrofag terinfeksi antigen protein *M leprae*, akibatnya TNF- α , IFN- γ dan IL-1 disekresi cukup banyak oleh sekumpulan makrofag dan epiteloid. Ini merupakan dasar yang menimbulkan kerusakan jaringan dan destruksi saraf yang bersifat ireversibel. Muncul umumnya 2 sampai 6 bulan setelah pengobatan.

Sekresi TNF- α dan IFN- γ oleh makrofag dan Th1 dalam jumlah banyak dapat menimbulkan granuloma dan kerusakan jaringan. Telah diketahui bahwa TNF- α bersama IFN- γ berperan dalam pembentukan dinding fibrotik dan mampu memberi kontribusi pada kerusakan jaringan. Selanjutnya Th1 mensekresi IL-3, *granulocyte-macrophage-colony stimulating factor* (GM-CSF), limfotoksin (LT) dan IFN- γ yang mengaktifkan makrofag untuk membunuh antigen

Mycobacterium leprae. Efek dalam eradikasi antigen tersebut, dengan adanya sitokin yang persisten mengakibatkan diferensiasi makrofag menjadi sel epitheloid dan TNF- α dalam jumlah besar secara bersamaan dengan IFN- γ menimbulkan bentuk *multinucleate giant cell*. Ini merupakan contoh reaksi kusta tipe 1 (reaksi reversal).

Perkembangan aktivitas Th2 memperlihatkan produksi IL-10 dan terjadi *down regulate* sekresi sitokin Th1. Bila terapi telah lebih 6 bulan antigen *M leprae* menjadi solube. Disini yang mempunyai aktivitas dominan adalah Th2, sehingga menghasilkan IL-10, IL-4, IL-5, dan IL-6 dalam jumlah yang banyak, akibatnya imunoglobulin spesifik di produksi dan mengikat antigen solube, dengan bantuan komplemen untuk mengeliminasi antigen, tetapi mempunyai dampak yang lain yaitu terjadi vaskulitis dan timbul reaksi kusta tipe 2 (*eritema nodosum leprosum*)

3.2. Hipotesis Penelitian

Terdapat peningkatan proporsi limfosit penghasil IFN- γ dan penurunan proporsi IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe mid-borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT.

BAB 4

METODE PENELITIAN

BAB 4

METODE PENELITIAN

Pada bab ini akan dibahas mengenai rancangan penelitian, populasi, sampel, besar sampel, teknik pengambilan sampel, variabel penelitian, bahan penelitian, instrumen penelitian, lokasi dan waktu penelitian, prosedur pengambilan data, cara analisa data, etik penelitian, dan keterbatasan.

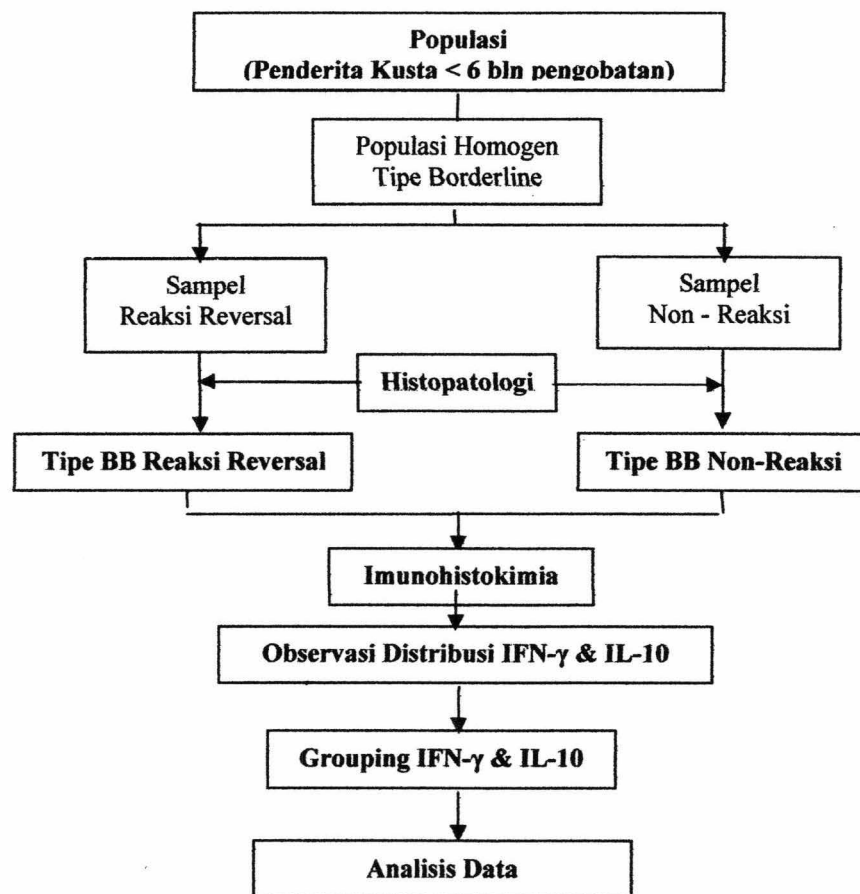
4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini tergolong jenis penelitian studi analitik observasional, karena didalam tujuan penelitian ingin membuktikan proporsi limfosit penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT. Penelitian yang dilakukan dengan menggunakan studi potong lintang, yaitu mencuplik sebuah sampel dari polulasi dalam waktu tertentu, dilanjutkan pemeriksaan status penyakit pada waktu yang sama dari masing-masing kelompok sampel yang telah ditentukan. (Murti, 2003; Notoatmojo, 2002).

Setiap elemen dari populasi memiliki probabilitas yang diketahui dan independen untuk terpilih kedalam sampel, sehingga diharapkan representatif terhadap populasi. Karena pencuplikan tidak berdasarkan status paparan maupun penyakit, melainkan pencuplikan setiap elemen secara independen dari populasi, maka prosedur ini disebut *non-fixed sampling* yang umumnya dilakukan pada studi potong lintang (Gerstman, 1998; Davies, 2002)

Rancangan penelitian dapat membantu mempelajari tentang prevalensi,

distribusi, maupun hubungan spektrum klinik kusta dan paparan sitokin pada lesi jaringan kulit tubuh penderita kusta, maka secara skematis kerangka kerja penelitian tersebut dapat digambarkan sebagai berikut :



4.2 Populasi, Sampel dan Teknik Sampling

4.2.1 Populasi

Populasi yang diteliti adalah penderita kusta tipe borderline di poli kulit kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Dari hasil sigi pendahuluan pada tahun 2004 terdapat 3353 orang yang menderita kusta, dengan rincian bahwa tipe borderline (BT = 189, BB = 1235 dan BL = 1047). Sedangkan penderita baru tipe borderline (BT= 15, BB= 98, dan BL= 83) Sesuai pendapat Pannikar dkk kejadian kusta yang mengalami reaksi reversal 23,5 %, maka untuk tipe mid-

borderline (BB) dalam penelitian ini sebagai populasi sejumlah 23 orang.

4.2.2 Sampel

Sampel disebut juga studi populasi. Di dalam studi potong lintang dilakukan pencuplikan populasi untuk sampel 3 (tiga) tipe borderline kusta, maka secara proporsional menggunakan cara pencuplikan berstrata atau sampling random berstrata. Hal ini di karenakan populasi dipisah menurut stratum tertentu, yaitu spektrum klinis kusta tipe borderline terdiri atas borderline tuberkuloid (BT), mid-borderline (BB), dan bordeline lepromatosa (BL). (Murti, 2003; Kuntoro, 2004)

Pengambilan sampel penelitian dilakukan dengan cara acak sederhana, terhadap populasi kusta tipe borderline tersebut diatas. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan untuk pemenuhan kriteria sampel penelitian sebagai berikut :

1. Umur diatas 15 tahun dan dibawah 40 tahun.
2. Jenis kelamin laki-laki
3. Mendapatkan pengobatan antikusta
4. Penderita kusta tipe berderline
5. Kusta dengan reaksi reversal tetapi belum mendapatkan obat reaksi

Semua sampel sebelumnya telah diberi penjelasan secukupnya mengenai tujuan, manfaat dan prosedur penelitian dan dimintai pernyataan persetujuan secara lisan dan tertulis.

Sampel penelitian ditolak apabila :

1. Keadaan umum penderita dalam keadaan lemah.
2. Terdapat kesulitan dalam pemeriksaan klinik atau pelaksanaan biopsi.
3. Penderita sedang hamil

4.2.3 Besar sampel

Besar sampel adalah jumlah subyek populasi yang akan dijadikan sampel. Pada penelitian ini penentuan besar sampel ditentukan berdasarkan waktu yaitu 3 bulan, baik untuk pengambilan sampel kusta dengan reaksi reversal, meupun sampel non reaksi sebagai kelompok kontrol.

4.2.4 Teknik sampling

Sampling adalah suatu proses dalam menyeleksi porsi dari populasi untuk dapat mewakili populasi (Arikunto S, 2000). Pada penelitian ini teknik sampling yang digunakan adalah *non probability sampling* dengan total populasi yang sesuai dengan kriteria yang dikehendaki peneliti, sehingga sampel tersebut dapat mewakili karakteristi. (Murti, 2003; Kuntoro, 2004)

Kriteria tersebut adalah kriteria inklusi dan eksklusi. Arti dari pada inklusi disini adalah sesuai karateristik umum subyek penelitian dari suatu populasi target dan terjangkau yang akan diteliti.. Sedangkan eksklusi adalah mengeluarkan subyek yang tidak diinginkan peneliti dengan berbagai alasan diatas.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas adalah faktor yang diduga sebagai faktor yang mempengaruhi variabel terikat (*dependent*). Variabel bebas disebut juga *independent variable*, yaitu gambaran histopatologi reaksi kusta tipe reversal dengan spektrum klinik borderline tuberkuloid, borderline-borderline dan borderline lepromatosa.

4.3.2 Variabel tergantung

Variabel *dependent* dalam penelitian ini adalah dalam penelitian ini adalah distribusi IL-10 dan distribusi IFN- γ .

4.3.3 Definisi operasional variabel

Definisi operasional variabel proporsi sel penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapatkan *Multi Drug Therapy* (MDT) adalah sebagai berikut :

1. IFN- γ adalah suatu sinyal transduksi yang muncul di permukaan limfosit T dan sel NK yang dapat diketahui dengan reaksi imunologi pemberian *rabbit anti human* (anti IFN- γ). Secara operasional IFN- γ yaitu prosentase sel limfosit yang mengekspresikan IFN- γ dalam lapang pandang ($40 \times 10 = 400 \mu^2$).
2. IL-10 adalah suatu alat komunikasi sel terutama sel B setelah terinfeksi mikobakterium dapat diketahui dengan reaksi imunologi pemberian *rabbit anti human* (anti IL-10) Secara operasional IL-10 yaitu prosentase sel limfosit yang mengekspresikan IL-10 dalam lapang pandang ($40 \times 10 = 120 \mu^2$).
3. Tipe borderline merupakan tipe yang paling tidak stabil dari semua spektrum penyakit kusta. Jarang dijumpai dalam bentuk dimorfik. Lesi dapat berbentuk makula infiltrat. Permukaan lesi mengkilat, dengan batas lesi kurang jelas dan jumlah lesi yang melebihi tipe BT dan cenderung simetris. Lesi sangat bervariasi, baik dalam ukuran, bentuk atau distribusinya. Bisa didapatkan lesi *punched out*, yaitu hipopigmentasi oval pada bagian tengah dengan batas jelas.

4. Reaksi reversal secara histopatologi berupa jaringan fibrinoid yang fibrosis dan merupakan bentuk granuloma.

4.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapatkan *Multi Drug Therapy* (MDT) dan yang tidak mengalami reaksi. Diambil dari penderita kusta yang menjadi pasien di Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya.

Lesi jaringan kulit penderita kusta tersebut setelah dibiopsi di isolasi menggunakan buffer formalin dengan pH antara 7 – 7,4 yang kadarnya identik dengan formaldehyde 3,7 – 4%,

4.5 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian adalah merupakan peralatan yang digunakan untuk keperluan penelitian, yaitu dapat dibagi atas :

4.5.1 Peralatan biopsi

Peralatan biopsi insisi sesuai dengan standard operasaional prosedur RSU Dr. Soetomo Surabaya adalah sbb :

1. Bak termoplastik
2. Pegangan spon
3. Pengait kulit gillies
4. Gagang pisau bard Parker-ukuran 3
5. Mata pisau ukuran 11,15
6. Forcep bedah tidak bergerigi, bergerigi halus dan arteri mosquito
7. Gunting jahitan

8. Pemegang jarum
9. Kasa / kapas
10. Duk besar dan duk kecil
11. Kertas saring / penghisap
12. Anastesi lokal (lidokain 1% sampai 2% dengan atau tanpa adrenalin)
13. Cairan desinfeksi povidon iodine / alkohol 70%
14. Benang kulit
15. Alat biopsi punch
16. Spuit injeksi disposibel 2-5 ml dengan jarum disposibel 23G atau 27G
17. Pembalut tidak berperekat atau plester penekan
18. Kain pelindung disposibel
19. Baju panjang, masker
20. Sarung tangan steril
21. Botol spesimen
22. Wadah untuk benda-benda kotor / bengkok

4.5.2 Peralatan imunohistokimia

Peralatan yang digunakan untuk pemeriksaan lesi jaringan kulit penderita kusta secara imunohistokimia adalah :

1. Tabung reaksi
2. Mikroskop
3. H₂O₂ 3%
4. Trypsin 0,025% dalam PBS
5. Aquadistilata
6. Buffer substrat H₂O₂

7. Larutan DAB stok

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian tentang proporsi sel penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapatkan *Multi Drug Therapy* (MDT) ini dilakukan di Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya. Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2004 sampai dengan Juni 2005

4.7 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data

Lesi jaringan kulit penderita kusta tipe berderline diperoleh secara biopsi dari penderita sebagai pasien Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya. Cara pengambilan dan pengumpulan data tersebut melalui urutan sebagai berikut :

1. Penderita datang di poliklinik MH RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
2. Penegakan diagnosis kusta sesuai spektrum klinik menurut Ridley & Jopling
3. Seleksi penderita kusta tipe borderline (BT, BB dan BL)
4. Memperoleh *informed consent* dari penderita.
5. Pengambilan lesi jaringan kulit penderita kusta dengan biopsi.
6. Isolasi lesi jaringan kulit dengan buffer formalin
7. Pemeriksaan IFN- γ dan IL-10 secara imunohistokimia
8. Pemeriksaan histopatologi lesi jaringan kulit penderita kusta dengan biopsi.

4.8 Cara Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh berupa proporsi IFN- γ dan IL-10 dari berbagai sampel penderita kusta tipe borderline yang reaktif baik tipe BT, BB dan BL, lalu dilakukan pengelompokan. Begitu juga proporsi IFN- γ dan IL-10 dari berbagai sampel penderita kusta tipe borderline yang tidak reaktif baik tipe BT, BB dan BL dikelompokan. Hasil pemeriksaan histopatologi lesi jaringan kulit penderita kusta di sesuaikan dengan spektrum klinik menurut Ridley & Jopling.

Analisa data tentang proporsi IFN- γ dan IL-10 dari berbagai sampel penderita kusta tipe borderline yang reaktif baik tipe BT, BB dan BL dibandingkan dengan yang tidak reaktif, lalu dilakukan interaksi antara hasil pengelompokan proporsi IFN- γ dan IL-10 dengan hasil histopatologi.

Perlu dilakukan Uji normalitas dengan *Kolmogorof Smirnof*, bila didapatkan hasil data dalam distribusi normal baru dilakukan pengujian dengan analisis statistik *ANOVA two way* untuk membandingkan rata-rata proporsi IFN- γ dan IL-10 pada kusta reaktif dan non-reaktif dengan penyederhanaan seperti tabel dibawah :

Tabel 4.1 Proporsi IFN- γ dan IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Mid-Borderline

Jenis Sitokin	Reaktif	Non-Reaktif
1	2	3
IFN-γ		
IL-10		

4.9 Cara Sintesis

Interaksi proporsi IFN- γ dan IL-10 lesi jaringan kulit penderita kusta tipe mid-borderline yang reaktif dengan yang tidak reaktif, akan menimbulkan perbedaan proporsi dan akan semakin mudah untuk mensintesis bahwa proporsi

tertentu lebih mengarah pada reaktif. Penelitian ini perlu juga dilakukan uji hipotesis.

4.10. Etik Penelitian

4.10.1 Persetujuan

Persetujuan menjadi responden ditetapkan, terlebih dahulu mendapatkan penjelasan secara adekuat oleh peneliti tentang kegiatan penelitian, tujuan dan dampak bagi pasien, serta dibebaskan untuk mengambil keputusan persetujuan tanpa ada unsur paksaan.

Persetujuan responden dilakukan secara tertulis melalui *Informed consent* dan mereka yang tidak setuju menjadi responden tidak perlu dipaksa. Pernyataan persetujuan secara tertulis ini ditanda-tangani atau cap jempol setelah calon responden menyatakan secara lisan setuju.

4.10.2 Anonimity

Keseluruhan responden yang akan dilakukan biopsi sebagai sampel penelitian tidak akan disebutkan nama baik dalam kuesioner maupun dalam penyajian pelaporan penelitian atau publikasi penelitian, karena telah dirubah dalam angka urut responden menjadi sampel

4.10.3 Confidentiality

Kerahasiaan responden yang dijadikan sampel dalam penelitian akan dijamin oleh peneliti, baik identitas spesifik seperti : nama, gambar/foto, ciri-ciri fisik) dan hanya informasi tertentu saja yang ditampilkan. Demikian juga informasi dari reponden menjadi rahasia.

BAB 5

HASIL DAN ANALISA PENELITIAN

BAB 5

HASIL DAN ANALISA PENELITIAN

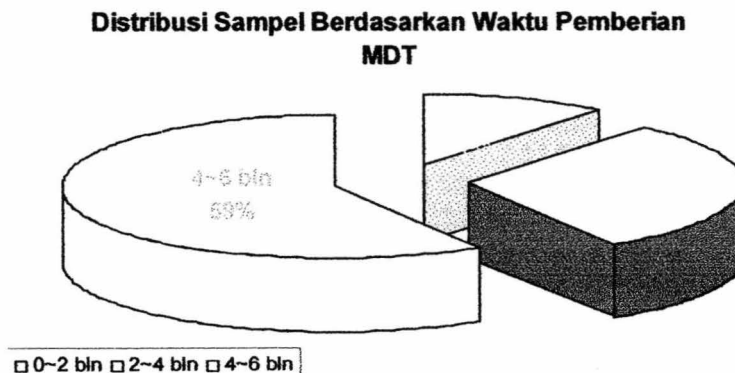
5.1 Data Penelitian

Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya, merupakan rumah sakit kelas A milik Pemerintah Daerah Propinsi Jawa Timur, yang juga sebagai rumah sakit pendidikan dan melakukan program penelitian untuk meningkatkan mutu pelayanan. Pada bagian Intalasi Rawat jalan RSUD Dr. Soetomo terdapat Poli MH, sebagai sub bagian Poli Kulit Kelamin.

Pada tahun 2005 bulan Agustus sampai bulan Desember 2005 terdapat 985 pasien tipe bordeline yang berkunjung di Poli MH, dimana dengan rerata jumlah kunjungan tiap bulan sekitar 197 pasien tipe borderline secara klinis menurut karakteristik Ridley & Jopling.

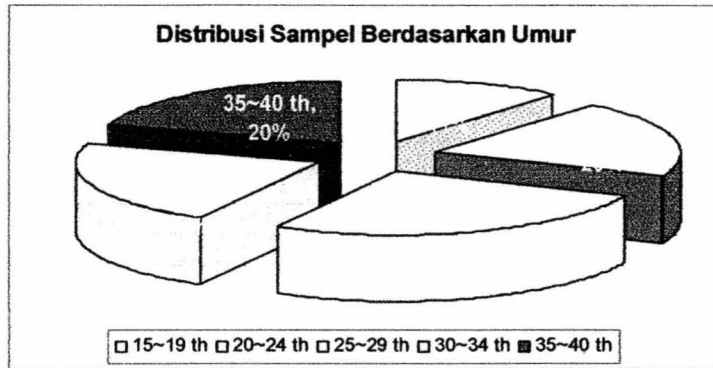
5.1.1 Karakteristik sampel

Sampel penelitian adalah penderita kusta laki-laki tipe borderline yang telah mendapatkan *Multi drug therapy* selama kurang dari 6 bulan. Penderita kusta yang menjadi sampel tersebut belum mendapatkan kortikosteroid.



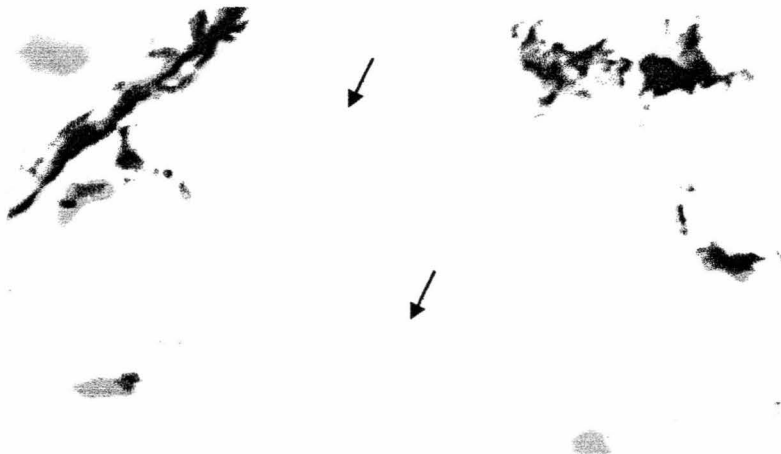
Gambar 5.1: Distribusi Sampel Berdasarkan Waktu Pemberian *Multi Drug Therapy* (MDT) Menurut WHO.

Sampel penelitian ini adalah penderita kusta tipe borderline yang mengalami reaksi reversal dan tipe borderline tanpa reaksi. Jenis kelamin laki-laki dan umur antara 15 tahun sampai dengan 40 tahun.



Gambar 5.2 : Distribusi Sampel Berdasarkan Umur

Penderita kusta yang datang di Poli MH RSUD Dr. Soetomo diperiksa oleh dokter untuk menentukan gejala klinis sesuai kriteria Ridley & Jopling dan dengan tabung reaksi panas dingin, lalu dilanjutkan pemeriksaan bakteri tahan asam (BTA +) terlihat pada gambar 5.3 dibawah. Setelah sesuai dengan kriteria inklusi penelitian dan penderita menyetujui untuk menjadi sampel penelitian dan menandatangani lembar persetujuan mengikuti penelitian (*informed consent*) dilakukan biopsi secara *punched out*.



Gambar 5.3 : Hasil BTA + Penderita Kusta Tipe Borderline Yang Telah Mendapatkan MDT Kurang Dari 6 Bulan

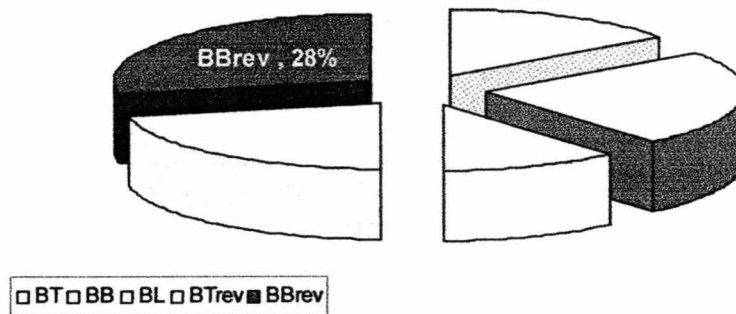
Keterangan : Basil *Mycobacterium leprae* yang mengalami fragmentasi akibat *Multi drug therapy* (MDT) selama kurang dari 6 bulan

Tabel : 5.1 Jumlah Sampel Kusta di Poli MH RSU Dr. Soetomo

No	Tipe Kusta (Ridly & Jopling)	Reaktif Reversal	Non Reaktif	Jumlah	%
1	2	3	4	5	6
1.	BT	10	7	17	36,96
2.	BB	13	11	24	52,17
3.	BL		5	5	10,87
Total		23	23	46	100

Keterangan : Klien kusta di Poli MH Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya, mulai bulan Agustus 2005 sampai dengan bulan Desember 2005, yang memenuhi kriteria sampel penelitian sejumlah 46 penderita kusta, yang terbagi menjadi 2 yaitu 23 reaktif reversal dan 23 non reaktif. Penderita kusta tipe BT sebanyak 36,96%, BB sebanyak 52,17%, BL sebanyak 10,87% dan tidak terdapat tipe BL reaktif reversal.

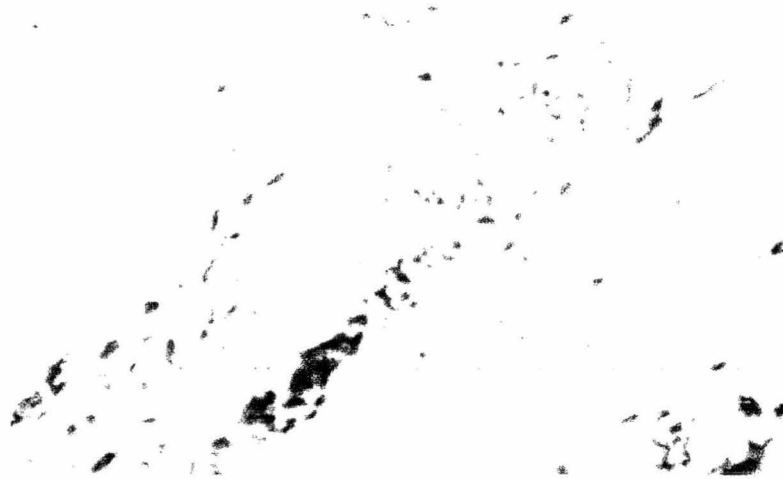
Distribusi Sampel Berdasarkan Tipe Kusta Menurut Ridley & Jopling



Gambar 5.4 : Distribusi Sampel Berdasarkan Tipe Kusta Menurut Ridley & Jopling

Keterangan : penderita kusta yang menjadi sampel dengan tipe kusta menurut Ridley & Jopling, yang terbanyak adalah tipe BB reaksi reversal yaitu 28%.

5.1.2 Histopatologi penderita kusta tipe borderline



Gambar 5.5 Histopatologi Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline-Tuberculoid (BT)

Keterangan : Pengecatan *haematoxyline eosine* (400x) terdapat sel epiteloid dengan sedikit *giant cells* dan jumlah limfosit sedang, juga terdapat granuloma. Lokasi terutama di simpul saraf dan demarkasi pada perineurium.



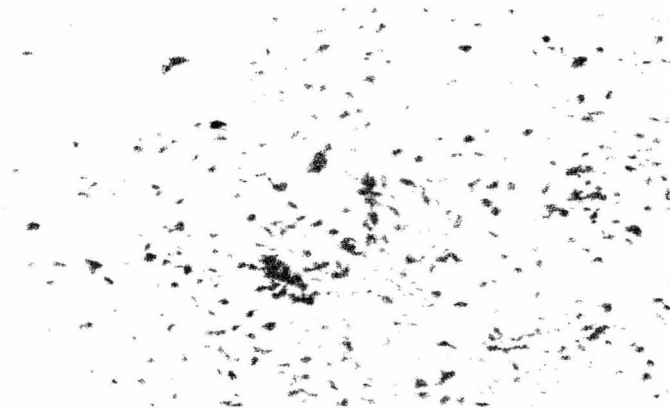
Gambar 5.6 Histopatologi Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Borderline-Borderline (BB)

Keterangan : Pengecatan *haematoxyline eosine* (400x) terdapat sel epiteloid, beberapa mengalami edema, terlihat sedikit limfosit dan *giant cells*. Terdapat aktivitas makrofag.



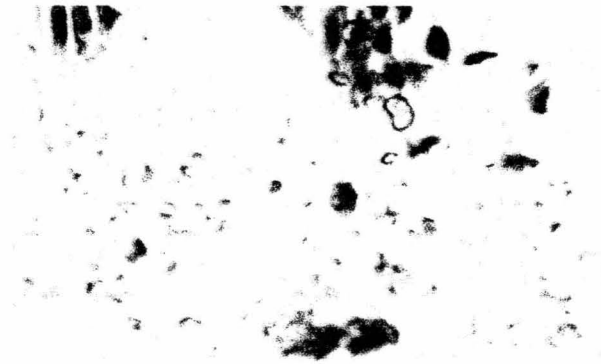
Gambar 5.7 Histopatologi Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BL

Keterangan : Pengecatan *haematoxyline eosine* (400x) terdapat makrofag dan beberapa limfosit infiltrasi dari granuloma yang terdapat pada perineurium.



Gambar 5.8 Histopatologi Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT dengan Reaksi Reversal

Keterangan : Pengecatan *haematoxyline eosine* (400x) terdapat adanya transformasi limfosit dan peningkatan edema. Tampak proliferasi fibrosit pada dermis dan granuloma infiltrasi pada lesi di perifer. Terdapat juga infiltrasi polimorfoneutrofil.



Gambar 5.9 Imunohistokimia IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT

Keterangan : pemeriksaan dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 x terlihat limfosit yang positif IL-10 dan yang negatif.



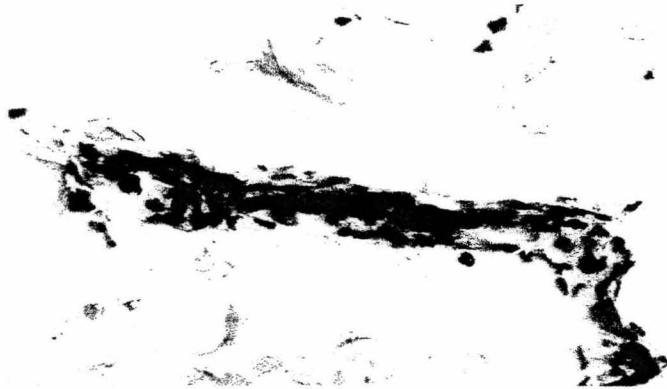
Gambar 5.10 Imunohistokimia IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT dengan Reaksi Reversal

Keterangan : dengan pembesaran 400 x terlihat limfosit positif IL-10 dan limfosit negatif



Gambar 5.11 Imunohistokimia IFN- γ Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT

Keterangan : Pembesaran (400x) terlihat limfosit yang menghasilkan IFN- γ dan yang tidak di bagian dermis



Gambar 5.12 Imunohistokimia IFN- γ Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe BT dengan Reaksi Reversal

Keterangan : dengan pembesaran 400 x terlihat limfosit positif IFN- γ dan limfosit negatif

5.2 Hasil dan Analisis Data

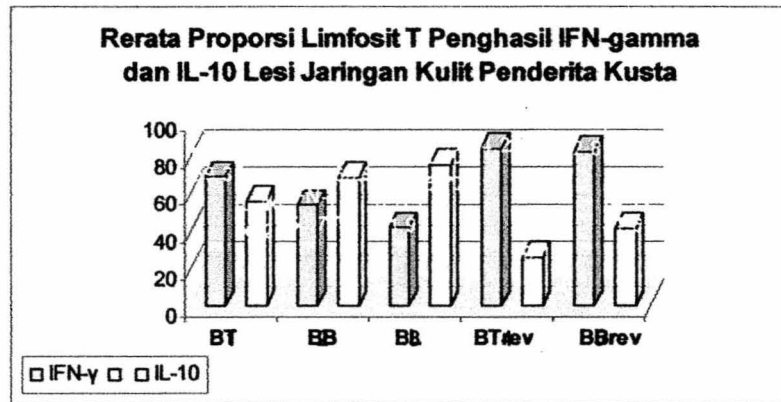
5.2.1 Pengukuran proporsi IFN- γ dan IL-10

Tabel : 5.2 Rerata Proporsi IFN- γ dan IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Mid Borderline

Sitokin	Non-Reaksi						Reaksi Reversal			
	BT		BB		BL		BT		BB	
	Mean	S.D	Mean	S.D	Mean	S.D	Mean	S.D	Mean	S.D
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
IFN-γ	69.35	2.8514	53.77	4.2687	41.96	5.7236	84.25	4.5049	82.82	3.599
IL-10	56.28	3.0917	68.90	2.7976	75.77	6.8708	26.11	8.4596	41.62	3.0372

Keterangan : tabel 5.2 diatas menunjukkan bahwa rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline tuberculoid (BT) non reaksi 69,35% dengan SD \pm 2,851, BT reaksi reversal 84,25% dengan SD \pm 4,505. Untuk tipe BB 53,77% dengan SD \pm 4,269 sedangkan BB reaksi reversal 82,82% dengan SD \pm 3,599. Rerata proporsi

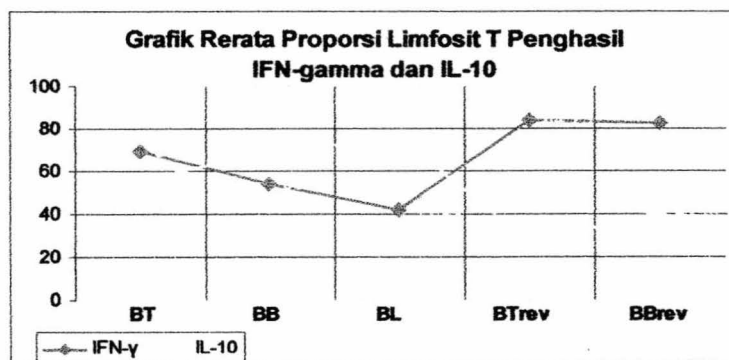
limfosit T penghasil IL-10 tipe BT non reaksi 56,28% dengan SD \pm 3,092, sedangkan BT reaksi reversal 26,11% dengan SD \pm 8.4596 dan untuk tipe BB non reaksi 68,90% dengan SD \pm 2,7976 sedangkan tipe BB reaksi reversal 41.62% dengan SD \pm 3.0372.



Gambar 5.13 Diagram Batang Rerata Proporsi IFN- γ dan IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Mid Borderline

Keterangan : diagram batang rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ menunjukkan tertinggi pada tipe BT reaksi reversal 84,25% dan terendah di tipe BB non-reaksi 41,96%, sedangkan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 menunjukkan tertinggi pada tipe BB non-reaksi 75,77% dan terendah pada tipe BT reaksi reversal 26,11%

5.2.2 Analisis hasil penelitian



Gambar 5.2. Grafik Rerata Proporsi IFN- γ dan IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Mid Borderline

Hasil analisis gambar 5.2 grafik tersebut diatas menunjukkan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ lebih tinggi pada keadaan kusta reaksi dibandingkan dengan non-reaksi, sedangkan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 lebih rendah pada keadaan kusta reaksi dibandingkan tipe non-reaksi.

5.2.2.1 Uji Homogenitas

Tabel 5.3. Uji One-Sample Kolmogorov Smirnov Proporsi IFN- γ dan IL-10

Sitokin		Non-Reaksi			Reaksi	
		BT	BB	BL	BT Rev	BB Rev
IFN- γ	N	7	11	5	10	13
	Mean	69.3486	53.7664	41.9620	84.2540	82.8162
	SD	2.85141	4.26865	5.72358	4.50485	3.59936
	Sig	0.896	0.989	0.898	0.599	0.448
IL-10	N	7	11	5	10	13
	Mean	56.2829	68.9018	75.7700	26.1120	41.6169
	SD	3.09170	2.79758	6.87084	8.45961	3.03718
	Sig	0.806	0.526	0.330	0.363	0.999

Dari hasil tabel 5.3 uji *One-Sample Kolmogorov Smirnov* rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 didapatkan untuk menguji normalitas dari beberapa kelompok $p > 0,01$ sehingga dapat dikatakan normalitas beberapa kelompok distribusi normal, sehingga memenuhi syarat untuk uji Anava.

Tabel 5.4 Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
IFN- γ	0.980	4	41	0.429
IL-10	1.979	4	41	0.116

Dari hasil tabel 5.4 uji homogenitas dengan *Lavene test* didapatkan untuk menguji perbedaan varian dari beberapa kelompok $p > 0,01$ sehingga dapat dikatakan varians beberapa kelompok homogen, sehingga memenuhi syarat untuk uji Anava.

5.2.2.2 Hasil Uji Anava

Tabel 5.5 Uji Anava Rerata Proporsi Limfosit T Penghasil IFN- γ dan IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta

		Mean Square	F	Sig.
IFN- γ	Between Groups	2748.789	160.968	.000
	Within Groups	17.077		
IL-10	Between Groups	3530.822	134.136	.000
	Within Groups	26.323		

Hasil tabel 5.5 Uji Anava didapatkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ , minimal lebih dari 1 kelompok, adapun kelompok yang terdapat perbedaan kadar IFN- γ , maka dapat dilihat pada tabel *LSD multiple comparisson* lampiran 13. Sedangkan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 didapatkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$ dapat di simpulkan terdapat perbedaan bermakna minimal 1 kelompok.

BAB 6

PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian imunopatogenesis reaksi reversal penderita kusta ini secara umum bertujuan untuk mengungkap perbandingan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat *Multi Drug Therapy* (MDT). Dalam pelaksanaan terdapat beberapa runtut yaitu :

6.1.1 Seleksi

Penentuan sampel dari populasi penderita kusta tipe borderline yang mendapatkan pengobatan kurang dari 6 bulan, laki-laki, berumur diatas 15 tahun dan dibawah 40 tahun baik non-reaksi dan reaksi reversal yang belum mendapatkan pengobatan kortikosteroid. Seleksi penentuan sampel ditentukan oleh dokter praktek di poli MH Instalasi Rawat Jalan RSUD Dr. Soetomo Surabaya di sesuaikan gejala klinis dan mikroskopis didasarkan Bakteri tahan asam (BTA).

6.1.2 Pengambilan bahan

Penderita kusta tipe borderline yang sesuai kriteria dilakukan biopsi dengan teknik *punch biopsy*, umumnya diambil pada lesi jaringan kulit penderita kusta di punggung. Hasil bahan biopsi dimasukkan kedalam botol berisi formaldehyde 4% untuk fiksasi dan diteruskan pembuatan slide.

6.1.3 Proses pembuatan preparat

6.1.3.1 Preparat histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi yang dilakukan sesuai prosedur pada

lampiran 8 dan tidak banyak permasalahan. Pada pewarnaan hematoxylin eosin di tahap mounting dengan menggunakan entellan baru ditutup cover glass, sedangkan untuk pembuatan imunohistokimia dengan polylicine.

6.1.3.2 Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE)

Setelah bahan hasil mikrotom dilekatkan pada obyek glass, dimasukkan dalam xylol berurutan dan berurutan sampai tahap akhir dibersihkan lalu ditutup *cover glass* sesuai lampiran 9.

Pada pembuatan preparat IL-10 dan IFN- γ diawali dengan prosedur pembuatan preparat histopatologi dan dilanjutkan pada tahap penlabelan IL-10 dan IFN- γ dan pewarnaan dengan kromogen dan mayer hematoxylin, sehingga dapat berwarna hijau kecoklatan dan berpendar, berarti telah siap diperiksa.

6.1.4 Pembacaan hasil

Pembacaan hasil histopatologi dilakukan oleh dokter konsultan histopatologi di Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya. Dari 50 preparat yang terbagi atas 25 tipe borderline non-reaksi dan 25 tipe borderline dengan reaksi reversal yang sesuai dengan kriteria inklusi, setelah pembacaan hasil histopatologi yang sesuai menjadi 23 tipe borderline non-reaksi dan 23 tipe borderline dengan reaksi reversal.

Menurut Hasting (1985) gejala klinis kusta sesuai kriteria Ridley dan Jopling tipe BT secara histopatologi terdapat sel epiteloid, *giant cell* dalam jumlah sedikit dan dalam jumlah sedang limfosit dalam bentuk granuloma sebanyak 7 preparat, tipe BB secara histopatologi terdapat sel epiteloid, terdapat sel edema dalam jumlah sedikit, tanpa *giant cell* dan terlihat limfosit sebanyak 11 preparat, sedangkan tipe BL secara histopatologi terdapat makrofag, beberapa limfosit dan

granuloma di serat saraf, perifer dan perineureum infiltrat sebanyak 5 preparat.

Tipe BT reaksi reversal secara histopatologi terdapat transformasi limfosit dan peningkatan edema. Tampak proliferasi fibrosit pada dermis dan granuloma infiltrasi pada lesi di perifer. Terdapat juga infiltrasi polimorfoneutrofil dan sebanyak 10 preparat. Sedangkan tipe BB reaksi reversal secara histopatologi terdapat beberapa edema dan terjadi proliferasi fibrosit. Terdapat sel granuloma dengan infiltrasi dan peningkatan jumlah limfosit sebanyak 13 preparat.

Setelah dapat dipastikan gejala klinis kusta dan sesuai dengan histopatologi dilakukan pembacaan imunohistokimia, dengan hasil sebagai berikut: Untuk IL-10 yang positif terdapat pada limfosit dan yang negatif dijumlahkan lalu diambil rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada tipe BT (56,28%), tipe BB (68,90%), tipe BL (75,77%), tipe BT reaksi reversal (26,11%) dan tipe BB reaksi reversal (41,62%). Sedangkan untuk IFN- γ dengan cara yang sama didapatkan hasil tipe BT (69,35%), tipe BB (53,77%), tipe BL (41,96%), tipe BT reaksi reversal (84,25%) dan tipe BB reaksi reversal (82,82%)

6.2 Penalaran Hasil Penelitian

Sesuai tabel 5.5 Uji Anava untuk rerata proporsi limfosit penghasil IFN- γ didapatkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$. Artinya pada tingkat kepercayaan 99% terdapat perbedaan bermakna rerata proporsi IFN- γ minimal lebih dari satu kelompok, tetapi secara detail pada tiap tipe kusta dapat dilihat di lampiran 13 uji *LSD multiple comparisons*, menunjukkan tipe kusta BT reaksi reversal dan BB reaksi reversal didapatkan $p = 0,413$ dimana $> 0,01$. Artinya pada tingkat kepercayaan 99% tidak terdapat perbedaan secara bermakna, maka dapat dikatakan hasil rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ di beberapa tipe kusta

borderline yang non-reaksi dan reaksi reversal terdapat perbedaan, tetapi tidak terdapat perbedaan secara bermakna untuk tipe kusta BT reaksi reversal dan tipe BBreaksi reversal.

Hasil rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 di beberapa tipe kusta borderline baik non-reaksi dan reaksi reversal terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini sesuai dengan tabel 5.5 Uji Anava didapatkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$. Artinya pada tingkat kepercayaan 99% terdapat perbedaan bermakna rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 minimal lebih dari satu kelompok. Merujuk lampiran 13 Uji *LSD multiple comparisons* menunjukkan bahwa pada tipe kusta BB dengan tipe kusta BL didapatkan $p = 0.017$ dimana $> 0,01$, artinya pada tingkat kepercayaan 99% tidak terdapat perbedaan bermakna rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10, maka dapat dikatakan hasil rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 di beberapa tipe kusta borderline non-reaksi dan reaksi reversal terdapat perbedaan, tetapi tidak terdapat perbedaan secara bermakna untuk tipe kusta BB dengan tipe BL.

Peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ terjadi secara nyata dari kelompok non-reaksi menuju kelompok reaksi reversal, seperti tipe BT (69,35%) SD \pm 2.8514 dengan tipe BT reaksi reversal (84,25%) SD \pm 4.505, dan tipe BB (53.77%) SD \pm 4.269 dengan tipe BB reaksi reversal (82,82%) SD \pm 3.599 dan sesuai tabel 5.5 Uji Anava menunjukkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$ dan bila dilihat dari lampiran 13 Uji *LSD multiple comparisons* didapatkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$, menunjukkan peningkatan dengan perbedaan yang bermakna sehingga dapat dirumuskan bahwa kejadian kusta reaksi reversal berbanding langsung pada peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan

berbanding terbalik hasil penjumlahan limfosit T penghasil IFN- γ positif dan negatif

Penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 terjadi secara nyata pada kelompok non-reaksi dengan kelompok reaksi reversal, seperti tipe BT (56.2829) SD \pm 3.0917 dengan tipe BT reaksi reversal (26.112) SD \pm 8.45961, dan tipe BB (68.9018) SD \pm 2.79758 dengan tipe BB reaksi reversal (41.6169) SD \pm 3.03718 dan sesuai tabel 5.5 Uji Anava menunjukkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$ dan bila dilihat dari lampiran 13 Uji *LSD multiple comparisons* didapatkan pada tipe kusta BB dengan tipe kusta BL didapatkan $p = 0.017$ dimana $> 0,01$ menunjukkan tidak perbedaan penurunan yang bermakna, tetapi secara keseluruhan boleh dikatakan terdapat perbedaan penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 dari tipe non-reaksi ke bentuk tipe reaksi reversal.

Keadaan kenaikan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta yang mendapatkan MDT telah jelas dan dipertegas dengan gambar 5.2 yaitu grafik rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10.

Perbandingan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline non-reaksi dengan reaksi reversal yang mendapat *Multi Drug Therapy* (MDT) adalah sebagai berikut.

Perbandingan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ tipe BT (69.35%) SD \pm 2.8514 dengan tipe BT reaksi reversal (84.25%) SD \pm 4.505, dan tipe BB (53.77%) SD \pm 4.269 dengan tipe BB reaksi reversal (82.82%) SD \pm 3.599, dapat dikatakan untuk perbandingan tipe BT non-reaksi dengan tipe BT reaksi reversal adalah (1 : 1,2) sedangkan untuk tipe BB non-reaksi dengan tipe BB reaksi

reversal (1 : 1,5).

Perbandingan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline non-reaksi dengan reaksi reversal yang mendapat *Multi Drug Therapy* (MDT) adalah sebagai berikut. Perbandingan untuk tipe BT non-reaksi dengan BT reaksi reversal adalah (2,2 : 1) sedangkan untuk tipe BB non-reaksi dengan BB reaksi reversal adalah (1,7 : 1)

6.3 Perpaduan Temuan Penelitian

6.3.1 Peningkatan proporsi limfosit T penghasil IFN- γ

Menurut Abulafia J (1999) dan Sridharan R (2001) Efek samping dari penghancuran *M.leprae* oleh MDT bisa berakibat kusta reaktif tipe reversal yaitu terjadinya *new epitheloid cells* dan limfosit terjadi granuloma, edema ekstraseluler, proliferasi fibrosite dan kolagen dermis dengan dilatasi limfe. Penderita kusta setelah mendapatkan MDT, aktivitas limfosit T akan terjadi perbedaan. Sesuai pendapat Oliveira (2003) Bila Th-1 yang aktif maka akan menghasilkan TNF- β dan IFN- γ mengaktivasi makrofag dan akhirnya makrofag menghasilkan komponen sitotoksik yaitu IL-1, TNF- α dan super okside, seterusnya membunuh antigen (*M. Leprae*).

Pendapat Mempel M (2000) dan Rosane B (2001) bahwa bantuan *Toll-Like Receptor* APC yang masih polos dengan adanya antigen (*M. Leprae*), akan menjadi APC yang terktivasi dan menghasilkan IL-1 dan IL-12 untuk menstimulasi sel limfosit T CD4+ yang aktif sehingga melakukan proliferasi dan diferensiasi menjadi Th-1 dan Th-2.

Hal ini sesuai dengan hasil, yaitu pada tabel 5.3 Uji *One-Sample*

Kolmogorov Smirnov rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ merupakan distribusi normal dan tabel 5.4 hasil uji Homogenitas dengan *Lavene Test* didapatkan IFN- γ , di beberapa kelompok yaitu tipe kusta (BT, BB, BL, BT rev, dan BB rev) $p = 0.429$ dimana $> 0,01$ berarti dapat dikatakan varians beberapa kelompok homogen, sehingga memenuhi syarat untuk uji Anava.

Sesuai tabel 5.5 uji Anava rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ menunjukkan $p=0,0000 < 0,01$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan peningkatan secara bermakna. Dapat dikatakan bahwa rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ pada tipe kusta non-reaktif yaitu terutama BT dan BB dan tipe kusta reaktif reversal yaitu BT reaksi reversal dan BB reaksi reversal mengalami peningkatan. Hal ini lebih dikarenakan aktivitas *cell mediated immunity*, sebab manifestasi klinis kusta di tandai adanya sel epiteloid, proliferasi fibrosit, granuloma dan edema yang disebabkan aktivitas faktor sitokin IFN- γ yang meningkat jumlahnya.

Dapat dikatakan bahwa rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ sebesar (84.25%) SD ± 4.505 pada tipe BT dan (82.82%) SD ± 3.599 pada tipe BB, mampu membuat komponen imunitas tubuh seperti sel epiteloid, makrofag dan fibrosit mengalami peningkatan aktivitas yang berpotensi menimbulkan gejala klinis kusta reaktif reversal. Jadi peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT lebih dikarenakan aktivitas *cell mediated immunity*.

6.3.2. Penurunan proporsi limfosit penghasil IL-10

Menurut Fizzotti M (1998) bahwa IFN- γ mengaktifkan sel Th-2 untuk menghasilkan IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10. Sel Th-2 melalui IL-4, IL-5, dan IL-6

akan mengaktifkan sel B dan sel plasma memproduksi Ig.M dan Ig. G. Di Bantu komponen komplemen akan membentuk imun kompleks yang bertujuan menghancurkan *M leprae*. Sesuai keterangan dari Bellanti (1999) efek samping dari imun kompleks tadi dapat terjadinya kusta reaktif yang berupa *Eritema Nodusum Leprosum* dan *Lucio phenomenon*. *Eritema Nodusum Leprosum* dengan karakteristik adanya PMN, nekrobiotik foci, neutrofil dan granuloma persiten. Sedangkan *Lucio phenomenon* berupa vaskulitis leukoklastik dan adanya imun kolpeks di sirkulasi dengan jumlah vessel kecil. Sel Th-2 mempunyai peran lebih menonjol untuk infeksi kronik seperti *M leprae*.

Menurut Kulthanan K (1999) dan Stefan HE (2002) Bila Th-2 yang aktif, maka akan menghasilkan IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10 dan melakukan proliferasi dan diferensiasi dari sel B limfosit, selain itu IL-10 dapat mensupresi Th-1.

Sesuai tabel 5.3 Uji One-Sample *Kolmogorov Smirnov* didapatkan hasil uji dari rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada tipe kusta non-reaktif yaitu terutama BT dan BB dan tipe kusta reaktif reversal yaitu BT reaksi reversal dan BB reaksi reversal dimana $p > 0,01$ merupakan distribusi normal dan tabel 5.4 hasil uji Homogenitas dengan *Lavene Test* didapatkan IL-10 di beberapa kelompok yaitu tipe kusta (BT, BB, BL, BT rev, dan BB rev) $p > 0,01$ berarti dapat dikatakan varians beberapa kelompok homogen, sehingga memenuhi syarat untuk uji Anava. .

Sesuai tabel 5.4 uji Anava rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 di berbagai tipe kusta yaitu BT, BB, BT Rev, dan BB Rev menunjukkan $p = 0,0000$ dimana $< 0,01$ sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 secara bermakna.

Keadaan nyata rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada tipe BT non-reaksi (56.28%) SD \pm 3.0917 dengan tipe BT reaksi reversal (26.11%)SD \pm 8.4596 dan tipe BB non-reaksi (68.90%) SD \pm 2.79758 dengan tipe BB reaksi reversal (41.62%) SD \pm 3.03718 dan lebih jelas lagi pada gambar 5.2. Grafik rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10.

Penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT lebih dikarenakan aktifitas imunitas seluler merespon terhadap antigen *M leprae* terfragmentasi akibat *multi drug therapy* atau terjadi dominasi Th-1 mengekspresikan IFN- γ dibandingkan Th-2 mengekspresikan IL-10, sehingga sitokin IFN- γ tersebut mampu mengaktifkan berbagai komponen *cell mediated immunity* yang dapat menimbulkan gejala klinis reaksi reversal.

6.3.3 Perbandingan proporsi limfosit penghasil IFN- γ dan IL-10

Rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ pada tipe borderlin reaksi reversal mengalami perbedaan peningkatan yang bermakna sedangkan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada reaksi reversal mengalami perbedaan penurunan yang bermakna. Hal ini sesuai pendapat Hamblin (2003) dan Theze (1999) Interferon gamma (IFN- γ) dihasilkan oleh Th0, Th1, CD8⁺ dan sel NK yang dapat mengaktifkan makrofag, sedangkan IL-10 dihasilkan oleh Th2, dapat juga dihasilkan oleh monosit, makrofag dan sel B. Interleukin 10 menghambat Th1 dan sel NK untuk memproduksi sitokin.

Perlu menjadi penjelasan bahwa bahan pemeriksaan adalah lesi jaringan kulit penderita kusta, maka dapat disingkirkan sel penghasil IFN- γ dan IL-10 selain limfosit T, karena morfologi dapat dibedakan secara jelas antara makrofag,

monosit dan sel B atau sel NK. Keadaan ini dapat menjelaskan bahwa limfosit T lebih dominan menghasilkan IFN- γ dibandingkan IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta dengan reaksi reversal yang mendapat *Multi drug therapy* (MDT).

Menurut Mosmann dan Coffman (1991) juga Roitt (2002) subset limfosit T helper (Th) yaitu Th-1 lebih mengarah pada tipe tuberkuloid pada spektrum klinik kusta, dan Th2 lebih pada tipe lepromatosa. Hal ini sesuai yang diungkapkan Abulafia (1999) bahwa perubahan peran subset limfosit Th tersebut pada penderita kusta reaktif yang mendapatkan terapi MDT akan terjadi yaitu Th1 akan menghasilkan IL-2 dan INF- γ lebih dominan dibandingkan CD4⁺ (Th-2) menghasilkan IL-10.

Sesuai data pada gambar 5.2 diatas menunjukkan perbedaan peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta reaksi reversal yang mendapat MDT merupakan bentuk aktivitas Th-1 merespon antigenisitas *Mycobacterium leprae* terfragmentasi akibat MDT tersebut telah jelas dan ini juga memperjelas immunopatogenesis reaksi reversal penderita kusta akibat pemberian MDT.

Perbandingan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dengan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline non-reaksi dengan reaksi reversal yang mendapat *Multi Drug Therapy* (MDT) adalah sebagai berikut :

Tabel 6.1 Perbandingan Rerata Proporsi Limfosit T Penghasil IFN- γ dan IL-10 pada Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Reaksi Reversal yang Mendapat MDT

Tipe Kusta	IFN- γ		IL-10	
	Non-Reaksi	Reaksi Reversal	Non-Reaksi	Reaksi Reversal
1	2	3	4	5
BT	1	1,2	2,2	1
BB	1	1,5	1,7	1

Perbandingan tersebut terlihat nyata pada limfosit T penghasil IFN- γ lebih tinggi pada kondisi reaksi reversal sedangkan limfosit T penghasil IL-10 lebih rendah pada kondisi reaksi reversal. Hal ini semakin menjelaskan bahwa bila terjadi aktivitas lebih dominan Th-1 mengekspresikan IFN- γ dari pada Th-2 mengekspresikan IL-10, sehingga respon komponen imunitas tubuh dapat menimbulkan gejala reaksi reversal.

Sesuai pendapat Claudia (1999) dan Eric (2001) bahwa secara spesifik respon DTH (*delayed type hypersensitifiity*) yang merupakan peningkatan reaksi CMI terhadap antigen *Mycobacterium leprae* terfragmentasi dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan detruksi saraf yang bersifat irreversibel, sehingga mengalami ketidak mampuan dalam fungsi normal organ. Secara histopatologi tampak adanya lesi akibat invasi sel *polymononuclear* (PMN) sehingga membentuk edema dan hiperemia.

6.4 Keterbatasan Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian dengan judul proporsi limfosit penghasil IFN- γ dan IL-10 terhadap antigen *Mycobacterium leprae* pada kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT tidak secara random,

sehingga hasil tidak bisa dilakukan generalisasi dan hanya dapat mewakili untuk sebatas responden tersebut.

Kesalahan paralaks sebagai unsur keterbatasan manusia dalam menentukan perubahan semua pada arah suatu limfosit T yang positif IFN- γ dan yang negatif, begitu juga limfosit T yang positif IL-10 dan yang negatif, yang disebabkan oleh perubahan letak pemandang merupakan faktor yang tidak bisa dihindarkan.

BAB 7 PENUTUP

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

- 7.1.1 Pada kusta tipe BT reaksi reversal dan tipe BB reaksi reversal terdapat peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline yang mendapat MDT. Hal ini dikarenakan respon spesifik imunitas seluler lebih dominan akibat dari antigenesitas *M leprae* terfragmentasi yang berupa *delayed type hypersensitivity*
- 7.1.2 Penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 pada lesi jaringan kulit penderita kusta tipe borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT, karena antigen *M leprae* terfragmentasi, lebih mengaktifkan *cell mediated immunity* dibandingkan humoral. Hal ini diketahui dengan adanya rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10 sangat rendah dibandingkan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ .
- 7.1.3 Pada tipe kusta BT reaksi reversal dan tipe BB reaksi reversal mengalami peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan terjadi penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10. Jadi dapat disimpulkan bahwa kejadian reaksi reversal berbanding langsung terhadap peningkatan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan penurunan rerata proporsi limfosit T penghasil IL-10

7.2 Saran

- 7.2.1 Penderita kusta tipe borderline non-reaksi yang mendapatkan terapi MDT

sebelum 6 bulan agar di ketahui rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10 untuk pencegahan dini kejadian reaksi reversal.

- 7.2.2 Instansi pelayanan kesehatan seperti Rumah Sakit yang melayani penderita kusta agar membuat program pemeriksaan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10, sehingga kejadian kusta reaktif dapat ditekan.
- 7.2.3 Pemerintah, melalui Departemen Kesehatan hendaknya memfasilitasi untuk program pemeriksaan rerata proporsi limfosit T penghasil IFN- γ dan IL-10, sehingga kasus kusta reaksi reversal dapat ditekan dan akan menekan besarnya pembiayaan.
- 7.2.4 Perlu ada penelitian lanjutan agar hasil penelitian dapat di generalisasi dan menyederhanakan permasalahan klinik kusta reaksi reversal.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- A.Visintin, et al. (2001). *"Regulation of toll-like receptors in human monocytes and dendritic cells."* J. Immunol. 166: 249
- Abul K Abbas, et. All (2000) *Cellular and Molecular Immunology*, Fourth edition, WB Saunders Company, Philadelphia.
- Abulafia J, (1999) *Leprosy : pathogenesis updated*, Departemen of dermatology University of Buenos Aires, Scholl of Medicine, Buenos Aires, Argentina.
- Abulafia J, (1999) *Leprosy : pathogenesis updated*, Departemen of dermatology University of Buenos Aires, Scholl of Medicine, Buenos Aires, Argentina.
- Achmad Suyudi, (2003), *Keadaan Kusta di Indonesia*, KOMPAS, Minggu, 4 April 2004. Jakarta.
- Agusni I, (1996), *Distribusi Antibodi terhadap PGL-I dan LAM pada Penderita Kusta Baru di RSUD Dr. Soetomo*, Surabaya, KONAS II, PETRI, Surabaya.
- Agusni I, (2001) *Kadar Antibodi terhadap Phenolic Glycolipid-1 (PGL-1) pada Penderita Kusta yang Mendapat Pengobatan Kombinasi MDT-WHO*, Majalah Kedokteran, Indonesia, Surabaya.
- Agusni I, (2003) *Penyakit Kusta Penyakit Tua dengan Segudang Misteri*, Universitas Airlangga, Surabaya
- Ang Por, Dr, (2002) *Lucio's Phenomenon :A Rare Necrotizing Type 2 Raction in Lepromatous Leprosy*, National Skin Centre , Singapore.
- Bellanti, (1999) *Imunologi*, Bina Aksara, Jakarta
- Britton WJ., et all (2004) *Leprosy*, the LANCET – Vol. 363. April, Centenary institue of Cancer Medicine and Cell Biology, Newtown, NSW 2042., Australia.
- Bryceson & Jopling (2003) *LEPROSY - Reactional States - Types 1 and 2*, Amazon. Com, Cyberspacial Book-shop.
- Claudia Verhagen (1999) *Immunohistological Analysis of In Situ Expression of Mycobacterial Antigens in Skin Lessions of Leprosy Patiens Across the Histopathological Spectrum*, Departments of Dermatology, Leiden.
- D.H. Wyllie, et all. (2000). *"Evidence for an accessory protein function for toll-like receptor 1 in anti-bacterial responses."* J. Immunol. 165: 7125

- D.M. Weir (1990) *Imunologi* (segi praktis), Binarupa Aksara, Jakarta.
- D'Ambrosio D, et al (2001) *Chemokines and Their Receptors Guiding T Lymphocyte Recruitment in Lung Inflammation*, American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Vol 164., USA.
- Davies HT, (2002) *What is a Systematic Review ?* www.evidence-based-medicine.co.uk.
- Fizzotti M (1998) *A rare variant of erythema nodosum leprosum: A case report* Dermatology Online Journal 9 (5): 11
- Gerstman BB (1998) *Epidemiology Kept Simple*, New York : Wiley-Liss.
- Hamblin A.S., (2003) *Cytokines and Cytokine Receptors*, Departement of Pathology and Infectious Diseases, Oxford University Press. Oxford New York.
- Hasting (1985) *Leprosy*, Chief Laboratory Research Branch, National Hansen's Disease Center, Carville., Louisiana, USA. Page :110-120.
- Ishii N, Onoda M, Sugita Y, Tomoda M, Ozaki M.(2000) *Survey of newly diagnosed leprosy patients in native and foreign residents of Japan*. Int. J. Lepr; 68: 172-6.
- Ivan Roitt (2003) *Imuinologi* (seri alih bahasa) Cetakan I, Jakarta.
- Ivan Roitt, et. All (2002) *Immunology*, Sixth edition, Mosby, Toronto.
- Ji B. (1995) *Drug resistance in leprosy – a review*. Lepr Rev,; 56: 265–278.
- Johnson A.G., (1999) *High-Yield Immunology*, Departement of Medical and Immunology University of Minnesota, Lippincott Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Company, Philadelphia.
- Jopling & Mc Dougal (1996) *Classification of leprosy according to immunity: a five-groups system* by Ridley D S & Jopling W H.. *Int. J. Leprosy* 34:255-73, 1966. [Hospital for Tropical Diseases, London, and Jordan Hospital, Redhill, Surrey, England]
- Kaiser G, (2003) *Leprosy (Hansen's Disease) and Its Treatment*, Copyright © 2003 Keith Skillicorn. All Rights Reserved.
- Karnen Garna Baratawidjaja (1996) *Imunologi Dasar*, Edisi Ketiga, FK-UI, Jakarta.
- Kaufmann et. All (2002) *Immunology of Infectious Diseases*, Washington, DC.

- Kenneth S Warren MD (1993) *Immunology and Molecular Biology of Parasitic*, Blackwell Scientific Publications, New York.
- Kirchner J, (1999) *ITM2A Is Induced During Thymocyte selection and T Cell Activation and Causes Downregulation of CD8 When Overexpressed in CD4+CD8+ Double Positive Thymocytes*, Departement of Immunology, University of Washington, Seattle.
- Krutzik SR, Ochoa MT, Sieling PA, et al. (2003) *Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy*. Nat Med.
- Kuby J (2000) *Immunology* 4th ed. Freeman and Company, New York
- Kulthanan K (1999), *Lesional T-Cell Subset in Leprosy and Leprosy Reaction*, National Library of medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand.
- Macfarlene A, et, all, (2001) *Presence of Human T-cell Responses to the Mycobacterium leprae 45-Kilodalton Antigen Reflects Infection with or Exposure to M Leprae*, American Society for Microbiology, USA
- Mahaisavariya P, et, al., (1999) *Lesional T-cell subset in leprosy and leprosy reaction*. Department of Dermatology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital,; Mahidol University, Bangkok, Thailand.
- Manson (1996) *Advances in the diagnosis and treatment of leprosy*, Leprosy situation in 2000 by WHO regions, Web, Reprint/PDF version.
- Marcel Dekker (1994) *Macrophage – pathogen interaction*, New York
- Mempel M, (2000), *Comparison of the T cell Patterns in Leprous and Cutaneous Sarcoid Granulomas*, Departement of Immunology, Paris.
- Menurut R. Ganapati, V. V. Pai dan S. Kingsley (2003) *Disability prevention and management in leprosy: A field experience*. Indian J Dermatol Venereol Leprol. Banglades.
- Michael Skacel, et, al., (2000) *The Diagnosis of Leprosy Among Patients With Symptoms of Perpheral Neuropathy Without Cutaneous Lesions*. Laborat de Hansen e, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ - Av. Brasil 4365 - 21045-900 Rio de Janeiro RJ - Brasil. Fax: 55 21 270 9997
- Modlin RL, (1994) *Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy*. Division of Dermatology, David Geffen School of Medicine at University of California Los Angeles, Los Angeles.
- Moschella, S.L., MD, (2004) *An Update on the Diagnosis and treatment of Leprosy*, the American Academy of Deramtology, Burlington,

Massachusetts.

Mosmann TR, Coffman RL.(1991) ***Heterogeneity of cytokine secretion patterns and functions of helper T cells.*** *Adv Immunol.*;46:111-47. Review. No abstract available

Norihisa Ishii, MD, PhD (2003) ***Recent Advances in the treatment of Leprosy,*** *Dermatology Online Journal* 9 (2): 5, Departement of Bioregulation, Leprosy Research center, Tokyo, Japan.

Oli Veira et, all (2003) ***Expression of Toll-Like Receptor 2 on Human Schwann Cells: a Mechanism of Nerve Damage in Leprosy,*** Department of Microbiology and Immunology, David Geffen School of Medicine, University of California at Los Angeles, Los Angeles

Richard H Snyder, MD, (2001) ***Leprosy,*** Vice-Chair, Program Director, Department of Medicine, Norfolk General Hospital; Clinical Associate Professor, Department of Internal Medicine.USA.

Ridley D S & Jopling W H.(1966) ***Classification of leprosy*** according to immunity: a five-group system. *Int. J. Leprosy* 34:255-73.

Roseme B, (2001) ***Borderline tuberculoid leprosy with type 1 reversal reaction*** *Medscape Neurology & Neurosurgery.*

Rutledge B.J, Ph.D, (2004), ***Leprosy Therapyproves Effectiveagainst Rare Disorder,*** Special Report, Washington.

Sasaki S, Takeshita F, Okuda K, Ishii N(2001). ***Mycobacterium leprae and leprosy: a compendium.*** *Microbiol Immunol*; 45: 729-36.

Scott Moses, (2004) ***Leprosy Mycobacterium leprae Hansen's Bacillus,*** Search National Library of Medicine PubMed for related articles.

Shimoji Y et, all, (1999) ***A 21-kDa surface protein of Mycobacterium leprae binds peripheral nerve laminin-2 and mediates Schwann cell invasion.*** Laboratory of Bacterial Pathogenesis and Immunology, The Rockefeller niversity, New York.

Siti Budina Kresno,(2001) ***Imunologi,*** Edisi keempat, FK UI, Jakarta

Sridharan R, (2001) ***Leprosy,*** Departement of Neurology, Apollo Hospital, Sri Ramachandra Medical College, India.

Stefan HA, et, all (2002), ***Role of Heat Shock Proteins in Protection from and Pathogenesis of Infectious Diseases,*** Departement of Immunology, Germany.

- Stephen T Holgate et. all, (1993) *Allergy*, Gower Medical Publishing, London.
- Stites, et all (1994) *Medical Immunology*, tenth edition, Lange Medical Books/McGraw-Hill, Medical Publishing Division, San Francisco.
- Subowo (1993) *Imunobiologi*, Cetakan ke 10, Bandung.
- Sutjita Made, MD., PhD (2004) *Multidrug therapy (MDT) is a key element of the elimination strategy*, Series No. 675. World Health Organization, Geneva,
- Theze J, MD., Ph.D (1999) *The Cytokine Network and Immune Functions*, Oxford University Press. Oxford New York.
- Tristram G.P et.all (2001) *Medical Immunology*, a Lange Medical Book, New York.
- Umar Fahmi Achmadi, (2004), *Keadaan Kusta di Indonesia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Makalah, Jakarta
- Van Brakel WH, Khawas IB, Lucas SB(1994) *Reactions in leprosy: an epidemiological study of 386 patients in west Nepal*. Green Pastures Hospital, Pokhara, Nepal.
- Verhagen C (1999) *Immunohistological analysis of in situ expression of mycobacterial antigens in skin lesions of leprosy patients across the histopathological spectrum. Association of Mycobacterial lipoarabinomannan (LAM) and Mycobacterium leprae phenolic glycolipid-I (PGL-I) with leprosy reactions*. Departments of Dermatology, Academic Medical Center, University of Amsterdam, The Netherlands.
- WHO (2002). *Study Group. Chemotherapy of leprosy for control programmes. WHO Technical Report Series No. 675*. World Health Organization, Geneva.
- Zerva, (1996) *Leprosy Situation in India*, Uttar Pradesh.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Jadwal Kegiatan

WAKTU KEGIATAN	Juni 2005				Juli 2005				Agust 2005				Sept 2005				Okt 2005				Nov 2005				Des 2005			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
1. Persiapan																												
2. Matrik																												
3. Instrumen																												
4. Proposal																												
5. Uji Coba																												
6. Pengumpulan Data																												
7. Analisa Data																												
8. Penyusunan Laporan																												
9. Ujian Hasil Penelitian																												
10. Penyusunan Artikel																												

Lampiran 2 Rincian Biaya**RINCIAN ANGGARAN PENELITIAN**

Item Pengeluaran Uang	Jumlah Pengeluaran
1. Gaji dan Upah Pelaksanaan Biopsi	Rp. 6.000.000,-
2. Bahan Habis Pakai (Material Penelitian)	Rp. 15.000.000,-
3. Biaya Perjalanan (Maksimum 10 %)	Rp. 2.500.000,-
4. Biaya Pengeluaran Lain-lain yang meliputi	Rp. 2000.000,-
<ul style="list-style-type: none"> - Biaya Pemotretan / Scanning Sample - Biaya Dokumentasi dan Pembuatan Laporan - Fotocopy dan Penjilidan - Administrasi Surat – menyurat - Biaya Pemeliharaan Alat 	
T o t a l	Rp. 25.500.000,-

Lampiran 3 Penjelasan dan Informasi (*Informed Consent*)**PENJELASAN DAN INFORMASI**

Surabaya,2005

Kepada Yth. Responden

Dengan hormat,

Saya, Joni Haryanto peserta Program Pasca Sarjana (S2 Imunologi) Universitas Airlangga Surabaya angkatan 2003/2004. Saya akan melakukan penelitian tentang **“PROPORSI LIMFOSIT PENGHASIL IFN- γ DAN IL-10 TERHADAP ANTIGEN *MYCOBACTERIUM LEPRAE* PADA KUSTA TIPE BORDERLINE DENGAN REAKSI REVERSAL”** dengan Pembimbing Ketua Prof Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS dan Pembimbing Prof Dr Indropo Agusni, dr, Sp.KK.(K)

Perlu disadari bahwa penelitian ini memerlukan lesi jaringan kulit (jaringan non vital) dari penderita kusta, yang akan diambil dengan cara biopsi insisi, dimana :

Bertujuan : 1. Untuk pemeriksaan histopatologi, sehingga diagnose dapat tepat ditegakan dan pengobatan / perawatan bisa optimal.
2. Untuk pemeriksaan imunohistokimia, sehingga mengetahui proporsi IFN- γ dan IL-10 dengan ini perkembangan penyakit dapat diketahui secara dini.

Prosedur : 1. Persiapan penderita
a. Memperoleh pernyataan persetujuan
b. Memberikan posisi nyaman
c. Desinfeksi daerah yang akan di lakukan biopsi insisi
d. Cuci tangan dan pakai sarung tangan steril
e. Tindakan biopsi insisi dilakukan dan hasil dikirim kebagian laboratorium imunohistokimia dan histopatologi.
f. 1 – 2hari luka insisi tidak kena air dan pemberian antibiotik
g. Hari ke 3 – 5 di evaluasi
h. Sembuh
2. Persiapan peralatan
a. Bersihkan trolley dengan kapas spiritus
b. Pakailah baju panjang, masker dan cuci tangan.
c. Buka perlengkapan biopsi
d. Tuangkan cairan desinfektan yang dibutuhkan
e. Siapkan spuit injeksi, jarum, pisau dan benang.

Masa pemulihan : Umumnya perlu 3 – 5 hari untuk sembuh
Lama tindakan 5 – 15 menit

Komplikasi : Infeksi sekunder

Tindakan penyulit : Perawatan dan Pengobatan Adekuat

Penelitian ini bersifat bebas dan tanpa paksaan, saudara bebas mengundurkan diri sebagai responden jika merasa dirugikan sewaktu-waktu tanpa adanya sangsi dalam pelayanan. Informasi yang diberikan akan saya jamin kerahasiaannya dengan tanpa menyebutkan nama dalam laporan penelitian.

Jika Bapak / Ibu / Saudara / Saudari setuju, silahkan menandatangani lembar pernyataan persetujuan yang telah disediakan..

Atas partisipasi Bapak / Ibu / Saudara / Saudari, saya sampaikan banyak terima kasih.

Hormat saya

Joni Haryanto, S.Kp

Lampiran 4 Pernyataan Persetujuan**PERNYATAAN PERSETUJUAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini dengan penuh kesadaran telah mengerti dan memahami maksud dari penelitian yang akan dilakukan sdr Joni Haryanto, S.Kp, mahasiswa Program Pasca Sarjana Imunologi Universitas Airlangga, bahwa penderita penyakit kusta dalam indikasi biopsi untuk tujuan konfirmasi diagnostik klinik dan uji kesembuhan, dengan ini maka :

Nama :

Umur :tahun

Agama : Islam / Kristen Protestan / Katolik / Hindu / Budha / dll

Pendidikan :

Alamat :

.....

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa saya setuju menjadi subyek dalam penelitian dengan Judul : **PROPORSI LIMFOSIT PENGHASIL IFN- γ DAN IL-10 TERHADAP ANTIGEN *Mycobacterium leprae* PADA KUSTA TIPE BORDERLINE DENGAN REAKSI REVERSAL**

Demikianlah *pernyataan persetujuan* saya, dibuat dengan penuh kesadaran dan agar dapat diperlukan sebagaimana mestinya.

Surabaya,2005

Yang Memberi Pernyataan Persetujuan

.....

Lampiran 5

**LEMBAR PERSETUJUAN
MENGIKUTI PENELITIAN**
(Informed Consent)

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :

Umur / Jenis Kelamin :tahun, laki-laki / perempuan

Alamat :

Untuk : Diri sendiri Istri
 Anak Orang tua
 Lainnya

Nama Pasien :

Umur :

Alamat :

Nomer register :

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya, bahwa secara sadar, sukarela dan tanpa paksaan bersedia :

1. Ikut berpartisipasi dalam penelitian dan akan mengikuti semua prosedur penelitian.
2. Akan mengikuti tatalaksana dalam penelitian tersebut yang menyangkut tatalaksana pelaksanaan biopsi dan pemberian antibiotika profilaksis dosis multipel.
3. Setelah mempelajari tatacara penelitian dan penjelasan dari peneliti, saya memahami akan maksud dan tujuan penelitian tersebut serta metode yang digunakan. Saya mengerti bahwa penelitian semacam ini pernah dilakukan dan tidak ada laporan mengenai pengaruh buruk pada peserta penelitian.
4. Saya mengerti bahwa saya dapat membatalkan pernyataan ini dan dapat menarik diri dari penelitian setiap waktu tanpa mempengaruhi perawatan yang seharusnya diterima.

Istri/Orang tua Saksi Surabaya,2005
Penderita

(.....) (.....) (.....)

Dokter

(.....)

Lampiran 7 *Ethical Clearence*

PEMERINTAH PROPINSI JAWA TIMUR
RUMAH SAKIT UMUM Dr. SOETOMO
PANITIA ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Jl. Mayjen.Prof.Dr. Moestopo No. 6-8, Tlp. 5501640

Nomor : 68 /Panelitkes.VIII/2005
Sifat :
Lamp. : 2 (dua) lembar keterangan
Kelaikan etik
Hal. : Ethical Clearance a.n :
Sdr. Joni Haryanto

18 JUN 2005

Kepada Yth.
Direktur RSUD Dr. Soetomo
S u r a b a y a

Menindak - lanjuti permintaan KPS PSIK - FK UNAIR Surabaya Surabaya tanggal 14 Juni 2005 no. 5455/J03.1.21/PSIK & PP/2005 perihal permohonan izin untuk penelitian, dengan ini diberitahukan bahwa Panitia Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Soetomo Surabaya telah mempelajari dengan seksama rancangan penelitian dengan judul :

“ Proporsi Limfosit Penghasil IFN - γ dan IL - 10 Terhadap Antigen *Mycobacterium Leprae* Pada Kusta Tipe Mild - Borderline Dengan Reaksi Reversal yang Mendapat MDT “

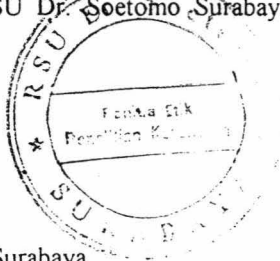
Rancangan - rancangan tersebut diatas dinyatakan LAIK ETIK

Bersama ini kami lampirkan keterangan kelaikan etik rangkap 2 (dua) lembar :

1. 1 (satu) lembar sertifikat asli untuk peneliti utama
2. 1 (satu) lembar sertifikat sebagai turunannya untuk KPS PSIK - FK UNAIR Surabaya

Selanjutnya kami mengharapkan setelah penelitian selesai, dimohon kepada yang bersangkutan untuk mengirimkan 2 (dua) eksemplar hasil penelitiannya kepada Panitia Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Ketua Panitia Etik Penelitian Kesehatan
RSUD Dr. Soetomo Surabaya,





Prof.dr.HR Hariadi, SpOG-K

Ketua I

Tembusan : kepada Yth.:

- Dekan Fakultas Kedokteran UNAIR Surabaya
- KPS PSIK - FK UNAIR Surabaya
- Kepala Bidang LITBANG RSUD Dr. Soetomo Surabaya
- ⊖ Sdr. Joni Haryanto, Staf Dosen pada PSIK -FKUA S u r a b a y a


dr. B.Handoko Daeng, SpKJ

Sekretaris I



IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
PEMERINTAH PROPINSI JAWA TIMUR
RUMAH SAKIT UMUM Dr. SOETOMO
Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No. 6 - 8 Telp. (031) 5501011 - 5501012
SURABAYA

30 AUG 2005

Nomor : 070/ 849 /304.3.VIII/2005
Sifat :
Lamp. : 2 (dua) lembar keterangan
Kelaikan Etik
Hal. : Ethical Clearance a. n :
Sdr. Joni Haryanto

Kepada Yth.
Ketua PSIK _ FK UNAIR
Surabaya

Menindak - lanjut permintaan KPS PSIK - FK UNAIR Surabaya tanggal 14 Juni 2005 nomor : 5455/J03.1.17/PSIK & PP/2005 perihal permohonan izin untuk penelitian, dengan ini diberitahukan bahwa Panitia Etik Penelitian Kesehatan RSU Dr. Soetomo Surabaya telah mempelajari dengan seksama rancangan penelitian dengan judul :

“ Proporsi Limfosit Penghasil IFN - γ dan IL - 10 Terhadap Antigen *Mycobacterium Leprae* pada Kusta Tipe Mild - Borderline Dengan Reaksi Reversal yang Mendapat MDT “

dengan ini diberitahukan bahwa rancangan penelitian diatas oleh Panitia Etik Penelitian Kesehatan RSU Dr. Soetomo Surabaya dinyatakan **LAIK ETIK** dan kami mengizinkan kepada yang bersangkutan (Peneliti Utama) untuk melakukan / melaksanakan penelitian dengan syarat :

1. **Tidak ada** biaya tambahan yang dibebankan kepada pasien maupun pihak RSU Dr. Soetomo Surabaya
2. Sebelum pelaksanaan penelitian, yang bersangkutan (Peneliti Utama) harap menghubungi Bidang LITBANG RSU Dr. Soetomo Surabaya.
3. 2 (dua) lembar sertifikat kelaikan etik dimaksud dapat diambil di Bidang LITBANG RSU Dr. Soetomo Surabaya.
1 (satu) lembar sertifikat untuk peneliti utama, sedangkan 1 (satu) lembar sertifikat sebagai turunannya sebagai turunannya untuk KPS PSIK - FK UNAIR Surabaya.
4. Setelah selesai penelitian, harap kepada yang bersangkutan untuk mengirimkan 2 (dua) eksemplar hasil penelitiannya kepada Bidang LITBANG RSU Dr. Soetomo Surabaya.

Atas perhatian KPS PSIK - FK UNAIR Surabaya, kami sampaikan terima kasih.

Tembusan : Kepada Yth.

- Dekan FK UNAIR Surabaya
- Ketua Pan. Etik Penelitian Kesehatan RSU Dr. Soetomo
- Kepala Bid. LITBANG RSU Dr. Soetomo Surabaya
- ✓ - Sdr. Joni Haryanto, Staf dosen pada PSIK - FK UNAIR Surabaya

Direktur
Wakil Pendidikan & Penelitian, *f*

Dr. Marsianto, SpOG-KFM
NIP. 130 520 447

PEMERINTAH PROPINSI JAWA TIMUR
RUMAH SAKIT UMUM DOKTER SOETOMO
BIDANG PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
JL. KARANGMENJANGAN NO. 12 TELP. 5501071 – 73, 5501164, FAX. 5501116
SURABAYA

Surabaya, 07 SEP 2005

Nomor : 070/ 627 /Litb/304/2005
Sifat :
Lampiran : 1 lembar
Perihal : Sertifikat Kelaikan Etik

Kepada Yth :
Ketua Program Studi S1. Ilmu Keperawatan
Fak. Kedokteran Unair
di -
Surabaya

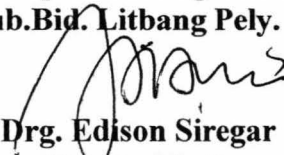
Bersama ini kami sampaikan surat kelaikan etik kepada :

N a m a : Joni Haryanto
Institusi : Program Studi S1. Ilmu Keperawatan FK. Unair
Judul : “ Proporsi limfosit penghasil IFN – y dan IL – 10 terhadap antigen Mycobacterium Leprae pada kusta tipe Mild – Borderline dengan reaksi reversal yang mendapat MDT di RSU Dr. Soetomo “

Biaya penelitian RS :

Atas perhatiannya kami sampaikan terima kasih.

**A.n. Kepala Bidang Litbang
Ka. Sub.Bid. Litbang Pely. Medik,**


**Drg. Edison Siregar
Perata Tk. I
NIP. 140 255 690**

Tembusan :
Wadir Diklit RSU Dr. Soetomo



**PANITIA ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSU Dr. SOETOMO SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 37/Panke.KKE/2005

PANITIA KELAIKAN ETIK RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN BERJUDUL :

“ Proporsi Limfosit Penghasil IFN- γ dan IL-10 Terhadap Antigen *Mycobacterium Leprae* Pada Kusta Tipe Mild – Borderline Dengan Reaksi Reversal yang Mendapat MDT “

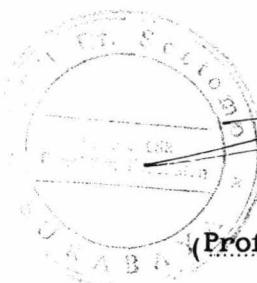
PENELITI UTAMA : Sdr. Joni Haryanto

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN : RSUD Dr. Soetomo Surabaya

DINYATAKAN LAIK ETIK.

SURABAYA, 11 AUG 2005

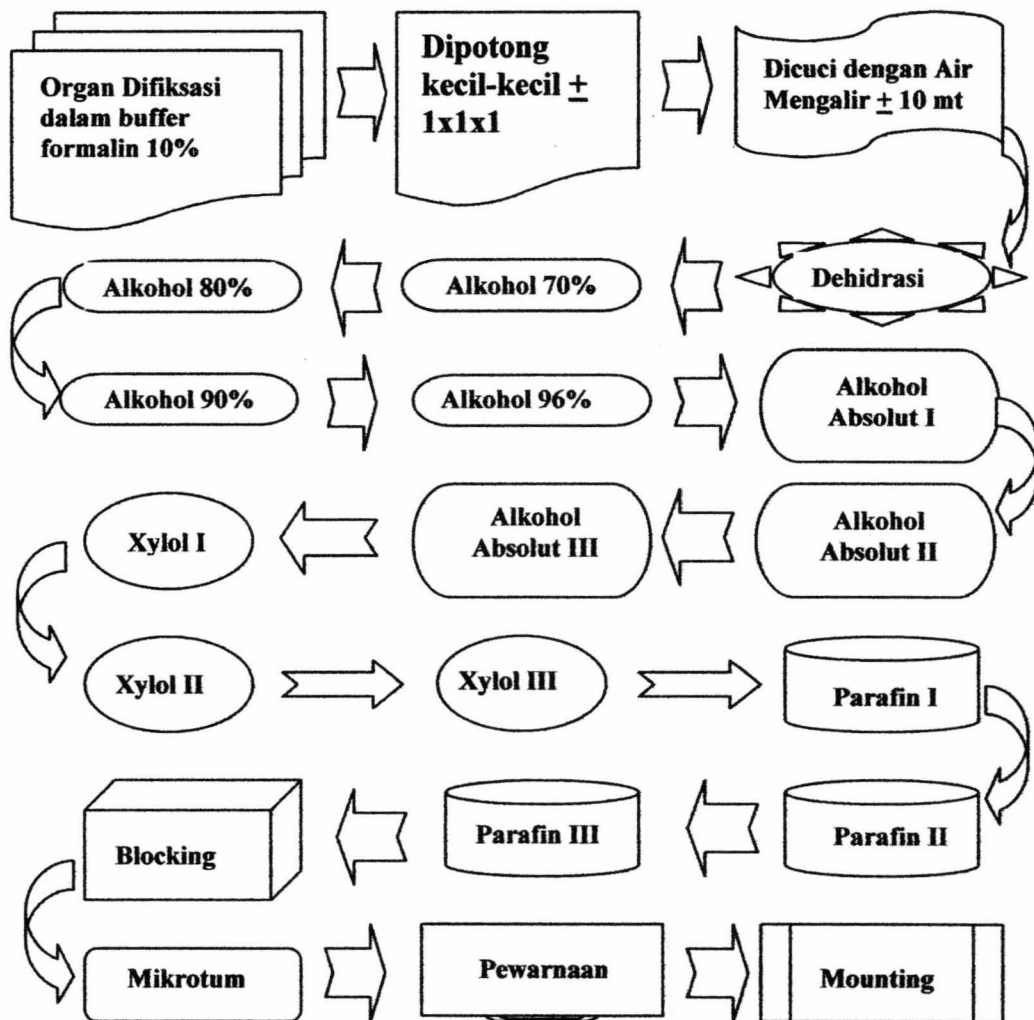
KETUA I



(Prof.H.R Hariadi, dr., SpOG-K)

Lampiran 8 Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi

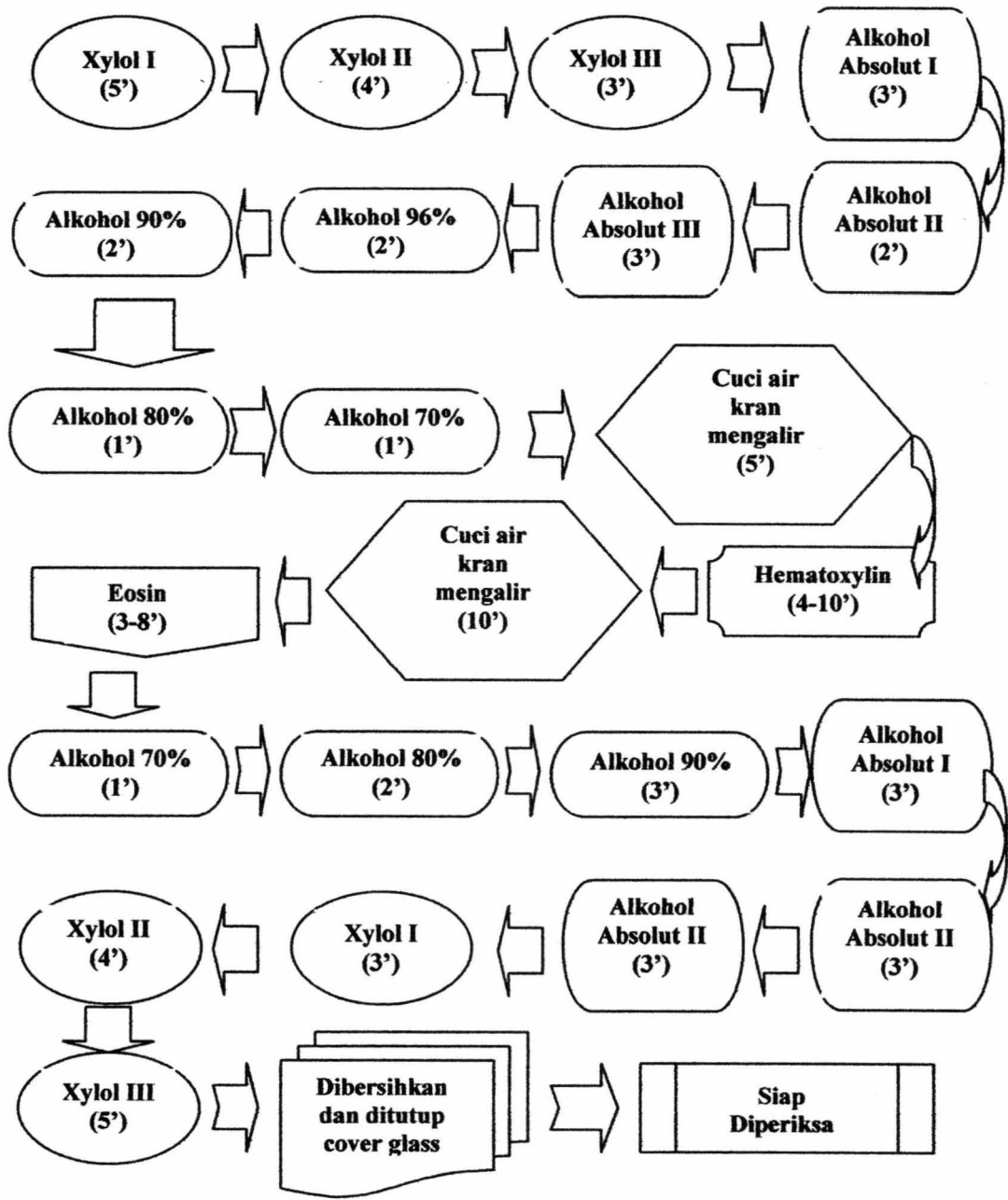
Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi



Lampiran 9 Prosedur Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Setelah jaringan dipotong di mikrotom dan dilekatkan pada obyek glass



Lampiran 10

Data Proporsi IFN- γ Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Mid-Borderline

No Sampel	Limfosit		Σ	%	Ket
	IFN- γ +	IFN- γ -			
1	2	3	4	5	6
1	19	30	49	38.776	BL
2	21	29	50	42.000	BL
3	25	21	46	54.348	BB
4	16	29	45	35.556	BL
5	30	28	58	51.724	BB
6	53	24	77	68.831	BT
7	23	31	54	42.593	BL
8	28	20	48	58.333	BB
9	23	15	38	60.526	BB
10	35	26	61	57.377	BB
11	61	26	87	70.115	BT
12	27	21	48	56.250	BB
13	28	26	54	51.852	BB
14	30	32	62	48.387	BB
15	29	28	57	50.877	BL
16	50	22	72	69.444	BT
17	35	30	65	53.846	BB
18	20	18	38	52.632	BB
19	49	23	72	68.056	BT
20	40	14	54	74.074	BT
21	30	35	65	46.154	BB
22	51	28	79	64.557	BT
23	38	16	54	70.370	BT

Lampiran 11

Data Proporsi IFN- γ Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Mid-Borderline Reaksi Reversal

No Sampel	Limfosit		Σ	%	Ket
	IFN- γ +	IFN- γ -			
1	2	3	4	5	6
1	240	69	309	77.669	BB Reversal
2	225	51	276	81.522	BT Reversal
3	190	40	230	82.609	BT Reversal
4	100	23	123	81.301	BB Reversal
5	150	35	185	81.081	BT Reversal
6	102	25	127	80.315	BT Reversal
7	112	28	140	80.000	BB Reversal
8	126	31	157	80.255	BB Reversal
9	133	29	162	82.099	BB Reversal
10	140	32	172	81.395	BB Reversal
11	234	57	291	80.412	BT Reversal
12	167	34	201	83.085	BB Reversal
13	108	23	131	82.447	BB Reversal
14	89	10	99	89.899	BB Reversal
15	161	38	199	80.905	BB Reversal
16	71	12	83	85.542	BT Reversal
17	180	20	200	90.000	BB Reversal
18	153	32	185	82.702	BB Reversal
19	108	13	121	89.256	BT Reversal
20	188	21	209	89.952	BT Reversal
21	123	22	145	84.827	BB Reversal
22	172	21	193	80.119	BT Reversal
23	122	11	133	91.729	BT Reversal

Lampiran 12

Data Proporsi IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Mid-Borderline

No Sampel	Limfosit		Σ	%	Ket
	IL-10 +	IL-10 -			
1	2	3	4	5	6
1	129	33	162	79.629	BL
2	220	46	346	63.584	BL
3	101	34	135	74.815	BB
4	219	62	281	77.936	BL
5	99	49	148	66.89	BB
6	37	30	67	55.224	BT
7	201	51	252	79.762	BL
8	89	42	131	67.939	BB
9	130	59	189	68.783	BB
10	103	45	148	69.595	BB
11	42	39	81	51.852	BT
12	78	40	118	66.102	BB
13	89	43	132	67.424	BB
14	100	49	149	67.114	BB
15	212	60	272	77.941	BL
16	29	20	49	59.184	BT
17	88	43	131	67.176	BB
18	109	50	159	68.553	BB
19	76	68	144	52.778	BT
20	175	121	296	59.122	BT
21	125	45	170	73.529	BB
22	92	70	162	56.790	BT
23	98	68	166	59.036	BT

Lampiran 13

Data Proporsi IL-10 Lesi Jaringan Kulit Penderita Kusta Tipe Mid-Borderline Reaksi Reversal

No Sampel	Limfosit		Σ	%	Ket
	IL-10 +	IL-10 -			
1	2	3	4	5	6
1	44	53	97	45.361	BB Reversal
2	27	76	103	26.214	BT Reversal
3	19	40	59	32.203	BT Reversal
4	33	43	76	43.421	BB Reversal
5	37	41	78	47.436	BT Reversal
6	17	59	76	22.368	BT Reversal
7	29	40	79	36.709	BB Reversal
8	39	57	96	40.625	BB Reversal
9	39	52	91	42.857	BB Reversal
10	32	49	81	39.506	BB Reversal
11	14	61	75	18.667	BT Reversal
12	29	40	69	42.029	BB Reversal
13	29	43	72	40.278	BB Reversal
14	32	49	71	45.070	BB Reversal
15	30	51	81	37.037	BB Reversal
16	22	67	89	24.719	BT Reversal
17	31	46	77	40.259	BB Reversal
18	49	56	105	46.667	BB Reversal
19	26	88	114	22.807	BT Reversal
20	35	95	130	26.293	BT Reversal
21	35	50	85	41.176	BB Reversal
22	22	88	110	20.000	BT Reversal
23	20	78	98	20.408	BT Reversal

Lampiran 14

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BT	7	69.3486	2.85141	64.56	74.07
BB	11	53.7664	4.26865	46.15	60.53
BL	5	41.9620	5.72358	35.56	50.88
BTREV	10	84.2540	4.50485	80.12	91.73
BBREV	13	82.8162	3.59936	77.67	90.00
KLP	46	3.2391	1.47851	1.00	5.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BT	BB	BL	BTREV	BBREV
N		7	11	5	10	13
Normal Parameters(a,b)	Mean	69.3486	53.7664	41.9620	84.2540	82.8162
	Std. Deviation	2.85141	4.26865	5.72358	4.50485	3.59936
Most Extreme Differences	Absolute	.217	.134	.256	.242	.239
	Positive	.217	.082	.256	.242	.239
	Negative	-.183	-.134	-.140	-.179	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		.575	.444	.573	.767	.861
Asymp. Sig. (2-tailed)		.896	.989	.898	.599	.448

a Test distribution is Normal.
 b Calculated from data.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BTIL	7	56.2829	3.09170	51.85	59.18
BBIL	11	68.9018	2.79758	66.10	74.82
BLIL	5	75.7700	6.87084	63.58	79.76
BTREVIL	10	26.1120	8.45961	18.67	47.44
BBREVIL	13	41.6169	3.03718	36.71	46.67
KLP	46	3.2391	1.47851	1.00	5.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BTIL	BBIL	BLIL	BTREVIL	BBREVIL
N		7	11	5	10	13
Normal Parameters(a,b)	Mean	56.2829	68.9018	75.7700	26.1120	41.6169
	Std. Deviation	3.09170	2.79758	6.87084	8.45961	3.03718
Most Extreme Differences	Absolute	.242	.245	.424	.292	.103
	Positive	.174	.245	.281	.292	.096
	Negative	-.242	-.158	-.424	-.190	-.103
Kolmogorov-Smirnov Z		.641	.811	.948	.922	.371
Asymp. Sig. (2-tailed)		.806	.526	.330	.363	.999

a Test distribution is Normal.
 b Calculated from data.

Lampiran 15

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
IFN	.980	4	41	.429
IL10	1.979	4	41	.116

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	99% Confidence Interval of the Difference		
										Lower	Upper
IFN	Equal variances assumed	1.551	.231	8.482	16	.000	15.58	1.837	10.216	20.948	
	Equal variances not assumed			9.282	15.906	.000	15.58	1.679	10.675	20.489	
IL10	Equal variances assumed	.438	.518	-8.965	16	.000	12.62	1.408	16.730	-8.508	
	Equal variances not assumed			-8.756	11.937	.000	12.62	1.441	17.025	-8.213	

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
IFN	Between Groups	10995.158	4	2748.789	160.968	.000
	Within Groups	700.142	41	17.077		
	Total	11695.300	45			
IL10	Between Groups	14123.287	4	3530.822	134.136	.000
	Within Groups	1079.229	41	26.323		
	Total	15202.516	45			

Lampiran 16

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) KLP	(J) KLP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
IFN	1.00	2.00	15.58(*)	1.998	.000	10.19	20.98
		3.00	27.39(*)	2.420	.000	20.85	33.92
		4.00	-14.91(*)	2.036	.000	-20.41	-9.40
		5.00	-13.47(*)	1.937	.000	-18.70	-8.23
	2.00	1.00	-15.58(*)	1.998	.000	-20.98	-10.19
		3.00	11.80(*)	2.229	.000	5.78	17.82
		4.00	-30.49(*)	1.806	.000	-35.36	-25.61
		5.00	-29.05(*)	1.693	.000	-33.62	-24.48
	3.00	1.00	-27.39(*)	2.420	.000	-33.92	-20.85
		2.00	-11.80(*)	2.229	.000	-17.82	-5.78
		4.00	-42.29(*)	2.263	.000	-48.41	-36.18
		5.00	-40.85(*)	2.175	.000	-46.73	-34.98
	4.00	1.00	14.91(*)	2.036	.000	9.40	20.41
		2.00	30.49(*)	1.806	.000	25.61	35.36
		3.00	42.29(*)	2.263	.000	36.18	48.41
		5.00	1.44	1.738	.413	-3.26	6.13
	5.00	1.00	13.47(*)	1.937	.000	8.23	18.70
		2.00	29.05(*)	1.693	.000	24.48	33.62
		3.00	40.85(*)	2.175	.000	34.98	46.73
		4.00	-1.44	1.738	.413	-6.13	3.26
IL10	1.00	2.00	-12.62(*)	2.481	.000	-19.32	-5.92
		3.00	-19.49(*)	3.004	.000	-27.60	-11.37
		4.00	30.17(*)	2.528	.000	23.34	37.00
		5.00	14.67(*)	2.405	.000	8.17	21.16
	2.00	1.00	12.62(*)	2.481	.000	5.92	19.32
		3.00	-6.87	2.767	.017	-14.34	.61
		4.00	42.79(*)	2.242	.000	36.73	48.85
		5.00	27.28(*)	2.102	.000	21.61	32.96
	3.00	1.00	19.49(*)	3.004	.000	11.37	27.60
		2.00	6.87	2.767	.017	-6.1	14.34
		4.00	49.66(*)	2.810	.000	42.07	57.25
		5.00	34.15(*)	2.700	.000	26.86	41.45
	4.00	1.00	-30.17(*)	2.528	.000	-37.00	-23.34
		2.00	-42.79(*)	2.242	.000	-48.85	-36.73
		3.00	-49.66(*)	2.810	.000	-57.25	-42.07
		5.00	-15.50(*)	2.158	.000	-21.33	-9.68
	5.00	1.00	-14.67(*)	2.405	.000	-21.16	-8.17
		2.00	-27.28(*)	2.102	.000	-32.96	-21.61
		3.00	-34.15(*)	2.700	.000	-41.45	-26.86
		4.00	15.50(*)	2.158	.000	9.68	21.33

* The mean difference is significant at the .01 level.