

KK
KFA
TWD 90/11
Anj
P

TESIS

**PERBANDINGAN PAPARAN *M. Leprae* DI DATARAN RENDAH DAN
DATARAN TINGGI DI DAERAH NON-ENDEMIK KUSTA**

**STUDI SEROEPIDEMIOLOGI DAN BIO-MOLEKULAR PADA ANAK
SEKOLAH DI KABUPATEN PACITAN JAWA TIMUR**



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Dwi Utami Anjarwati
090610553/M

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

*Tidaklah tampak zikir kecuali bila timbul dari
Penyaksian dan perenungan*

*Berpikir adalah petualangan hati dalam
medan ciptaan Allah*

Ibn 'Atha'illah

TESIS

**PERBANDINGAN PAPARAN *M. leprae* DI DATARAN RENDAH DAN
DATARAN TINGGI DI DAERAH NON-ENDEMIK KUSTA**

**STUDI SEROEPIDEMIOLOGI DAN BIO-MOLEKULAR PADA ANAK
SEKOLAH DI KABUPATEN PACITAN JAWA TIMUR**

**Dwi Utami Anjarwati
090610553/M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

**PERBANDINGAN PAPARAN *M. leprae* DI DATARAN RENDAH DAN
DATARAN TINGGI DI DAERAH NON-ENDEMIK KUSTA**

**STUDI SEROEPIDEMIOLOGI DAN BIO-MOLEKULER PADA ANAK
SEKOLAH DI KABUPATEN PACITAN JAWA TIMUR**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

**Oleh:
Dwi Utami Anjarwati
090610553/M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

Tanggal 18 April 2008

Lembar Pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL, 18 April 2008**

Oleh

Pembimbing Ketua

**Prof Indropo Agusni, dr, SpKK(K)
NIP. 130610751**

Pembimbing

**Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK
NIP. 130676011**

Ketua Progam Studi Ilmu Kedokteran Dasar

**Prof Retno Handajani, dr, MS, Ph.D
NIP. 130541984**

Penetapan Panitia Penguji Tesis

Telah diuji pada

Tanggal 18 April 2008

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr Florentina Sustini, dr, MS

Anggota : 1. Prof Dr Indropo Agusni, dr, SpKK(K)
2. Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK
3. Setio Harsono, dr, MS, SpMK
4. Budiono, dr, M.Kes
5. Dr Cita Rosita Sigit Prakoeswa, dr, SpKK

UCAPAN TERIMA KASIH

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabbil Alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga proses penyusunan tesis ini dapat berjalan lancar.

Tesis ini dapat diselesaikan berkat bimbingan, arahan, saran dan koreksi dari pembimbing, oleh karenanya dalam kesempatan ini saya menyampaikan rasa terimakasih yang dalam dan tulus serta penghormatan tak terhingga kepada:

Prof Dr Indropo Agusni, dr, SpKK(K), sebagai pembimbing I yang telah memberikan kesempatan meneliti dan belajar seluas-luasnya, fasilitas, dukungan, waktu dan tenaga, masukan, ilmu tentang kusta yang bermanfaat dengan penuh kesabaran, perhatian serta pengertian. Semoga pahala yang abadi senantiasa diberikan Allah kepada beliau.

Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK sebagai pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, cara berpikir konseptual, logis dan ilmiah, waktu dan tenaga dengan penuh kesabaran, perhatian serta pengertian. Semoga Allah melimpahkan pahala yang kekal kepada beliau.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya juga saya sampaikan kepada:

Prof Dr Sudjarwo, Ir selaku Rektor Universitas Jenderal Soedirman, Dra Purnomowati, MS selaku dekan Fakultas Biologi UNSOED, Retno Widiastuti dr, MS selaku dekan Fakultas Kedokteran UNSOED, HM Mambodyanto SP, dr, SH, MMR selaku ketua jurusan Fakultas Kedokteran UNSOED beserta staf atas ijin, kesempatan, fasilitas dan dukungannya kepada saya untuk menjalani program magister di Program Pasca Sarjana Unair, Surabaya. Demikian pula Kepada Departemen Pendidikan Nasional yang dengan BPPSnya menyediakan dana untuk studi saya, dan ASOMA (Asosiasi orang tua mahasiswa) Fakultas Kedokteran UNSOED yang memberikan pula bantuan dana pendidikan.

Prof Dr Fasichul Lisan, Apt selaku Rektor Universitas Airlangga, Prof Dr Hj Sri Hajati, SH, MS selaku direktur Pasca Sarjana Unair beserta jajaran pimpinan dan staf Pasca Sarjana Unair, Prof Dr Muhammad Amin, dr, SpP(K) selaku dekan Fakultas Kedokteran Unair, beserta jajaran pimpinan dan Staf Fakultas Kedokteran Unair, Prof Dr Harjanto JM, dr, AIF selaku Ketua TKPSM Unair beserta staf, Prof Retno Handajani, dr, MS, Ph.D selaku Ketua Program Studi Pasca Sarjana Ilmu Kedokteran Dasar Unair beserta staf, yang telah memberi kesempatan dan fasilitas bagi saya dalam menjalani program magister di program Pasca Sarjana Unair.

Anggota tim penguji : Setio Harsono, dr, MS, SpMK; Dr F Sustini, dr, M.kes; Budiono dr, M.Kes yang telah memberi kritik dan saran bermanfaat sesuai ilmunya pada penyusunan proposal untuk tesis saya.

Para dosen MKDU dan minat Mikrobiologi kedokteran Pasca Sarjana Unair yang saya hormati yang telah memberikann bekal ilmu bermanfaat, kritik dan saran membangun hingga proses akhir pendidikan.

Terima kasih yang dalam tak lupa pula saya sampaikan kepada semua pihak yang membantu dan mendukung pendidikan dan penelitian saya: Shinzo Izumi, dr, PhD, Peneliti ahli dari ICMRT, Kobe University, yang telah memberikan kesempatan penelitian dan belajar kusta seluas-luasnya, diskusi,

bimbingan, waktu dan tenaga, menyediakan bahan serta fasilitas bagi saya dalam menyelesaikan tesis; Prof Dr Yoes Prijatna Dachlan, dr, MsC selaku mantan ketua TDC beserta staf; Dr Nasronudin, dr, SpPD-KPTI selaku ketua TDC dan staf yang telah memberi ijin dan kesempatan penelitian; Bupati Kabupaten Pacitan beserta staf; Kepala Dinas Kabupaten Pacitan, dr Eko; Bapak Baskoro dan staf lain; Mr Shoji Sato, *Consult general* Jepang, yang sangat membantu dan memberi kemudahan dalam pencarian data untuk tesis saya.

Kepada Kepala Puskesmas Donorojo, dr Iman Darmawan; Bapak Edi dan staf lain; Kepala Puskesmas Jeruk I, dr Didik Agus S ; Bapak Wasis dan staf lain; Kepala Puskesmas jeruk II, dr Imam dan staf; Bapak Camat, kepala Desa dan Staf Bangunsari Jeruk; Kepala sekolah, staf dan siswa SD Cemeng I, Gendaran I, Bangunsari I,II,III, serta masyarakat setempat atas sambutan, bantuan dan kerelaannya yang luar biasa sehingga didapatkan data-data penelitian, saya berikan apresiasi yang tak terhingga pula.

Kepala dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur dan staf yang telah membantu menyediakan data awal penelitian, saya mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya. Demikian pula kepada Bapak Minin Achmad SKM, pensiunan Dinkes Jatim yang telah membantu pengambilan data.

Dr Cita Rosita SP, dr, SpKK dari bagian Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga sekaligus sebagai Tim *Leprosy Study Group*-TDC-Unair dan anggota penguji tesis, terimakasih atas segala bantuan dan dukungannya. Rekan-rekan *Leprosy Study Group*-TDC-Unair: Dinar Adriaty, S.Si, M.Kes, Ratna Wahyuni S.Si, Iswahyudi SKM yang dengan keceriaannya telah banyak membantu dan menjadi teman diskusi, teman dalam suka dan duka dalam proses penyusunan tesis.

Dahliatul Qosimah drh, rekan seperjuangan dalam menuntut ilmu mikrobiologi Kedokteran; Maruni Wiwin Diarti SSi, Sugeng SKM, Gunarti SSi dan rekan-rekan lain angkatan 2006/2007 yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu terima kasih atas kebersamaan, bantuan dan dukungan yang tidak akan pernah saya lupakan. Rekan sejawat dr Puji Dian Cahyani beserta ketiga jundijundinya yang dalam ketabahan menghadapi cobaan hidup, telah memberikan bantuan ketika saya berada di Pacitan, terima kasih dan doa saya sampaikan untuk mereka. Terimakasih pula kepada rekan Sejawat Saryono, SKP, M.Kes yang selalu bersedia mengangkat telfon untuk berdiskusi tentang statistik.

Akhirnya segala hasil yang ada saya persembahkan untuk: pendamping hidup dan pengayom saya, M. Choiron, ST, MT yang dengan cinta kasih, kesabaran, dan ketulusannya memberikan inspirasi, dukungan moril dan materil serta motivasi untuk selalu bisa melangkah menapaki jalan yang harus saya tempuh; Pelita hati dan kebahagiaan saya, De Lubna Chairani, yang dalam usia dininya mampu mengorbankan kebersamaan dengan bundanya yang sedang menuntut ilmu, "doa dalam kalimat terbata-batamu" selalu memberikan motivasi luar biasa; Arka Khairannizam yang sejak dalam rahim selama 9 bulan telah menemani melewati suka duka mengerjakan tesis, Semoga menjadi anak-anak yang dapat memberikan kesejukan di tempat kalian berpijak nantinya.

Rasa hormat dan terima kasih sedalam-dalamnya saya khususkan untuk Ibunda Sri Soeprijatni yang dengan penuh kasih sayang telah membesarkan dan mendidik saya hingga dapat hidup seperti sekarang, Ayah Soedarjo yang telah memberikan saya pelajaran berharga dan menjadikan saya tegar dalam menjalani

hidup. Kakak Ami Purwandari, SE; adik Wahyu Prastyanto Amd, yang telah melewati masa kecil bersama dengan penuh cerita suka duka, beserta keluarga mereka terima kasih atas kasih sayang, doa, bantuan dan dukungannya. Mertua, Ibu Karwatika dan Bapak Kaelan, Kakak dan Adik dari keluarga Rembang terima kasih atas doa, pengertian dan dukungannya yang memberikan motivasi tersendiri bagi saya dalam menyelesaikan pendidikan.

Terima kasih saya sampaikan kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah membantu dan mendukung penyusunan tesis ini.

Semoga tesis ini dapat bermanfaat untuk kemajuan ilmu kedokteran pada khususnya sehingga dapat membantu memecahkan masalah yang ada bagi umat manusia.

Surabaya, April 2008

Penulis

RINGKASAN

RINGKASAN

PERBANDINGAN PAPARAN *M.leprae* DI DATARAN RENDAH DAN
DATARAN TINGGI DI DAERAH NON-ENDEMIK KUSTASTUDI SEROEPIDEMIOLOGI DAN BIO-MOLEKULAR PADA ANAK
SEKOLAH DI KABUPATEN PACITAN JAWA TIMUR

Dwi Utami Anjarwati

Penyakit kusta (*Lepra, Morbus Hansen*) merupakan infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, secara primer menyerang syaraf tepi dan secara sekunder menyerang kulit serta organ-organ lain. Pada saat ini, secara global prevalensi kusta di seluruh dunia telah mengalami penurunan signifikan. Namun penemuan kasus baru relatif stabil selama 15 tahun terakhir. Beberapa negara, termasuk Indonesia mempunyai masalah serupa. Variasi geografi dipertimbangkan mempunyai peran pada penurunan prevalensi kusta yang tidak diikuti dengan penurunan penemuan kasus baru tersebut. Dua contoh negara dengan kondisi geografi berbeda yang mempunyai kantung endemik adalah Indonesia (terutama di daerah pantai) dan Nepal (dataran tinggi).

Menurut Depkes RI (2006), pada saat ini Jawa Timur merupakan propinsi dengan angka prevalensi kusta tertinggi di Indonesia (ditemukan 35% kasus dari seluruh kasus kusta di Indonesia). Suatu fenomena yang menarik di Jawa Timur adalah ditemukannya kantung-kantung endemik terutama di daerah pantai utara, sedangkan di pantai selatan sedikit atau tidak ditemukan kasus kusta. Kabupaten Pacitan merupakan salah satu contoh daerah yang terletak di dekat pantai selatan dengan prevalensi kusta rendah, yaitu sebesar 0,41 per 10.000 penduduk. Pacitan juga terdiri dari daerah-daerah yang bervariasi secara geografi, seperti desa Donorojo (dataran rendah) dan desa Jeruk (dataran tinggi). Dua fakta tersebut di atas mendasari pemilihan Pacitan sebagai lokasi penelitian. Secara teori di daerah non-endemik kusta tidak akan ditemukan sumber penularan kusta dari manusia, sehingga kemungkinan sumber penularan di daerah ini berasal dari sumber non-manusia.

Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan paparan *M.leprae* pada anak-anak sekolah di dataran rendah dan di dataran tinggi dengan memeriksa seropositifitas kusta dan adanya *M.leprae* pada rongga hidung. Penelitian ini merupakan suatu penelitian observasional analitik yang dilakukan secara *cross sectional*. Spesimen diambil dari anak-anak sekolah dasar yang memenuhi kriteria penerimaan sampel. Sebanyak 112 sampel diambil dari SD Cemeng I dan Gendaran I di desa Donorojo dan 180 sampel dari SD Bangunsari I, II, dan III di desa Jeruk. Setelah dilakukan anamnesis dan pemeriksaan fisik, kemudian diambil 1,5 cc spesimen darah dari vena kubiti sampel. Spesimen juga diambil dari hapusan rongga hidung. Langkah selanjutnya adalah pemeriksaan IgM anti PGL-I

dengan menggunakan teknik *indirect* ELISA. Sedangkan spesimen hapusan hidung diperiksa dengan teknik *nested* PCR. Primer LPF, LPR digunakan untuk mengamplifikasi sekuens 280 bp dari *repetitive element* (RLEP) yang spesifik dari *M. leprae*. Lp1 dan Lp2 akan mengamplifikasi sekuens 129 bp dari RLEP. Analisis data dilakukan dengan uji Chi Square.

Hasil pemeriksaan serologi adalah didapatkan : nilai seropositif di dataran rendah (desa Donorojo) sebanyak 20,5% dan di dataran tinggi (desa Jeruk) 56,7%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat beda bermakna ($P = 0,000$) antara seropositifitas kusta dengan menggunakan teknik *Indirect* ELISA di dataran rendah (desa Donorojo) dan dataran tinggi (desa Jeruk). Pada pemeriksaan *nested* PCR didapatkan nilai positif di dataran rendah (desa Donorojo) sebesar 3,6% dan di dataran tinggi (desa Jeruk) sebesar 2,8%. Hal ini berarti tidak ditemukan beda bermakna ($P = 0,736$) antara positifitas *M. leprae* kedua daerah tersebut. Kesimpulan yang dapat diambil adalah meskipun paparan *M. leprae* dari lingkungan alam (positifitas PCR dari hapusan hidung) adalah tidak berbeda pada kedua daerah tersebut, tetapi didapatkan nilai seropositifitas kusta yang berbeda. Dalam hal ini masih diperlukan analisis yang lebih detil untuk menjelaskan fenomena yang terjadi.

SUMMARY

SUMMARY

Comparative Study on *M. leprae* Exposure to Inhabitants of Two Different Altitude Region in Leprosy Non-Endemic Area

Seroepidemiological and Bio-Molecular Study of School Children in Pacitan, East Java

Dwi Utami Anjarwati

Leprosy (*Leprae*, Morbus Hansen) is a cronic disease resulting from an infection of *Mycobacterium leprae* that primarily infects peripheral nerves and secondary infects skin and other organs. Today, global prevalence of leprosy has declined significantly, but the case detection rate (CDR) of leprosy have remained unchanged over the last 15 years. Several countries, include Indonesia has also the same problem. Prevalence and incidence rate show considerable geographical variation. Not only from country to country, but also within country. Two of the countries which have different geographic condition and still have leprosy endemic pocket areas are Indonesia (especially on shore area) and Nepal (hilly).

According to Depkes RI (2006), today East Java Province has the highest prevalence (35% cases of all leprosy cases in Indonesia have been found in East Java). An interesting phenomena in this province is that leprosy endemic pocket have been found primarily on north shore area, but not on south one. Pacitan is one of low endemic area on south shore area which has low prevalence rate (0,41/10.000 inhabitants). Pacitan also consist of geographical variation villages, such as Donorojo village (lowland) and Jeruk village (hilly). Because of two facts above, Pacitan have been chosen as a location of this research. Teoritically, there were no leprosy exposure souches from human. The possibility of leprosy exposure in this area come from non-human sources.

The Objective of the study was to compare *M. leprae* exposure to school children at lowland region and hilly region by examining of leprosy seropositivity and the excistance of *M. leprae* in the nasal cavity. This was an analytic observasional study and cross sectional design in which the samples were elementary school children, who fulfil the inclusion criterias. Samples, consisting of 112 students were taken from Cemeng I and Gendaran I elementary school on Donorojo village (lowland region), and 180 students from Bangunsari I, II, III on Jeruk village (hilly region). After history taking and physical examining, 1,5 cc perifer blood were obtained from cubiti vena of samples and specimens were also obtained using mucosa nasal swab. Indirect ELISA that detected an IgM against phenolic glcolipid-I (PGL-I) of *M. leprae* on sera collected have been done. LPF, LPR/LPI, LP2 nested PCR that amplified an 280bp outer product and 129bp inner product from *M. leprae* specific RLEP also have been done. Chi Square statistical test was employed to test the comparison between leprosy seropositivity and positivity of *M. leprae* in the nose swab at lowland region and hilly region.

The result showed that seropositivity in Donorojo children was 20,5% compare to 56,7% in Jeruk. There was a significant different ($P = 0,000$) in seropositivity between two areas. PCR positivity was obtain in 3,6% of school children in Donorojo compared to 2,8% in Jeruk. No significant different ($P = 0,736$) in the positivity of *M.leprae* DNA from the nose swab between that two areas. In conclusion, although exposure of *M.leprae* from outside (PCR positivity in the nose swab) were similar to the two areas, seropositivity was quite different. More detail analysis is needed to explain this phenomena.

ABSTRACT

ABSTRACT

Comparative Study on *M. leprae* Exposure to Inhabitants of Two Different Altitude Region in Leprosy Non-Endemic Area

Seroepidemiological and Bio-Molecular Study of School Children in Pacitan, East Java

Dwi Utami Anjarwati

The Objective of the study was to compare *M.leprae* exposure to school children at lowland region and hilly region by examining of leprosy seropositivity and the existence of *M.leprae* in the nasal cavity.

An analytic observational study was conducted to 112 elementary school children who live in Donorojo village (lowland region) and 180 elementary school children from Jeruk village (hilly region).

After history taking and physical examination 3 cc perifer blood from the cubiti vena of the school children was collected for indirect ELISA test to measure the level of IgM anti PGL-I. Nose swab was also collected for PCR study to detect *M.leprae* DNA. LPF, LPR/LPI, LP2 nested primer was used to amplify the RLEP fragment of *M.leprae* DNA. Positive result was established by the presence of band at 129 bp in the agarose gel.

The result showed that seropositivity in Donorojo children was 20,5% compared to 56,7% in Jeruk area. There was a significant difference ($P = 0,000$) in seropositivity between two areas. PCR positivity was obtained in 3,6% of school children in Donorojo compared to 2,8% in Jeruk. No significant difference ($P = 0,736$ (2-sided) and 0,476 (1-sided)) in the positivity of *M.leprae* DNA from the nose swab between the two areas.

In conclusion, although exposure of *M.leprae* from outside (PCR positivity in the nose swab) were similar to the two areas, seropositivity was quite different. More detail analysis is needed to explain this phenomenon.

Keywords : *Mycobacterium leprae*, seroepidemiology, Polymerase chain reaction, non-endemic area.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan
Sampul Dalam	i
Prasarat Gelar	ii
Persetujuan	iii
Penetapan Panitia	iv
Ucapan Terima Kasih	v
Ringkasan	viii
Summary	x
Abstract	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR SKEMA	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR SINGKATAN	xx
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
1.4.1 Manfaat Keilmuan	8
1.4.2 Manfaat Terapan	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 <i>Mycobacterium leprae</i>	9
2.1.1 Taksonomi	9
2.1.2 Morfologi	9
2.1.3 Sifat Pertumbuhan	11
2.2 Penyakit Kusta	12
2.2.1 Definisi	12
2.2.2 Sejarah	13
2.2.3 Epidemiologi	13
2.2.4 Respon Imun	18
2.2.4.1 Respon imun alami	18
2.2.4.2 Respon imun dapatan	19
2.2.5 Perjalanan Klinik	21
2.2.6 Gejala Klinik	22
2.2.7 Klasifikasi	24
2.2.8 Diagnosis	25
2.2.9 Pengobatan	31

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual	34
3.2 Hipotesis	35
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN	36
4.1 Rancangan Penelitian	36
4.2 Populasi dan Sampel	36
4.2.1 Populasi	36
4.2.2 Sampel	36
4.2.3 Cara pengambilan sampel dan Besar sampel	36
4.2.4 Kriteria penerimaan sampel	37
4.2.5 Kriteria penolakan sampel	37
4.3 Variabel Penelitian	38
4.3.1 Klasifikasi variabel	38
4.3.2 Definisi operasional variabel	38
4.4 Bahan Penelitian	40
4.4.1 Bahan untuk pengambilan spesimen pemeriksaan serologi...	40
4.4.2 Bahan untuk pemeriksaan serologi	40
4.4.3 Bahan untuk membuat hapusan hidung	40
4.4.4 Bahan untuk ekstraksi DNA dan PCR	40
4.5 Instrumen Penelitian	41
4.5.1 Instrumen yang digunakan untuk mengambil spesimen pemeriksaan serologi kusta	41
4.5.2 Instrumen yang digunakan untuk pemeriksaan serologi kusta dengan teknik ELISA	42
4.5.3 Instrumen yang digunakan untuk mengambil spesimen hapusan hidung	42
4.5.4 Instrumen untuk pemeriksaan spesimen hapusan hidung dengan teknik PCR	43
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	43
4.7 Prosedur dan Pengumpulan Data	43
4.7.1 Prosedur pengambilan spesimen untuk pemeriksaan serologi kusta	43
4.7.2 Prosedur pemeriksaan serologi kusta dengan teknik ELISA	44
4.7.3 Prosedur pengambilan spesimen hapusan hidung	45
4.7.4 Prosedur pemeriksaan spesimen hapusan hidung dengan teknik PCR	45
4.7.4.1 Ekstraksi DNA dari sampel penelitian	45
4.7.4.2 Amplifikasi DNA	46
4.8 Analisis Data	47
4.9 Kerangka Operasional	48
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	49
5.1 Data Penelitian	49
5.1.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian	49
5.1.2 Karakteristik sampel	51
5.1.2 Hasil Pemeriksaan Serologi Kusta dengan Teknik ELISA ...	55
5.1.3 Hasil Pemeriksaan Spesimen Hapusan Hidung dengan Teknik PCR	55
5.2 Analisis dan Hasil Penelitian	56

5.2.1 Analisis Hasil Pemeriksaan Serologi Kusta	57
5.2.2 Analisis Hasil Pemeriksaan PCR	57
BAB 6 PEMBAHASAN	58
6.1 Karakteristik Sampel	59
6.1.1 Umur	59
6.1.2 Jenis Kelamin	60
6.1.3 Status Gizi	61
6.1.4 Riwayat Kontak	61
6.2 Hasil Pemeriksaan Serologi Kusta dengan Teknik ELISA ...	62
6.3 Hasil Pemeriksaan DNA <i>M.leprae</i> dengan Teknik PCR ...	63
BAB 7 PENUTUP	66
7.1 Kesimpulan	66
7.2 Saran	66
DAFTAR PUSTAKA	67

DAFTAR TABEL

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel5.1 Jumlah siswa SD/MI di dataran rendah dan dataran tinggi	51
Tabel5.2 Distribusi jenis kelamin sampel berdasarkan hasil pemeriksaan serologi kusta dengan <i>indirect</i> ELISA	52
Tabel5.3 Distribusi jenis kelamin sampel berdasarkan hasil pemeriksaan hapusan hidung dengan teknik PCR	53
Tabel5.4 Hasil penghitungan status gizi sampel di dataran rendah dan di dataran tinggi	53
Tabel5.5 Hubungan antara seropositifitas kusta dengan status gizi di dataran rendah dan tinggi	54
Tabel5.6 Hasil pemeriksaan serologi kusta dengan teknik <i>indirect</i> ELISA	55
Tabel5.7 Hasil pemeriksaan hapusan hidung dengan teknik <i>nested</i> PCR ...	56

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Situasi Kusta di Indonesia Tahun 1990-2001	15
Gambar 2.2 Tahapan <i>Indirect</i> ELISA.....	28
Gambar 2.3 Langkah-langkah dalam PCR	30
Gambar 5.1 Peta lokasi pengambilan sampel penelitian di Kabupaten Pacitan, Jawa Timur.....	50
Gambar 5.2 Hasil pemeriksaan hapusan hidung dengan teknik nested PCR dari beberapa spesimen yang positif.....	56

DAFTAR SKEMA

DAFTAR SKEMA

	Halaman
Skema 3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	34
Skema 4.1 Kerangka Operasional	48

DAFTAR LAMPIRAN

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Lembar pengumpul data	73
Lampiran2. Lembar Persetujuan Mengikuti Penelitian(<i>Informed Consent</i>)	74
Lampiran 3. Reagen Untuk <i>Indirect</i> ELISA	75
Lampiran 4. Prosedur ekstraksi DNA (Kit Qiagen miniprep)	77
Lampiran 5. Data hasil penelitian	78
Lampiran 6. Skema lokasi siswa yang mempunyai riwayat kontak	84
Lampiran 7. Hasil analisis Chi Square pemeriksaan serologi kusta di dataran rendah dan dataran tinggi	85
Lampiran 8. Hasil analisis Chi square pemeriksaan PCR di dataran rendah dan dataran tinggi.....	86
Lampiran 9. Hasil analisis hubungan (asosiasi) antara seropositifitas kusta dengan jenis kelamin siswa di dataran rendah (desa Donorojo) menggunakan uji Chi square	87
Lampiran 10. Hasil analisis hubungan (asosiasi) antara seropositifitas kusta dengan jenis kelamin siswa di dataran tinggi (desa Jeruk) menggunakan uji Chi Square	88
Lampiran11. Hasil analisis hubungan (asosiasi) antara positifitas <i>M.leprae</i> dari hapusan hidung dengan jenis kelamin di dataran rendah (desa Donorojo) menggunakan uji Chi Square	89
Lampiran12. Hasil analisis hubungan (asosiasi) antara positifitas <i>M.leprae</i> dari hapusan hidung dengan jenis kelamin di dataran tinggi (desa Jeruk) dengan uji Chi Square	90
Lampiran 13. Hasil PCR positif.....	91

DAFTAR SINGKATAN

DAFTAR SINGKATAN

Ab	Antibodi
Ag	Antigen
Anti Ab	Anti antibodi
B	<i>Borderline</i>
BB	<i>Mid borderline leprosy</i>
Bb	Berat badan
BL	<i>Borderline lepromatous leprosy</i>
bp	<i>Base pair</i>
BT	<i>Borderline tuberculoid leprosy</i>
BTA	Basil tahan asam
cc	<i>Cubic centimeter</i>
CD4+	<i>Cluster of differentiation 4+</i>
CD8+	<i>Cluster of differentiation 8+</i>
CDR	<i>Case detection rate</i>
cm	Centimeter
CMI	<i>Cell mediated immunity</i>
°C	derajat Celcius
dATP	<i>Deoxy adenosine triphosphate</i>
dCTP	<i>Deoxy cytosine triphosphate</i>
D-DOPA	<i>D-dihidroxy phenylalanin</i>
DDS	<i>Diamino-Diphenyl Sulphone</i>
Depkes RI	Departemen kesehatan republik Indonesia
dGTP	<i>Deoxy guanine triphosphate</i>
Dinkes	Dinas kesehatan
DKI	Daerah khusus ibukota
dkk	dan kawan-kawan
DNA	<i>Deoxy ribo nucleic acid</i>
dNTP	<i>Deoxy nucleoside triphosphate</i>
dTTP	<i>Deoxy thymine triphosphate</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay</i>
Enz	Enzim
FLA-ABS	<i>Fluorescent leprosy Antibody-Absorption test</i>
I	<i>Indeterminate</i>
IgG	<i>Immunoglobulin G</i>
IgM	<i>Immunoglobulin M</i>
ILA	<i>Internasional Leprosy Association</i>
KCl	<i>Kalium chloride</i>
kDA	<i>Kilo Dalton</i>
km	Kilometer
L	Lepromatosa
LL	<i>Lepromatous leprosy</i>
LSR	<i>leprosy serum reactive</i>
MACT	<i>Monoclonal Antibody Competition Test</i>
MB	<i>Multi Bacillary</i>

BAB I
PENDAHULUAN



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kusta (*Lepra, Morbus Hansen*) merupakan infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, secara primer menyerang syaraf tepi dan secara sekunder menyerang kulit serta organ-organ lain (WHO, 2005). Penyakit ini dapat mengakibatkan kecacatan (Britton and Lockwood, 2004) serta masalah psikososial akibat adanya stigma buruk bagi penderita (Agusni, 2003).

Pada bulan Mei 2001, dalam *World Health Assembly* (WHA) dinyatakan bahwa program eliminasi kusta dengan pengobatan *Multy Drug Therapy* (MDT) yang dicanangkan Badan Kesehatan Dunia (WHO) sejak tahun 1991 telah mencapai target secara global. Beberapa negara yang masih mempunyai kantung-kantung endemik adalah Afrika, Asia, dan Amerika Selatan, tetapi pada saat ini, 107 negara dari 122 negara endemik telah dinyatakan mencapai target eliminasi. Hampir 83% kasus kusta terdaftar terutama hidup di enam negara, yaitu: India, Brazil, Myanmar, Indonesia, Madagaskar, dan Nepal (Daumerie, 2002 ; ILA, 2002).

Penyebaran kasus kusta di seluruh dunia menunjukkan variasi geografis yang sangat luas. Kantung-kantung endemik kusta tidak selalu ditemukan pada daerah dengan kondisi geografis yang sama, sebagai contoh: ditemukannya daerah endemik kusta di Nepal yang merupakan daerah dataran tinggi (ILA, 2002), sedangkan di Indonesia, kantung endemik banyak ditemukan di daerah pantai pada beberapa propinsi, terutama di beberapa kawasan Indonesia Timur yang

merupakan daerah terpencil dan sulit dijangkau (Hernani, 2002). Variasi geografik tersebut juga memicu timbulnya pertanyaan tentang pola penularan *M.leprae* karena diduga berperan pada masalah penemuan kasus kusta baru yang cenderung stabil selama 15 tahun terakhir (ILA, 2002).

Prevalensi kusta di Indonesia pada tahun 2000 telah turun hingga 1,09/10.000 penduduk, namun masih tercatat 112 kabupaten di 9 propinsi yang angka prevalensinya di atas target eliminasi (Day, 2001). Penemuan kasus kusta baru di Indonesia juga hanya mengalami sedikit penurunan dibandingkan tahun-tahun sebelumnya. Hal ini menunjukkan bahwa Indonesia masih mempunyai masalah kusta yang harus dipecahkan (Agusni, 2003).

Pada saat ini, Jawa Timur menjadi propinsi dengan penderita penyakit kusta tertinggi di Indonesia. Meski telah dilakukan pengobatan bagi para penderita dan berhasil disembuhkan, muncul lagi penderita baru, sehingga sekitar 35% penderita kusta di Indonesia terdapat di Jawa Timur (Depkes RI, 2006). Hingga akhir Desember 2006, rata-rata prevalensi kustanya sebesar 1,6/10.000 penduduk yang menyebar pada 37 kabupaten/kota dengan jumlah penderita terdaftar sebanyak 6154 orang. Peta daerah kusta di Propinsi Jawa Timur ini menunjukkan suatu fenomena yang menarik perhatian, yaitu daerah atau kantong-kantong endemik kusta sebagian besar merupakan daerah-daerah di pantai utara Jawa, sedangkan daerah-daerah di pantai selatan menunjukkan prevalensi yang rendah, bahkan tidak ditemukan penderita kusta. Kabupaten Pacitan merupakan salah satu contoh daerah yang terletak di dekat Pantai Selatan dengan prevalensi kusta rendah, yaitu sebesar 0,41 per 10.000 penduduk (Dinkes Jatim, 2006). Wilayah puskesmas Donorojo dan wilayah puskesmas Jeruk merupakan dua

wilayah puskesmas di Pacitan yang masih mempunyai penderita kusta. Masing-masing sebanyak 6 orang dari 24.000 penduduk di Wilayah puskesmas Donorojo dan 11 orang dari kurang lebih 20.000 penduduk di wilayah Puskesmas Jeruk. Donorojo terletak di dataran rendah, berjarak kurang lebih 18 km dari tepi pantai selatan, sedangkan Jeruk merupakan dataran tinggi, dengan ketinggian 750 m dari permukaan laut dan berjarak 75 km dari pantai selatan (Dinkes Pacitan, 2006).

Seperti telah disebutkan sebelumnya, pemberantasan kusta dapat menurunkan prevalensi secara umum, tetapi penemuan kasus kusta baru relatif stabil. Beberapa hal yang menyebabkan pengobatan dengan MDT yang bersifat bakterisidal tidak dapat memutuskan rantai penularan kusta antara lain: (1) adanya *back log case*, yaitu adanya kasus yang tidak terdeteksi dan tidak mendapat terapi, (2) adanya infeksi subklinik yang tidak terdeteksi, (3) kemungkinan adanya sumber penularan di luar manusia, sehingga kontrol, eliminasi dan eradikasi kusta pada manusia mengalami kesulitan (Noordeen, 1994). *Back log case* selalu terjadi pada tahap awal program pemberantasan kusta, namun biasanya jumlah kasus akan semakin berkurang seiring dengan program pemberantasan kusta. Penemuan kasus kusta baru yang tidak berkurang selama 15 tahun terakhir, terutama di daerah endemik kusta, bukan menunjukkan tidak berjalannya program pemberantasan kusta tersebut, namun karena adanya kemungkinan kedua, yaitu fenomena kasus kusta subklinik (Agusni, 2003).

Para ahli telah mengetahui kusta subklinik sejak tahun 1990, yaitu individu berbadan sehat yang tidak menunjukkan adanya gejala kusta, namun menunjukkan uji serologi yang positif terhadap basil kusta. Sebagian peneliti menyebutkan bahwa tahapan subklinik juga dapat menjadi sumber penularan yang

penting di samping kasus aktif karena masih mampu mengeluarkan sekresi basil dari hidung yang bersifat sementara (Cree and Smith, 1998).

M. leprae merupakan organisme yang mempunyai patogenisitas rendah, mengingat bahwa meskipun banyak orang yang diduga terinfeksi basil tersebut tidak seluruhnya akan menderita kusta. Sumber paparan *M. leprae* yang pertama adalah penderita kusta tipe Multi basiler (MB) khususnya tipe lepromatosa yang sangat infeksius dan belum mendapatkan pengobatan (Noordeen, 1994). Basil kusta menular melalui *droplet infection*, yaitu dengan menghirup percikan ludah atau bersin dari penderita kusta tipe lepromatosa yang mengandung banyak sekali basil kusta. Di samping itu, *M. leprae* dari lingkungan alam sekitar juga dapat terhirup melalui saluran pernafasan. Beberapa penelitian epidemiologi menemukan banyak individu yang terinfeksi kusta tanpa adanya penderita kusta sebagai sumber penularan, sehingga diduga adanya penularan secara tidak langsung yang berasal dari non-manusia (Agusni, 2003).

Setelah *M. leprae* berhasil masuk ke dalam tubuh, maka akan terjadi respon imun baik seluler maupun humoral. Pada saat ini, pemeriksaan serologi kusta banyak digunakan untuk melihat adanya respon imun tersebut. Dengan demikian, tingkat paparan *M. leprae* pada penduduk dapat dilihat dari : (1) adanya *M. leprae* dalam rongga hidung, (2) seropositifitas kusta (Izumi *et al.*, 1990; Beers *et al.*, 1994; Hatta *et al.*, 1995; Izumi *et al.*, 1995).

Hingga saat ini, *M. leprae* belum dapat dibiakkan dalam media buatan secara *in vitro*. Fakta tersebut menyebabkan sulitnya penelitian terhadap kusta. Penelitian di bidang mikrobiologi selama ini hanya dapat dilakukan secara *in vivo* melalui pengembangan bermacam model hewan coba, namun cara ini

memerlukan waktu yang lama dan cukup sulit dilakukan (Rees and Young, 1994). Pemeriksaan serologi sering digunakan pada penelitian kusta. Salah satu pemeriksaan serologi yaitu dengan teknik *Enzim linked Immuno-sorbent Assay* (ELISA) yang mendeteksi adanya antibodi spesifik untuk *M. leprae* terutama dari kelas Immunoglobulin (Ig)M dan IgG. Antibodi tersebut diakui sebagai petanda (*marker*) adanya infeksi *M. leprae*. Salah satu epitop spesifik untuk spesies *M. leprae* adalah *Phenolic Glycolipid-1* (PGL-1) (Hunter and Brennan, 1981).

Pada dasawarsa terakhir, ilmu biologi molekular telah dipergunakan untuk mendeteksi basil *M. lepra*, yaitu dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan suatu cara *in vitro* untuk memperbanyak DNA suatu organisme dengan menggunakan enzim *polymerase* yang diarahkan oleh potongan urutan DNA yang spesifik bagi DNA organisme tersebut (Brown, 2002). PCR mempunyai tingkat sensitifitas dan spesifitas tinggi dan dalam waktu yang cepat dapat digunakan untuk mendeteksi *M. leprae* pada penderita kusta dengan gejala klinik maupun infeksi subklinik. Amplifikasi dilakukan pada berbagai potongan gen spesifik terhadap basil *M. leprae*, seperti daerah 18kDa, 36kDa, 65kDa yang merupakan protein penyusun dinding sel basil *M. leprae*, serta *leprosy serum reactive* (LSR), *ribosomal RNA* dan *repetitive sequences* yang berada pada daerah *cosmid*, dengan pola pengulangan tersebar maupun tandem (Hartskeerl *et al.*, 1989; Santos *et al.*, 1994; Wichitwechekarn *et al.*, 1996; Katoch and Sharma, 2000). Pemeriksaan dengan PCR juga dikatakan sensitif karena dapat mendeteksi 1-100 kuman (Santos *et al.*, 1994). Sensitifitas dan spesifitas PCR dapat lebih ditingkatkan dengan memilih teknik *nested PCR*, yaitu penggunaan dua pasang primer untuk *locus* DNA. Teknik ini mempunyai

probabilitas yang kecil untuk mengamplifikasi lokus yang salah, karena terjadi amplifikasi dua kali oleh pasangan primer kedua (Plykatis *et al.*, 1990; Donoghue *et al.*, 2000).

Penelitian epidemiologi kusta pada anak-anak dapat menyumbangkan wacana tentang aspek transmisi yang penting dari penyakit ini. Anak-anak dapat mewakili populasi penelitian karena paparan lingkungan mereka relatif tetap sesuai kehidupan mereka sehari-hari sebagai anak sekolah. Sebaliknya, penduduk usia dewasa seringkali mempunyai mobilitas lebih tinggi, sehingga lebih sulit untuk menentukan paparan lingkungannya. Bila ditemukan anak-anak sebagai penderita kusta, orang tua juga dapat dimintai keterangan seperti: onset dan perjalanan penyakit serta kemungkinan sumber penularan (Kattan *et al.*, 2006). Selain itu anak-anak juga lebih rentan terhadap trauma, infeksi dan infestasi yang dapat memfasilitasi terjadinya transmisi kusta (Ramani *et al.*, 1990).

Telah disebutkan di atas bahwa penyebaran penyakit kusta terjadi baik di dataran rendah maupun di dataran tinggi, namun hingga saat ini belum diketahui apakah tingkat paparan *M. leprae* berkaitan dengan masalah geografik dari daerah tersebut. Secara teoritis, di daerah non-endemik kusta tidak akan banyak ditemukan sumber penularan *M. leprae* yang berasal dari manusia. Dengan demikian, bila ternyata penduduk di daerah non-endemik tersebut mengalami paparan *M. leprae*, maka kemungkinan besar hal ini berasal dari sumber non-manusia (lingkungan sekitar). Pada penelitian ini ingin diketahui apakah ada perbedaan tingkat paparan *M. leprae* pada anak-anak yang tinggal di dataran rendah yang relatif dekat dengan pantai dengan mereka yang tinggal di dataran tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pada fakta-fakta tersebut di atas, ingin diketahui bagaimana tingkat paparan *M. leprae* terhadap anak-anak sekolah yang tinggal di dataran rendah dan dataran tinggi di daerah non-endemik kusta di Jawa Timur, yaitu:

1. Apakah ada perbedaan seropositifitas penyakit kusta pada kedua daerah tersebut?
2. Apakah ada perbedaan positifitas *M.leprae* dari hapusan hidung pada kedua daerah tersebut?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mempelajari tingkat paparan *M. leprae* pada anak-anak sekolah yang tinggal di dataran rendah dan di dataran tinggi, melalui perbandingan seropositifitas penyakit kusta dan adanya *M. leprae* dalam rongga hidung.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Mendapatkan gambaran tentang kadar antibodi anti PGL-I dengan menggunakan teknik ELISA pada anak-anak sekolah yang tinggal di dataran rendah dan di dataran tinggi di daerah non-endemik kusta.
2. Mendapatkan gambaran tentang adanya DNA *M.leprae* pada rongga hidung anak-anak sekolah yang tinggal di dataran rendah dan di dataran tinggi di daerah non-endemik kusta dengan menggunakan teknik PCR.

3. Mendapatkan gambaran tentang perbandingan seropositifitas penyakit kusta pada anak-anak sekolah yang tinggal di dataran rendah dan di dataran tinggi di daerah non-endemik kusta dengan menggunakan teknik ELISA.
4. Mendapatkan gambaran tentang perbandingan positifitas *M. leprae* dari hapusan hidung anak-anak sekolah yang tinggal di dataran rendah dan di dataran tinggi di daerah non-endemik kusta dengan menggunakan teknik PCR.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat keilmuan

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan sumbangan yang bermakna pada perkembangan ilmu pengetahuan, yaitu:

1. Memperkuat dugaan adanya peran faktor lingkungan dalam proses transmisi kusta terutama yang disimpulkan dari penelitian di daerah non-endemik kusta.
2. Kemampuan teknologi biomolekular untuk mendeteksi basil kusta dari hapusan hidung secara akurat.

1.4.2 Manfaat terapan

Penelitian ini dapat menjadi bahan pertimbangan bagi pengambil kebijakan di tingkat kabupaten, propinsi, nasional maupun internasional dalam menyusun strategi eliminasi penyakit kusta dengan lingkungan sebagai faktor risiko yang berperan dalam transmisi kusta.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mycobacterium leprae*

2.1.1 Taksonomi

M. leprae termasuk dalam famili *Mycobacteriaceae*, ordo *Actinomycetales*, Kelas *Schyzomycetes* (Joklik *et al.*, 1992).

2.1.2 Morfologi

M. leprae merupakan kuman non-motil, tidak membentuk spora, mikroaerofilik dan berbentuk batang agak melengkung atau lurus (Scollard *et al.*, 2006). Ukuran panjangnya berkisar 1 - 8 μm dan lebar 0,3 - 0,5 μm (Joklik *et al.*, 1992). Basil ini bersifat Gram positif, tahan asam dan merupakan parasit obligat intraseluler, ditemukan terutama di dalam makrofag, biasanya berkumpul atau membentuk globus (Katoch, 2002 ; Britton *and* Lockwood, 2004).

Dinding sel *M. leprae* tersusun dari hubungan kovalen kompleks antara peptidoglikan-arabinogalaktan-asam mikolat. Bagian *core* dinding selnya terdiri dari peptidoglikan yang tersusun oleh rantai N-asetilglukosamin dan N-glikolilmuramat yang dihubungkan oleh jembatan peptida, kemudian dihubungkan dengan lapisan galaktan oleh arabinogalaktan. Tiga cabang arabinan berhubungan dengan galaktan, bersama-sama dengan lapisan peptidoglikan membentuk zona padat elektron di sekeliling *M. leprae*. Asam mikolat berhubungan dengan bagian terminal rantai arabinan membentuk lapisan dalam *pseudolipid bilayer*. Lapisan luar tersusun dari rangkaian yang kaya asam mikolat

dari trehalosa monomikolat dan asam mikoserostat dari phthioserol dimikoserostat seperti halnya *phenolic glycolipid* (PGL), yang membentuk zona transparan elektron. Suatu postulat menyatakan bahwa molekul-molekul tersebut bersama-sama dengan fosfatidilinositol mannosida dan fosfolipid dilepas dari dinding sel setelah sintesis, membentuk regio seperti kapsul. Lipid yang dominan dalam dinding sel yang memberikan spesifitas secara imunologik adalah PGL-1. Penelitian terbaru menduga bahwa PGL-I terlibat dalam interaksi *M. leprae* dengan sel Schwann, yang merupakan peran PGL-I dalam interaksi syaraf tepi dengan basil (Scollard *et al.*, 2006). Dinding sel juga berisi protein yang telah diidentifikasi sebagai target sel T, antara lain protein 17 kDa, 14 kDa, 36 kDa, 65 kDa (Rees and Young, 1994).

M. leprae merupakan kuman gram positif, sitoplasmanya mempunyai struktur yang sama dengan kuman gram positif lain yaitu mengandung DNA dan RNA. Protein yang dominan dalam sitoplasma yaitu: protein 28 kDa dan protein 17 kDa yang berbeda dengan protein pada dinding sel ataupun *Gro Es heat shock protein* pada dinding sel pula. Selain itu terdapat protein 65 kDa (*Gro El heat shock protein*) yang umumnya ditemukan pada *M. leprae* yang telah mengalami degradasi (Rees and Young, 1994).

Semua informasi yang menentukan struktur *M. leprae* terdapat dalam genom. DNA *M. leprae* dapat ditransfer oleh organisme yang dapat dibiakkan, sehingga teknik aplikasi molekular dapat dipelajari. Studi genom *M. leprae* merupakan fokus utama penelitian kusta di masa yang akan datang (Rees and Young, 1994). Berat molekul DNA *M. leprae* paling ringan di antara genus mikobakteria lain dan hanya sedikit mengandung guanin serta sitosin (Kandouw

dan Amirudin, 1998). Analisis gen *M. leprae* menunjukkan bahwa perbedaan guanin dan sitosin timbul dari perubahan sistematis pada kodon dengan substitusi adenin dan guanin pada posisi basa ketiga. Rangkaian DNA spesifik untuk *M. leprae* telah berhasil dianalisis untuk mendeteksi *M. leprae* dalam jumlah kecil dari sampel klinik dengan menggunakan teknik PCR, selain itu telah dilakukan pemetaan genom untuk keperluan penelitian (Carlston, 2001 ; Jones *et al.*, 2001).

2.1.3 Sifat pertumbuhan

M. leprae merupakan parasit obligat intraseluler yang terutama berkembang biak di dalam makrofag dan sel Schwann saraf. Selain itu, *M. leprae* juga dapat berkembang biak pada otot bergaris. Basil ini banyak ditemukan pada mukosa hidung, ulkus, erosi dari penderita tipe *lepromatous* dan tipe *borderline* serta lesi-lesi penderita dalam keadaan reaksi. Adanya basil pada tempat-tempat tersebut menunjukkan bahwa *M. leprae* tumbuh lebih baik pada bagian tubuh dengan suhu kurang dari 37°C (optimum 27-30°C), dengan kata lain di tempat yang lebih dingin. Hal ini dibuktikan dengan percobaan Stor pada tahun 1971 yang menginokulasikan *M. leprae* pada *armadillo*, dan ternyata *M. leprae* berkembang biak pada hati, limpa, dan noduli limfatis yang memiliki suhu 30-36°C (Rees *and* Young, 1994; Amiruddin dan Noordeen, 1995).

Hingga saat ini *M. leprae* belum berhasil dibiakkan dalam medium buatan. Pembiakan yang dapat dilakukan saat ini adalah secara *in vivo*, yaitu dengan menginokulasikan *M. leprae* pada telapak kaki mencit atau pun pada jaringan tubuh hewan *armadillo* dari Amerika serta sejenis kera *Mangabey* dari Afrika (Rees *and* Young, 1994).

Kuman *M. leprae* ini berkembang biak secara perlahan dengan cara *binary fision* dan memerlukan waktu 11-13 hari. Lamanya berkembang biak adalah sesuai dengan masa inkubasi dan kronisitas penyakit kusta pada manusia (Joklik *et al.*, 1992).

M. leprae mempunyai 5 sifat khas yang banyak dikenal sebagai kriteria untuk diagnostik (Amirudin dan Noordeen, 1995 ; Agusni, 1997)

1. Merupakan organisme obligat intraseluler yang tidak dapat dibiakkan dalam media buatan
2. Sifat mengikat asamnya dapat diekstraksi dengan *pyridine*, sesuatu yang tidak pernah ditemukan pada mikobakterium lainnya
3. Merupakan satu-satunya jenis mikobakterium yang mampu mengoksidasi zat *D-dihydroxy phenylalanin* (D-DOPA)
4. Merupakan satu-satunya mikobakterium yang menginvasi serta hidup dalam saraf tepi
5. Sediaan yang mengandung kuman utuh maupun ekstrak terlarutnya mengandung komponen antigenik yang stabil terhadap panas, dengan aktivitas imunologik yang khas, termasuk di antaranya dapat menimbulkan tes kulit yang positif pada penderita kusta tipe tuberkuloid dan negatif pada tipe lepromatosa.

2.2 Penyakit Kusta

2.2.1 Definisi

Penyakit kusta (*Leprosy, Morbus Hansen*) merupakan infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, secara primer menyerang syaraf tepi dan

secara sekunder menyerang kulit serta organ-organ lain (WHO, 2005). Penyakit ini dapat mengakibatkan kecacatan (Britton *and* Lockwood, 2004) serta masalah psikososial akibat adanya stigma buruk bagi penderita (Agusni, 2003).

2.2.2 Sejarah

Penyakit kusta merupakan penyakit tua, setua peradaban manusia, karena telah lama diketahui dan ditulis dalam kitab-kitab kuno. Dalam kitab *Sushrat Samhita* di zaman India Kuno (1300 SM), telah tercantum adanya penyakit yang disebut *khust* dengan gambaran penyakit sesuai dengan kusta yang dikenal saat ini. Demikian pula dalam kitab-kitab kuno Tiongkok serta tulisan pada daun Papyrus di Mesir, telah tercantum suatu penyakit yang sesuai dengan kusta yang dikenal saat ini. Istilah lepra sendiri berasal dari bahasa Yunani kuno dalam Kitab Perjanjian Baru, yang merupakan terjemahan dari istilah *zaraath* dari bahasa Ibrani kuno dan tercantum dalam Kitab Perjanjian Lama (Trautman, 1994).

2.2.3 Epidemiologi

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

kasus terdaftar sebanyak 597.232 dan 719.330 kasus baru. Meskipun data ini diambil dari negara-negara dengan kasus kusta terdaftar lebih dari 100 kasus, namun secara global dapat dikatakan prevalensi kasus kusta terdaftar sekarang di bawah 1 per 10.000 penduduk. Hal ini menunjukkan adanya penurunan prevalensi kusta sebesar 90% (dari prevalensi sebesar 12 per 10.000 penduduk pada tahun 1985 menjadi kurang dari 1 per 10.000 penduduk pada tahun 2000). Beberapa negara yang masih mempunyai kantong-kantong endemik adalah Afrika, Asia, dan Amerika Selatan, tetapi pada saat ini, 107 negara dari 122 negara endemik telah dinyatakan mencapai target eliminasi. Hampir 83% kasus kusta terdaftar terutama hidup di enam negara, yaitu: India, Brazil, Myanmar, Indonesia, Madagaskar, dan Nepal (ILA, 2002).

Program eliminasi kusta tahun 2000 memang dapat dicapai oleh beberapa negara, namun Indonesia tidak dapat mencapai target tersebut karena berbagai kendala. Meskipun angka prevalensi kusta pada tahun 2000 telah turun hingga 1,09/10.000 penduduk, masih tercatat 112 kabupaten di 9 propinsi di Indonesia yang angka prevalensinya di atas target eliminasi (Day, 2001). Pada tahun 1997 Indonesia masih merupakan negara dengan kasus kusta terbesar nomor tiga setelah India dan Brazil, dengan jumlah penderita kusta terdaftar sebanyak 33.739 orang (*Prevalensi Rate/PR* 1.7 dan *Case Detection Rate/CDR* 7.5 per 10.000 penduduk). Lima tahun kemudian peringkat ini turun menjadi nomor 4 di dunia dengan jumlah penderita kusta sebesar 17.250 orang (*PR* 0.8/10000 dan *CDR* 0.6/10000) (Hernani, 2002).



Gambar 2.1 Situasi Kusta di Indonesia Tahun 1990-2001 (Depkes RI, 2002)

Penyebaran penyakit ini di Indonesia tidak merata, sebagian besar kasus ditemukan di Indonesia bagian timur disertai adanya kantung-kantung endemik dengan prevalensi cukup tinggi (Agusni, 1997; Depkes RI, 2004). Pada tahun 2003, distribusi kusta menurut tempat dan waktu adalah sebagai berikut: 18.312 penderita yang terdiri dari 2.814 PB dan 15.498 MB dengan *Prevalence Rate* 0.86 per 10.000 penduduk terdapat di 10 propinsi yaitu: Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sulawesi Selatan, Papua, NAD, DKI Jakarta, Sulawesi Utara, Maluku Utara, dan Nusa Tenggara Timur (Depkes RI, 2004). Pada saat ini, Jawa Timur menjadi propinsi dengan penderita penyakit kusta tertinggi di Indonesia. Meski telah dilakukan pengobatan bagi para penderita dan berhasil disembuhkan, muncul lagi penderita baru, sehingga sekitar 35% penderita kusta di Indonesia terdapat di Jawa Timur (Depkes RI, 2006).

Penyakit kusta menyerang segala umur, namun jarang sekali ditemukan pada bayi. Hal ini diduga berkaitan dengan masa inkubasi penyakit tersebut yang cukup lama. Angka kejadian (*Incidence Rate*) meningkat pada usia 10-20 tahun (Depkes RI, 2004). Kasus kusta yang terjadi pada anak-anak secara umum

disebabkan karena anak-anak rentan terhadap trauma, infeksi dan infestasi yang dapat memfasilitasi terjadinya transmisi kusta (Ramani *et al.*, 1990). Meskipun sebagian besar penduduk di daerah endemik kusta pernah terinfeksi *M. leprae*, tidak semua akan menderita penyakit ini, karena adanya kekebalan alamiah terhadap kuman ini. Jumlah penderita laki-laki lebih banyak dari perempuan dengan perbandingan 2:1 (Agusni, 1997; Iskandar dkk., 1998; Kandouw, 1999). Beberapa faktor risiko telah diidentifikasi dalam proses penularan dan perkembangan penyakit kusta, antara lain: yang berhubungan dengan host (genetik, status imunitas, gizi, kehamilan), sosial-ekonomi (kemiskinan, *hygiene*), geografik dan faktor lingkungan (kedekatan dengan sumber air) serta faktor yang berhubungan dengan mikroorganisme (*bacterial load*, frekuensi paparan) (Beers *et al.*, 1996).

Hingga saat ini, cara penularan penyakit kusta belum sepenuhnya terungkap. Tetapi pada saat ini yang dianut adalah melalui *droplet infection* dengan *port of entry* mukosa hidung dan kontak yang lama secara terus menerus, sedangkan yang dianggap sebagai tempat keluarnya kuman dari sumber penularan (*port of exit*) adalah mukosa hidung penderita kusta tipe lepromatosa yang belum diobati. Hal ini disebabkan sering ditemukannya basil kusta dalam jumlah yang banyak pada mukosa hidung dan menurut Shepard jumlah basil kusta pada mukosa hidung berkisar 10.000-100.000 (Noordeen, 1994).

Penularan melalui mukosa hidung telah dibuktikan dengan percobaan pada tikus dengan menyemprotkan basil *M. leprae* berulang-ulang (inhalasi buatan), ternyata pada pembuluh darah alveoli tikus dapat ditemukan basil tersebut. Hal ini berarti bahwa *M. leprae* dapat mencapai sistem sirkulasi darah dan selanjutnya

akan bersarang di suatu tempat predileksi untuk kuman tersebut, biasanya pada sel Schwann di perineurium (Noordeen, 1994). Sedangkan penularan lainnya diduga melalui inokulasi, yaitu melalui kulit yang terkontaminasi misalnya *tatoo* dengan alat yang tidak bersih (Noordeen, 1994; Nuryanti dan Agusni, 2002). Namun ternyata angka kejadian kusta melalui trauma kulit jauh lebih sedikit dibandingkan yang tanpa trauma. Para ilmuwan telah mencoba melakukan inokulasi *M.leprae* hidup pada kulit sukarelawan, namun hingga kini belum ada yang berhasil (Agusni, 2003). Saat ini kusta juga diyakini sebagai *zoonosis*, dengan ditemukannya hewan-hewan yang terinfeksi secara alamiah/natural dari lingkungan dan diduga mampu pula menularkannya pada hewan lain maupun pada manusia. Hewan tersebut antara lain *armadillo*, simpanse, kera *Mangabey*, kera *Cyanomolgus*, kerbau dan kucing. Infeksi alamiah pada hewan yang lain belum ada yang melaporkannya, walaupun secara eksperimental di laboratorium didapatkan bahwa *M. leprae* juga mampu hidup pada banyak hewan lain (Nuryanti dan Agusni, 2002).

Berdasarkan pola respon imun spesifik terhadap *M.leprae* pada penduduk, dapat disimpulkan secara tidak langsung bahwa paparan *M.leprae* pada umumnya terjadi di daerah endemik kusta, karena hal-hal berikut: (1) respon imun diperantarai sel (CMI) terhadap *M.leprae* yang dapat dihitung dengan test transformasi limfosit, tampak pada orang-orang sehat yang terpapar kusta dan tergantung pada lama serta dekatnya kontak dengan pasien (Godal *et al.*, 1973), (2) respon imun humoral terhadap *M.leprae* yang dapat dideteksi dengan adanya antibodi spesifik terhadap *phenolic glycolipid-I* (PGL-I) *M.leprae* dapat ditemukan pula di antara penduduk yang tinggal di daerah endemik kusta dengan

pemeriksaan serologi (Izumi *et al.*, 1990; 1995; Hatta *et al.*, 1995), (3) beberapa penelitian juga menunjukkan adanya penyebaran *M.leprae* melalui rongga hidung di antara penduduk yang tinggal di daerah endemik kusta dengan ditemukannya DNA *M. leprae* pada pemeriksaan *polymerase chain reaction* (PCR) (Beers *et al.*, 1994; Hatta *et al.*, 1995).

2.2.4 Respon Imun

Respon imun pada penyakit kusta sangat kompleks yaitu melibatkan imunitas seluler dan humoral. Sebagian besar gejala dan komplikasi penyakit ini disebabkan oleh reaksi imunologi terhadap antigen *M. leprae*. Jika respon imun yang terjadi setelah infeksi cukup baik, maka multiplikasi bakteri dapat dihambat pada stadium awal sehingga dapat mencegah perkembangan tanda dan gejala klinik selanjutnya (Harboe, 1994).

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

2.2.4.1 Respon imun alami

Imunitas alami pada kusta masih sangat sedikit diketahui. Kombinasi antara respon imun alami yang efektif dengan rendahnya virulensi *M. leprae* mendasari resistensi perkembangan penyakit secara klinik (Scollard, *et al.*, 2006).

M. leprae masuk ke dalam tubuh dan berhasil melewati sistem imunitas alami yang bekerja dengan cara memfagosit basil tersebut dan kemudian ikut

bersama monosit dalam aliran darah. Selama dalam monosit, basil tidak terbunuh dan bahkan dapat berkembang biak. Keadaan ini disebut *Trojan horse phenomena*, yaitu basil ikut menumpang dan berkembang dalam salah satu sel tubuh tanpa dideteksi oleh sistem imunitas yang ada (Agusni, 1998). Suatu saat monosit tersebut akan mati dan pecah sehingga basil menyebar dan akan mencapai sel Schwann pada perineurium saraf tepi yang merupakan predileksi *M. leprae*. Oleh karena itu, *M. leprae* tahan terhadap lisosim dan dapat berkembang biak di dalam sel Schwann. Sel Schwann terinfeksi tidak dapat mengekspresikan molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II, sehingga tidak dapat berkomunikasi dengan sel limfosit T dan mengakibatkan basil di dalam sel Schwann tidak dapat terdeteksi oleh sel Th (Kandouw, 1999; Abbas and Lichtman, 2005).

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

2.2.4.2 Respon imun dapatan

Setelah *M. leprae* yang masuk dikenal oleh sistem imun tubuh, maka dimulailah proses imunitas yang spesifik. Oleh karena *M. leprae* adalah kuman obligat intraseluler, maka penghancuran kuman yang efektif adalah melalui respon imun seluler. Pada individu yang sehat, rangkaian respon ini akan segera

berlangsung dengan hasil akhir penghancuran *M. leprae* dalam makrofag maupun penghancuran sel target oleh sel T sitotoksik (Abbas *and* Lichtman, 2005).

Makrofag yang telah menangkap dan menyajikan antigen akan mengaktifkan sel limfosit CD4+ dan CD8+, menghasilkan proliferasi dan diferensiasi menjadi beberapa jenis sel limfosit yang aktif. Terbentuknya beberapa jenis sel limfosit T sitotoksik dan limfosit CD4+ yang memproduksi sitokin memperkuat penghancuran kuman dalam makrofag (Abbas *and* Lichtman, 2005).

Respon imun humoral terhadap *M. leprae* merupakan aktifitas sel limfosit B yang berada dalam jaringan limfosit dan sirkulasi darah. Rangsangan dari komponen antigen basil tersebut akan mengubah sel limfosit B menjadi sel plasma yang akan menghasilkan antibodi yang membantu proses opsonisasi. Tetapi pada penyakit kusta fungsi respon imun humoral ini tidak efektif, bahkan justru menyebabkan timbulnya beberapa reaksi kusta karena terbentuknya secara berlebihan (Harboe, 1994). Hal ini tampak pada penderita kusta lepromatosa, karena adanya rangsangan yang cukup lama oleh antigen *M. leprae*, maka akan ditemukan antibodi dalam jumlah berlebihan dalam sirkulasi darah penderita. Selain antibodi spesifik maupun non spesifik, ditemukan pula auto-antibodi serta peningkatan komplemen. Keadaan ini dianggap penyebab terjadinya reaksi *Erythema Nodosum Leprosum* (Sangupta, 2000). Terjadinya produksi yang berlebihan dari antibodi ini diduga akibat lumpuhnya sistem imunitas seluler dan hilangnya kontrol terhadap sel limfosit sehingga sel B terus memproduksi antibodi (Harboe, 1994).

Penelitian-penelitian ekspresi gen sitokin pada lesi kusta telah memberi gambaran detail tentang parameter imunologi dari tipe kusta yang berbeda, sebagai

konfirmasi dan mendukung konsep awal bahwa lesi tuberkuloid merupakan manifestasi dari hipersensitifitas tipe lambat dan imunitas seluler, sedangkan tipe lepromatosa dihasilkan saat terjadi pengenalan sistem imun (yang diindikasikan oleh produksi antibodi), tetapi host tidak mampu mengembangkan imunitas seluler terhadap *M. leprae*. Tetapi penelitian-penelitian tersebut belum dapat menjelaskan mekanisme bagaimana respon imun seluler menghasilkan keseluruhan spektrum kusta (Scollard *et al.*, 2006).

2.2.5 Perjalanan Klinik

Perjalanan klinik penyakit kusta merupakan suatu proses yang lambat dan berjalan bertahun-tahun, sehingga seringkali penderita tidak menyadari adanya proses penyakit di dalam tubuhnya. Sebagian besar penduduk di daerah endemik kusta pernah terinfeksi kuman *M. leprae*. Namun, karena adanya kekebalan alamiah, hanya sekitar 15% dari mereka yang mungkin akan menderita kusta. Pada mereka yang kekebalan alamiahnya tidak berhasil membunuh kuman yang masuk, terjadi perkembangbiakan kuman dalam sel *Schwann* di perineurium. Proses ini berjalan sangat lambat sebelum muncul gejala klinik yang pertama (Agusni, 1997).

Setelah melewati masa inkubasi yang cukup lama (sekitar 2-5 tahun), akan muncul gejala awal penyakit yang bentuknya belum khas, berupa bercak-bercak dengan sedikit gangguan sensasi pada kulit disertai dengan berkurangnya produksi keringat setempat. Keadaan ini disebut fase *indeterminate* dan dianggap sebagai fase dimana kelainan yang terjadi masih belum dipengaruhi oleh kekebalan tubuh. Meskipun tidak semua bentuk *indeterminate* akan berlanjut

menjadi kusta yang manifes (*overt*), dalam beberapa tahun setelah kelainan itu ditemukan, biasanya akan muncul gejala klinik yang khas. Kelainan yang khas ini bervariasi, dapat pada kulit, saraf tepi maupun organ-organ lainnya. Bentuk kelainan yang terjadi tergantung tipe penyakit kusta dan berkaitan erat dengan status imunitas penderita (Amiruddin dkk, 1994; Agusni, 1997).

2.2.6 Gejala Klinik

a. Tipe Tuberkuloid Tuberkuloid (TT)

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

b. Tipe Borderline Tuberkuloid (BT)

Lesi tipe ini menyerupai tipe TT, berupa makula anestesi atau plak yang sering disertai lesi satelit di pinggirnya, jumlah lesi satu atau beberapa, dengan gambaran hipopigmentasi, kulit kering atau skuama jelas seperti pada tipe TT. Gangguan saraf tidak seberat tipe TT dan biasanya asimetrik. Pada umumnya terdapat lesi satelit di dekat saraf perifer yang menebal (Amiruddin, 1998).

c. Tipe Borderline Borderline (BB)

Tipe BB merupakan tipe yang paling tidak stabil. Tipe ini disebut juga sebagai bentuk dimorfik. Lesi dapat berbentuk makula infiltrat. Permukaan lesi dapat

mengkilat, batas lesi kurang jelas dengan jumlah lesi melebihi tipe BT dan cenderung simetrik. Lesi sangat bervariasi baik ukuran, bentuk maupun distribusinya. Lesi *punched out* dapat pula ditemukan, yaitu hipopigmentasi oval pada bagian tengah dan berbatas jelas yang merupakan ciri khas dari tipe ini (Amiruddin, 1998).

d. Tipe Borderline Lepromatosa (BL)

Secara klasik, lesi dimulai dengan makula. Pada awalnya hanya berjumlah sedikit, kemudian dengan cepat menyebar ke seluruh badan. Makula lebih jelas dan lebih bervariasi bentuknya. Walaupun masih kecil, papul dan nodus lebih tegas dengan distribusi lesi yang hampir simetrik dan beberapa nodus tampak melekok pada bagian tengah. Lesi bagian tengah sering tampak normal, sedangkan pinggir bagian dalam infiltrat lebih jelas dibandingkan pinggir luarnya, dan beberapa plak tampak seperti *punched out* (Amiruddin, 1998).

e. Tipe Lepromatous Lepromatosa (LL)

Jumlah lesi sangat banyak, simetris, permukaan halus, lebih eritem, mengkilat, berbatas tidak tegas dan tidak ditemukan gangguan anestesi serta anhidrosis pada stadium dini. Pada stadium lanjut tampak penebalan kulit yang progresif, cuping telinga menebal, garis muka menjadi kasar dan cekung membentuk *facies leonine*, yang dapat disertai madarosis, iritis dan karatitis. Lebih lanjut dapat terjadi deformitas pada hidung, dapat disertai pembesaran kelenjar limfe, orkitis yang selanjutnya dapat menjadi atrofi testis, kerusakan saraf dermis menyebabkan gejala *stocking and glove anaesthesia* (Amiruddin, 1998).

2.2.7 Klasifikasi

Beberapa sistem klasifikasi yang digunakan dalam diagnosis penyakit kusta, antara lain:

a. Klasifikasi Madrid (1953) :

- 1) *Indeterminate* (I)
- 2) *Tuberculoid* (T)
- 3) *Borderline* (B)
- 4) *Lepromatousa* (L)

b. Klasifikasi Ridley-Jopling (1962) :

- 1) *Tuberculoid leprosy* (TT)
- 2) *Borderline tuberculoid leprosy* (BT)
- 3) *Mid borderline leprosy* (BB)
- 4) *Borderline lepromatous leprosy* (BL)
- 5) *Lepromatous leprosy* (LL)

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

1) Pausibasilar (PB)

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

2) Multibasilar (MB)

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

Adapun klasifikasi yang banyak digunakan dalam bidang penelitian adalah klasifikasi menurut Ridley dan Jopling yang mengelompokkan penyakit kusta

menjadi 5 kelompok berdasarkan gambaran klinik, bakteriologik, dan histopatologik (Amiruddin dkk., 1994; Agusni, 1997). Lebih lanjut, Kandouw (2001) menjelaskan bahwa klasifikasi Ridley dan Jopling dianggap paling tepat penggunaannya karena mempunyai korelasi dengan imunitas penderita.

2.2.8 Diagnosis

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

1. Lesi (kelainan) kulit yang mati rasa.

Kelainan kulit/lesi dapat berbentuk bercak-bercak keputihan (hipopigmentasi) atau kemerah-merahan (eritematosa) yang mati rasa (anestesi).

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

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

- a. Gangguan fungsi sensoris : mati rasa.
- b. Gangguan fungsi motoris : kelemahan otot (*parese*) atau kelumpuhan (*paralise*).
- c. Gangguan fungsi otonom : kulit kering dan retak-retak.

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

Seseorang dinyatakan sebagai penderita kusta jika terdapat satu atau lebih dari tanda-tanda pokok di atas (WHO,1998).

Deteksi lain secara klinik yang kini sering dilakukan adalah dengan teknik serologi dan teknik biologi molekular dengan PCR untuk *M. leprae*. Pemeriksaan serologi mulai dikembangkan sekitar tahun 80-an dengan diketahuinya antigen

spesifik pada kusta yaitu *phenolic glycolipid-I* (PGL-I), yang pertama kali dideskripsikan oleh Hunter dan Brennan (1981). Setelah diketahui struktur antigen PGL-I ini, selanjutnya dikembangkan antigen sintetik yaitu ND-O-BSA (*Natural Disaccharide Octyl Bovin Serum Albumin*) dan NT-P-BSA (*Natural Trisaccharide Phenilpropionyl Bovin Serum Albumin*) yang sifatnya sama dan dapat bereaksi dengan antibodi spesifiknya (Brennan, 1986).

Dikenal ada beberapa uji serologi untuk penyakit kusta, antara lain :

a. Uji FLA-ABS (*Fluorescent leprosy Antibody-Absorption test*)

Uji ini menggunakan antigen kuman *M. leprae* secara utuh yang telah dilabel dengan zat fluoresensi. Sensitifitas uji cukup tinggi, namun spesifitasnya agak kurang karena adanya reaksi silang dengan antigen dari Mikobakterium lainnya (Abe *et al.*, 1991).

b. Uji MLPA (*Mycobacterium leprae Particle Agglutination*)

Uji ini berdasarkan reaksi aglutinasi antara antigen sintetik PGL-I dengan antibodi IgM dalam serum. Merupakan uji yang praktis untuk dilakukan di lapangan, terutama untuk keperluan skrining kasus seropositif (Izumi *et al.*, 1999).

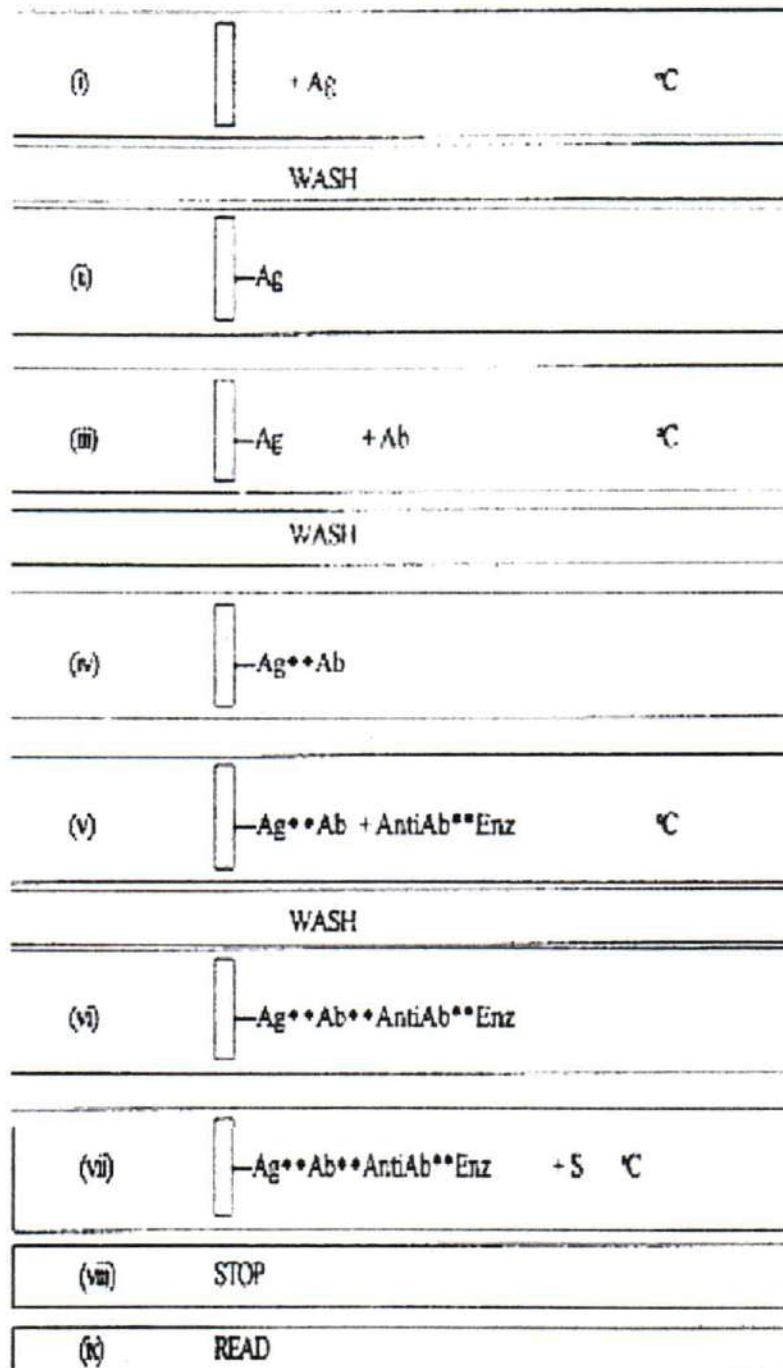
c. Uji inhibisi monoklonal (*Monoclonal Antibody Competition Test/MACT*)

Pada uji ini, antibodi dalam serum akan bersaing dengan antibodi monoklonal yang dibuat spesifik terhadap *M.leprae* dalam berikatan secara konjugat. Selanjutnya ikatan ini diukur dengan spektrofotometer ELISA (Klatser *et al.*, 1986).

d. Uji ELISA (*Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay*)

Prinsip uji ELISA adalah mengukur banyaknya ikatan antigen antibodi yang terbentuk dengan memberi label (biasanya berupa enzim) pada ikatan tersebut, selanjutnya akan terjadi reaksi warna yang dapat diukur dengan *spectrofotometer*, pemeriksaan ini menggunakan *microplate* untuk tempat terjadinya reaksi. Tiga metoda utama dalam ELISA adalah: *direct* ELISA, *indirect* ELISA, *sandwich* ELISA. Dalam penelitian ini digunakan metoda *indirect* ELISA, yaitu antigen yang secara langsung melekat pada fase solid akan bereaksi dengan antibodi primer. Kemudian dilakukan penambahan antibodi sekunder yang dilabel dengan enzim sehingga akan terjadi reaksi warna yang dapat diukur dengan *spectrofotometer* seperti tersebut di atas (Chrowther, 2001).

Keuntungan menggunakan uji ELISA antara lain: (1) Sempel, menggunakan *microplate* berkapasitas besar, cepat, dan mudah; (2) Sensitif, menggunakan amplifikasi enzim katalis, sehingga cukup sensitif untuk diagnosis; (3) Dapat diukur berdasarkan perubahan warna baik dengan *spectrofotometer* maupun dengan mata biasa. Data dapat disimpan dan dianalisis secara statistik (Chrowther, 2001). Sedangkan kelemahan uji ini antara lain: lemah dalam mendeteksi adanya kasus subklinis, karena antibodi pada individu dengan status seropositif mungkin didapatkan dari infeksi sebelumnya. Sebaliknya dapat pula terjadi kolonisasi *M.leprae* sebelum terbentuknya respon imun pada tubuh host (De WIT *et al.*, 1993).



Gambar 2.2 Tahapan *Indirect* ELISA (Chrowther, 2001).

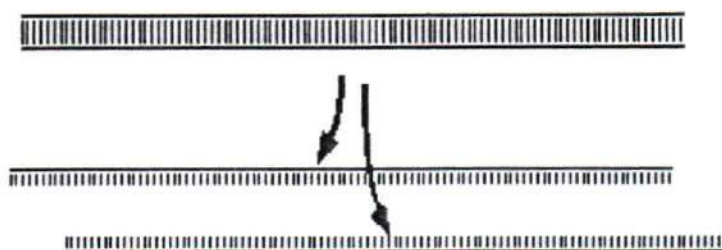
Keterangan gambar:

- : Fase solid sumuran mikroplate
- Ag : antigen
- Ab : antibodi primer
- ° C : inkubasi (selama 1 jam, dalam suhu 37 ° C)
- ** Enz : enzim berikatan dengan antiAb (antibodi sekunder)
- • : Pengikatan reagen
- S : *substrat solution*
- STOP : penghentian reaksi pewarnaan dengan *stopping solution*
- READ : pembacaan dengan spektrofotometer
- WASH : pencucian dengan *washing buffer*

PCR adalah suatu teknik enzimatik *in vitro* yang digunakan untuk menghasilkan gugus DNA spesifik dalam jumlah besar dan dalam waktu singkat melalui langkah *denaturation, annealing dan extension* pada temperatur yang berbeda (De Wit *et al.*, 1991; Wichitwechekarn *et al.*, 1996; Agusni, 2001).

Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, PCR mempunyai tingkat spesifitas dan sensitifitas yang tinggi serta dalam waktu yang cepat dapat digunakan untuk mendeteksi *M. leprae* pada penderita kusta dengan gejala klinik maupun penderita subklinik. Amplifikasi dilakukan pada berbagai potongan gen yang berbeda dari *M. leprae*. Termasuk gen yang mengkode berbagai macam protein *M. leprae* (18 kDa, 36 kDa, 65 kDa) serta *leprosy serum reactive* (LSR), rRNA dan *repetitive sequences* (Hartskeerl *et al.*, 1989; Santos *et al.*, 1994; Wichitwechekarn *et al.*, 1996; Katoch *et al.*, 2000).

Langkah 1: Denaturasi (95°C-98°C)



Langkah 2 : *Annealing* (45°C-65°C)



Langkah 3: *Extension* (65°C-75°C)



Gambar 2.3. Langkah-langkah dalam PCR (Mullis, 2002)

Pada penelitian sekarang ini, semakin banyak dilaporkan penggunaan PCR untuk mendeteksi *M. leprae* dari berbagai spesimen, seperti spesimen dari jaringan biopsi, hapusan mukosa hidung, jaringan hewan coba, bahkan dari sumber air di lingkungan sekitar tempat tinggal penderita di daerah endemik kusta (Misra *et al.*, 1995; Izumi, *et al.*, 2002, Agusni, 2003).

Faktor yang paling penting dalam PCR adalah karakteristik *primer* dan bagaimana *primer* tersebut spesifik berikatan dengan target. Berbagai variasi teknik PCR telah dilaporkan, meliputi amplifikasi berbagai rangkaian DNA target yang telah digunakan untuk deteksi *M. leprae*. Umumnya terdapat rangkaian DNA yang mengkode sebagian besar antigen seperti 18 kDa, 36 kDa, 65 kDa,

atau rangkaian penyandi non-antigen seperti *M. leprae specific repetitive sequence* atau *ribosomal RNA sequences* (Misra, *et al.*, 1995).

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

2.2.9 Pengobatan

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

1. Pengobatan secara kausal

Pada era sebelum tahun 1940 untuk mengobati kusta digunakan suntikan minyak *chaulmogra*, namun cara ini menimbulkan banyak efek samping dan

perlu waktu sangat lama (Trautman, 1994). Sejak ditemukannya DDS (*Diamino-Diphenyl Sulphone*) tahun 1942 dimulailah era kemoterapi antikusta yang menunjukkan hasil nyata secara klinik dan bakteriologik. Namun setelah 20 tahun digunakan monoterapi, muncul laporan adanya kasus-kasus resisten terhadap DDS. Oleh karena itu, WHO pada tahun 1980 menerapkan metoda pengobatan kombinasi MDT-WHO (Rifampisin, DDS, dan Clofazimine).

2. Pengobatan untuk penyulit yang timbul

Dalam perjalanan klinik serta pengobatan kusta, seringkali timbul penyulit seperti reaksi neuritis, timbulnya tukak pada kaki dan lain-lain. Untuk keadaan yang demikian diperlukan penanganan khusus, termasuk obat-obat tambahan disamping pengobatan MDT.

3. Pengobatan suportif

Pada umumnya obat kemoterapi mempunyai efek samping terhadap hati dan darah, sebaiknya selain pengobatan tersebut diberikan pula pengobatan suportif, misalnya obat anti anemia serta vitamin B1 untuk perbaikan fungsi saraf tepi yang terganggu akibat proses penyakit.

4. Rehabilitasi medik

Bagi penderita kusta yang telah menjadi cacat akibat terlambat berobat, setelah selesai pengobatan kemoterapi diperlukan tindakan rehabilitasi secara medik untuk cacatnya. Tindakan yang dilakukan tergantung jenis cacat yang terjadi dan hasilnya juga tergantung pada tingkat kecacatan yang terjadi. Semakin awal dan ringan cacatnya maka akan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan bila cacatnya sudah parah. Dalam rehabilitasi medik ini mencakup usaha fisioterapi, operasi rekontruksi cacat kusta dan bila terpaksa

dilakukan tindakan bedah amputasi yang disusul dengan pemakaian protesa (Smith, 1996; 2000).

5. Rehabilitasi sosial

Sebagai akibat dari lamanya sakit serta kecacatan yang diderita, banyak penderita kusta kehilangan pekerjaannya. Adanya faktor *lepro-fobia* dalam masyarakat juga menyulitkan penderita untuk mendapatkan pekerjaan, bahkan keluarganya sendiri pun seringkali menolak kehadiran penderita di rumahnya. Untuk itu perlu dijalankan rekayasa sosial guna menyelesaikan program pengobatan kusta secara lengkap. Rekayasa sosial bertujuan untuk mengembalikan para bekas penderita kusta yang telah sembuh agar dapat diterima masyarakat dan mereka tidak merasa tersisih dari masyarakat. Mereka juga diharapkan dapat hidup secara mandiri tanpa harus tergantung pada belas kasihan orang lain (Vyas dkk, 1982; Mudatsir, 2003).

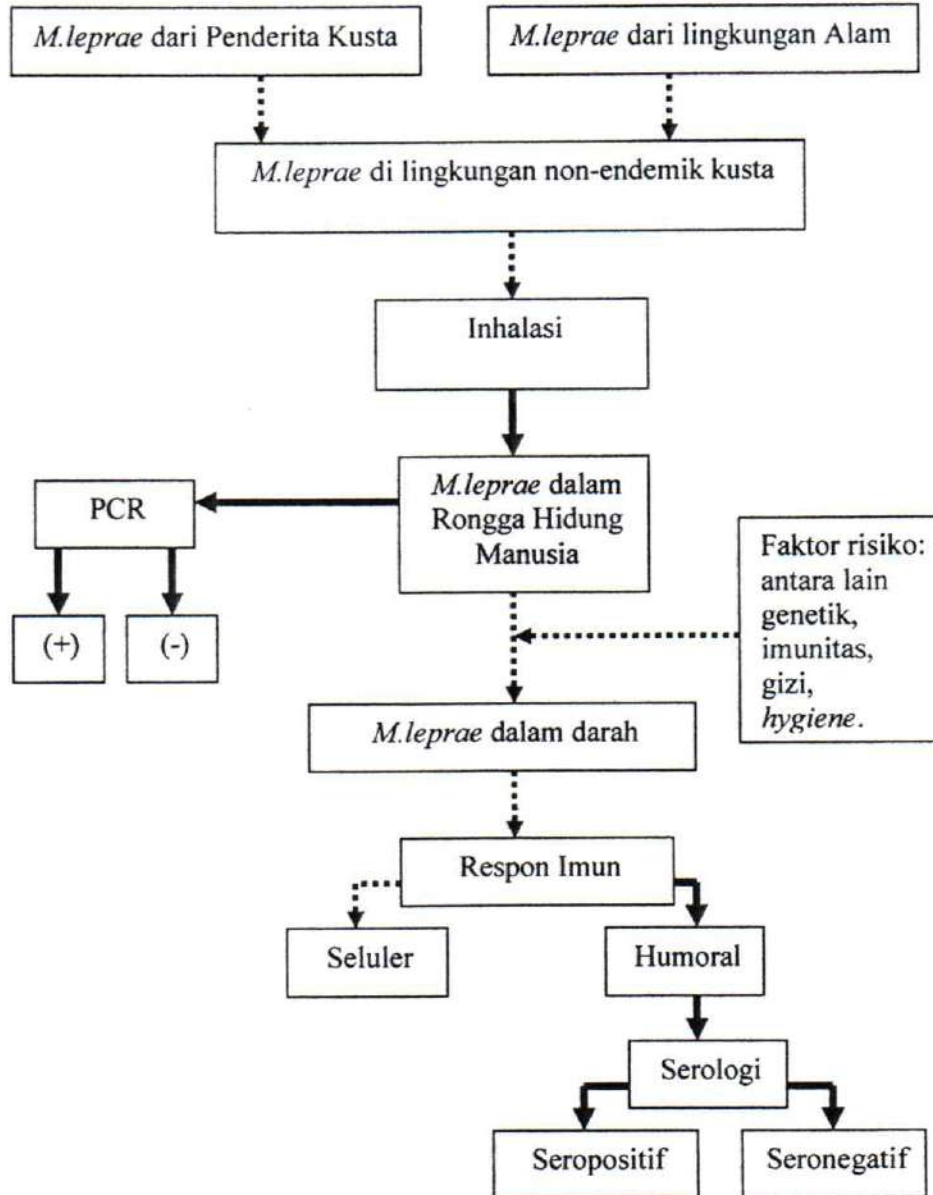
BAB III

**KERANGKA KONSEPTUAL DAN
HIPOTESIS PENELITIAN**

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Skema 3.1. Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan: **→** hal yang diteliti
-.-> hal yang tidak diteliti

M. leprae di lingkungan non-endemik dapat berasal dari penderita kusta tipe multibasiler dan dari lingkungan alam. Basil kusta tersebut menular secara inhalasi yaitu melalui *droplet infection*. Basil yang berada pada rongga hidung dapat dideteksi dengan teknik PCR. *M. leprae* yang berhasil masuk ke dalam tubuh dan melewati respon imun alami dapat menimbulkan respon imun baik seluler maupun humoral. Pemeriksaan serologi kusta dengan teknik ELISA dapat digunakan untuk melihat adanya respon imun humoral yang terjadi.

3.2 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah dan kajian teori yang telah dilakukan, maka dapat ditentukan hipotesis penelitian bahwa pada dataran rendah dan dataran tinggi di daerah non-endemik kusta:

1. Ada perbedaan seropositifitas penyakit kusta dengan teknik ELISA.
2. Ada perbedaan positifitas *M.leprae* pada hapusan hidung dengan teknik PCR.

BAB IV
MATERI DAN METODE
PENELITIAN

BAB 4**MATERI DAN METODE PENELITIAN****4.1 Rancangan Penelitian**

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasional analitik yang dilakukan secara *cross sectional* di daerah non-endemik kusta yaitu Kabupaten Pacitan, Jawa Timur (Friedman, 1993 ; Lilienfeld *and* Stolley, 1994)

4.2 Populasi dan Sampel**4.2.1 Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah anak sekolah dasar yang tinggal di dataran rendah dan anak sekolah dasar yang tinggal di dataran tinggi pada daerah non-endemik kusta di Kabupaten Pacitan, Jawa Timur.

4.2.2 Sampel

Sampel yang diambil adalah anak-anak sekolah dasar kelas IV, V, VI yang tinggal di dataran rendah (desa Donorojo) dan di dataran tinggi (desa Jeruk) pada daerah non-endemik kusta, Kabupaten Pacitan, Jawa Timur.

4.2.3 Cara Pengambilan Sampel dan Besar Sampel

Sekolah tempat pengambilan sampel dipilih secara *purposive sampling* yaitu 2 sekolah di dataran rendah (desa Donorojo) dan 3 sekolah di dataran tinggi (desa Jeruk). Besar sampel adalah 112 anak sekolah dasar kelas IV, V, dan VI di dataran rendah dan 180 anak pada tingkat yang sama di dataran tinggi. Alasan

pemilihan sekolah adalah (1). Keterjangkauan pengambilan sampel, karena lokasi sekolah tersebut relatif mudah dijangkau daripada lokasi sekolah lain. (2). Sekolah yang dipilih adalah sekolah yang berada di dataran rendah dan dataran tinggi.

4.2.4 Kriteria penerimaan sampel

- a. Anak sekolah kelas IV, V, dan VI pada sekolah dasar yang terpilih di dataran rendah (desa Donorojo) dan di dataran tinggi (desa Jeruk).
- b. Secara anamnestik dan klinik tidak menunjukkan tanda-tanda penyakit kusta pada saat dilakukan pemeriksaan fisik (antara lain: adanya bercak putih atau kemerahan, adanya hilang rasa pada bercak yang ditemukan dan adanya penebalan syaraf).
- c. Bersedia ikut dalam penelitian dengan cara orang tua/walinya menandatangani pernyataan persetujuan secara tertulis (menandatangani *inform consent*) setelah mendapatkan keterangan yang cukup dari petugas puskesmas/peneliti tentang keuntungan dan hal-hal yang tidak diinginkan yang dapat terjadi selama mengikuti penelitian.

4.2.5 Kriteria penolakan sampel

- a. Anak sekolah yang mempunyai riwayat kontak dengan penderita
- b. Bila pada saat pengambilan sediaan ditemukan kesulitan (antara lain: volume darah yang terambil terlalu sedikit (<1,5 cc).
- c. Anak yang terdaftar sebagai sampel tidak hadir pada saat pengambilan sediaan.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

1. Dataran tinggi dan dataran rendah pada daerah non-endemik kusta (variabel bebas dengan skala pengukuran nominal)
2. Kadar antibodi IgM yang diperiksa dengan uji serologi *indirect* ELISA dan dinyatakan sebagai seropositif dan seronegatif terhadap *M. leprae* (variabel tergantung dengan skala pengukuran nominal)
3. DNA *M.leprae* dari hapusan hidung masing-masing sampel, yang diperiksa dengan teknik *nested* PCR dan hasilnya berupa positifitas dan negatifitas *M. leprae* (variabel tergantung dengan skala pengukuran nominal)

4.3.2 Definisi operasional variabel

1. Dataran rendah adalah daerah yang memiliki ketinggian 0-600 m dari permukaan laut.
2. Dataran tinggi adalah daerah yang terletak pada ketinggian >600 m dari permukaan laut.
3. Kadar Antibodi anti-PGL-I yang diperiksa dengan uji serologi kusta. Antibodi yang diukur adalah IgM yaitu imunoglobulin yang paling banyak memberi respon terhadap antigen PGL-I *M.leprae*. Pemeriksaan serologi kusta yang digunakan adalah teknik *indirect Enzyme linked Immunosorbent Assay* (ELISA), suatu teknik serologi kuantitatif yang berdasarkan pada pengukuran banyaknya ikatan antigen antibodi yang terbentuk dengan memberi label pada ikatan tersebut (label dilakukan

terhadap antibodi sekunder dengan suatu enzim), diukur dengan alat *spectrofotometer*, setelah terjadi perubahan warna, selanjutnya diukur kepadatan optik (*Optical Density/OD*) pada panjang gelombang 492 nm. Hasil pengukuran dalam satuan OD kemudian dikonversi ke dalam satuan unit/ml dengan menggunakan teknik biolisa. Nilai ambang batas (*cut of point*) antibodi anti PGL-1 untuk IgM yang digunakan pada penelitian ini adalah 605 u/ml, yaitu nilai yang didapat dari penelitian pendahuluan di laboratorium *Leprosy Study Group*, TDC-Unair pada serum individu sehat dari negara non-endemik kusta (Jepang) dan serum penderita kusta di Surabaya. Dikatakan seropositif jika kadar IgM >605 u/ml, dan seronegatif jika kadar IgM <605 u/ml.

4. DNA *M.leprae* dari hapusan hidung sampel yang diperiksa dengan teknik *nested* PCR: DNA *M.leprae* yang diperiksa berasal dari spesimen hapusan hidung anak-anak sekolah yang memenuhi kriteria penerimaan sampel. Sedangkan teknik *nested* PCR merupakan teknik molekular untuk mendeteksi DNA *M. leprae* menggunakan primer LP-F, LP-R dan Lp1, Lp2. Oligonukleotida LP-F dan LP-R akan mengamplifikasi sekuens 280 bp dari *repetitive element* (RLEP) yang spesifik dari *M.leprae*. Lp1 dan Lp2 akan mengamplifikasi sekuens 129 bp dari RLEP. Hasil pemeriksaan PCR dikatakan positif bila pada DNA *marker* (petanda) 100 bp DNA *ladder*, pada ketinggian 129 bp terdapat pita dari sampel dan posisi tersebut sejajar dengan kontrol positif yaitu DNA kuman *M. Leprae* strain *Thai 53* dari *nude mice* yang dibiakkan di *Leprosy Research Center*, Tokyo, Jepang.

4.4 Bahan Penelitian

4.4.1 Bahan untuk pengambilan spesimen pemeriksaan serologi

1. Alkohol 70%
2. NaN₃ (Sodium acid)

4.4.2 Bahan untuk pemeriksaan serologi

1. *Coating buffer* (pH=9.6)
2. *NT-P-BSA working solution*
3. *Washing Buffer*
4. *Blocking Buffer*
5. *Dilution buffer*
6. Serum sampel
7. Antibodi sekunder
8. *Substrate solution*
9. *Stopping Solution*

4.4.3 Bahan untuk membuat hapusan hidung

1. PBS
2. Spesimen hapusan hidung anak sekolah dasar terpilih kelas IV, V, VI

4.4.4 Bahan untuk ekstraksi DNA dan PCR

1. Bufer PBST (*phosphat buffered Saline-Tween 20*); Bahan untuk ekstraksi DNA hapusan hidung dengan menggunakan Qiagen miniprep kit

2. PCR master mixture berisi: (1). Enzim Taq DNA polymerase 0,2 μ l; (2). Premix G yang berisi: Tris-HCL (pH 9.0 pada suhu ruangan) 10 mM, KCl 50 mM, MgCl 1.5 mM, Campuran deoxynucleosidetriphosphate (dNTP) masing-masing 200 mM (dATP, dTTP, dCTP, dGTP); (3). Primer; (4). Air destilasi steril.

Primer LP-F 5'TATCGATGCAGGCGTGAGTGT 3'

LP-R 5' CTAACACGATACTGCTGCAC 3'

Lp1 5' TGCATGTCATGGCCTTGAGG 3'

Lp2 5' CACCGATAACCAGCGGCAGAA 3'

Masing-masing primer sebesar 5,0 pmol

3. DNA *template* dari tiap sampel
4. Gel agarose untuk elektroforesis yang dibuat dengan konsentrasi 3% menggunakan produk Agarose HS dengan pelarut TBE (*Tris-Boric EDTA*).
5. Ethidium bromide 0,01% digunakan untuk mewarnai gel hasil elektroforesis.
6. 6 x loading buffer dari TAKARA.

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Instrumen yang digunakan untuk mengambil spesimen pemeriksaan serologi kusta

1. Torniquet
2. Sduit 3 cc
3. Plester

4. Tabung eppendorf 1,5 ml dan 0,5 ml
5. Rak
6. Sentrifuge Kubota 4000 rpm
7. Pipet
8. Pendingin (es 4⁰C)

4.5.2 Instrumen yang digunakan untuk pemeriksaan serologi kusta dengan teknik ELISA

1. *Becker glass*
2. Pipet mikro
3. Tip
4. *Microplate*
5. Immunowash (BIORAD model 1575)
6. *Micromixer*
7. Box inkubasi
8. ELISA reader (SUNRISE CLASSIC)
9. Program Biolise

4.5.3 Instrumen yang digunakan untuk mengambil spesimen hapusan hidung

1. Tabung berisi PBS
2. *Cotton wool swab* dan bungkus *cotton*
3. *Vortex*
4. Pendingin (es 4⁰C)

4.5.4 Instrumen untuk pemeriksaan spesimen hapusan hidung dengan teknik PCR

1. Sentrifuge 5417 R Eppendorf 13.000 rpm
2. Takara PCR *thermal cycler*
3. Pipet mikro dengan tip berfilter steril buatan eppendorf ukuran 0,5-1,0 μ l, 20-100 μ l, 100-200 μ l, 100-1000 μ l
4. Tabung eppendorf steril ukuran 1,5 ml, 500 μ l, 200 μ l
5. Pinset steril
6. Box pendingin
7. Tangki elektroforesis
8. Foto digital kodak EDAS 290

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di daerah non-endemik kusta di Kabupaten Pacitan Jawa Timur, yaitu desa Donorojo yang merupakan dataran rendah dekat pantai dan desa Jeruk yang merupakan dataran tinggi. Pemeriksaan sediaan dengan teknik ELISA dan PCR dilakukan di laboratorium *Leprosy Study Group Tropical Disease Center* (TDC) UNAIR Surabaya. Penelitian direncanakan selama 9 bulan pada tahun 2007-2008.

4.7 Prosedur dan Pengumpulan Data

4.7.1 Prosedur pengambilan spesimen untuk pemeriksaan serologi kusta

1. Darah diambil dari vena cubiti anak sekolah sebanyak 1,5 cc
2. Masukkan tabung, ditunggu hingga membeku

3. Sentrifuge selama 5 menit, 8000 rpm
4. Diambil serumnya dan masukkan ke tabung 500 μ l
5. Simpan pada suhu 4°C

4.7.2 Prosedur pemeriksaan serologi kusta dengan teknik ELISA

1. Dimasukkan 50 μ l *coating buffer* dan *antigen NT-P-BSA working solution* ke dalam *microplate* yang telah dibagi sesuai skema dan diinkubasi selama 1 jam 37°C.
2. *Microplate* dicuci 3 kali dengan *washing buffer* (*larutan PBST/phosphate buffered saline + 0,05% Tween 20*).
3. Dimasukkan *blocking buffer* 200 μ l ke dalam *microplate*, diinkubasi selama 1 jam 37°C.
4. *Blocking buffer* dibuang.
5. Dimasukkan 50 μ l serum yang telah diencerkan dengan *dilution buffer* (1:300), ke dalam *microplate*, dan diinkubasi kembali selama 1 jam 37°C.
6. Cuci *microplate* dengan *washing buffer* sebanyak 3 kali.
7. Dimasukkan 50 μ l 2nd Antibodi (IgG / IgM letak sesuai skema) ke dalam *microplate*, diinkubasi selama 1 jam 37°C (IgG/IgM diencerkan dengan *dilution buffer* sebanyak 1:2000).
8. *Microplate* dicuci kembali dengan *washing buffer* sebanyak 3 kali.
9. *Substrat solution* diberikan sebanyak 100 μ l ke dalam *microplate* hingga warna kuning/jingga.

10. Reaksi pewarnaan dihentikan setelah \pm 10-30 menit (dihitung waktu optimasi pewarnaan paling baik) dengan menambahkan 100 μ l *stopping solution*.
11. Dihitung harga serapan (OD) dengan *Elisa Reader*, disimpan dan diolah datanya pada suatu program tertentu seperti *Biolise/X-read*.

4.7.3 Prosedur pengambilan spesimen hapusan hidung

1. Anak sekolah dianamnesis dan dilakukan pemeriksaan fisik
2. Dengan *cotton bud* yang steril diambil spesimen dari mukosa hidung anak sekolah, dengan cara : leher anak diekstensikan, *cotton bud* dimasukkan ke dalam rongga hidung hingga mencapai *concha nasal inferior* dengan membentuk sudut 45°, selanjutnya spesimen diambil dengan cara memutar *cotton bud* secukupnya.
3. Ujung *cotton bud* dimasukkan ke dalam tabung steril berisi 600 μ l larutan buffer fosfat (PBS).
4. Spesimen lalu dimasukkan kembali ke tempatnya, kemudian disimpan dalam tabung pendingin bersuhu 4°C.

4.7.4 Prosedur pemeriksaan spesimen hapusan hidung dengan teknik PCR

4.7.4.1 Ekstraksi DNA dari sampel penelitian

Sampel dari *cotton bud* diperas menjadi suspensi dalam tabung 1,5 ml, disentrifus selama 30 menit, 13000 rpm, 4°C, supernatan dibuang, *pellet* yang tertinggal diekstraksi dengan menggunakan kit Qiagen miniprep. Hasil ekstraksi digunakan sebagai *template* PCR.

4.7.4.2 Amplifikasi DNA

Primer

Dalam penelitian ini digunakan teknik *nested primers* yaitu oligonukleotida LP-F, LP-R yang akan mengamplifikasi sekuens 280 bp dari *repetitive element* (RLEP) yang spesifik dari *M.leprae*. Lp1 dan Lp2 akan mengamplifikasi sekuens 129 bp dari RLEP.

Amplifikasi DNA

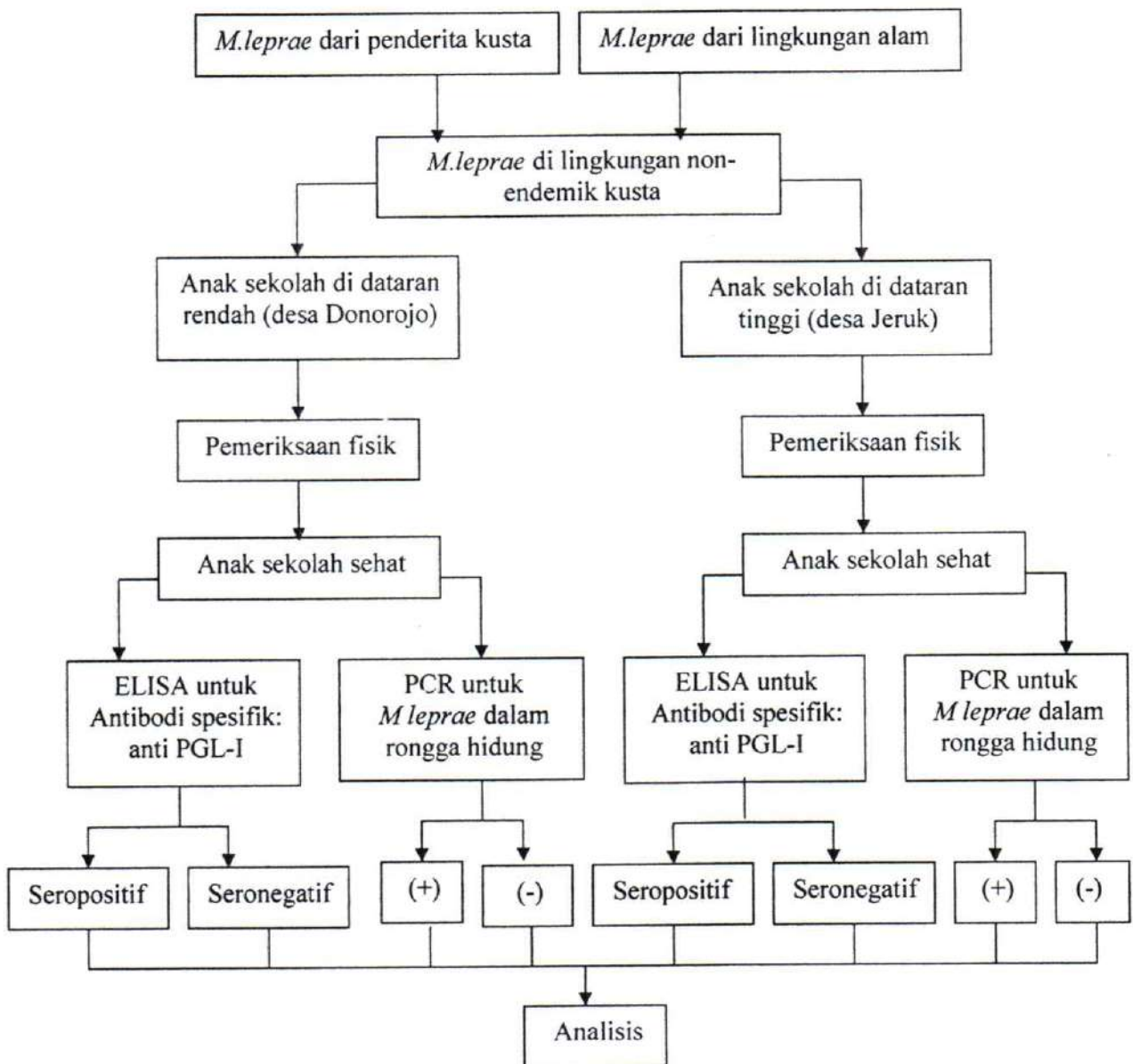
Amplifikasi DNA dilakukan dengan teknik *nested* PCR, diawali dengan memasukkan DNA *template* dan *primer* LP-F, LP-R serta reagen PCR ke dalam tabung PCR. Selanjutnya mesin PCR dijalankan dengan kondisi denaturasi pada suhu 98⁰C, *annealing* pada suhu 56⁰C dan ekstensi pada suhu 72⁰C sebanyak 35 siklus. Dari hasil ini didapatkan amplifikasi 280 bp yang selanjutnya dijadikan *template* untuk uji PCR ke-2. Dengan menggunakan primer Lp1, Lp2 serta suhu denaturasi, *annealing*, dan ekstensi yang sama seperti di atas sebanyak 30 siklus akan dihasilkan amplifikasi 129 bp. Hasil amplifikasi dilihat dengan gel agarose 3% dalam medan elektroforesis, dengan bantuan etidium bromida. Pembacaan hasil dilihat dengan transluminator dan difoto dengan menggunakan foto digital Kodak EDAS 290. Hasil dianggap positif bila ditemukan pita (*band*) pada ketinggian yang sesuai dengan pita dari kontrol positif *M.leprae* yang telah diketahui dan diperiksa bersama-sama dengan spesimen tersebut.



4.8 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan uji Chi Square, yaitu untuk membandingkan seropositifitas kusta dengan teknik serologi *indirect* ELISA di dataran rendah (desa Donorojo) dan dataran tinggi (desa Jeruk) serta positifitas *M. leprae* dari rongga hidung dengan teknik *nested* PCR. Alasan penggunaan uji analisis Chi Square adalah karena : (1). variabel pada penelitian ini mempunyai skala pengukuran ordinal (dataran rendah dan dataran tinggi; kadar antibodi IgM yang diukur dengan teknik *indirect* ELISA dan hasilnya dikategorikan menjadi nilai seropositif dan seronegatif; DNA *M.leprae* yang dinyatakan dengan positif dan negatif pada pemeriksaan *nested* PCR), (2).variabel mempunyai 2 kategori (tabel 2 x 2), (3). sampel yang diambil pada dataran rendah dan dataran tinggi merupakan data tidak berpasangan.

4.9 Kerangka Operasional



Skema 4.1 Kerangka Operasional

BAB V
ANALISIS HASIL PENELITIAN

BAB 5

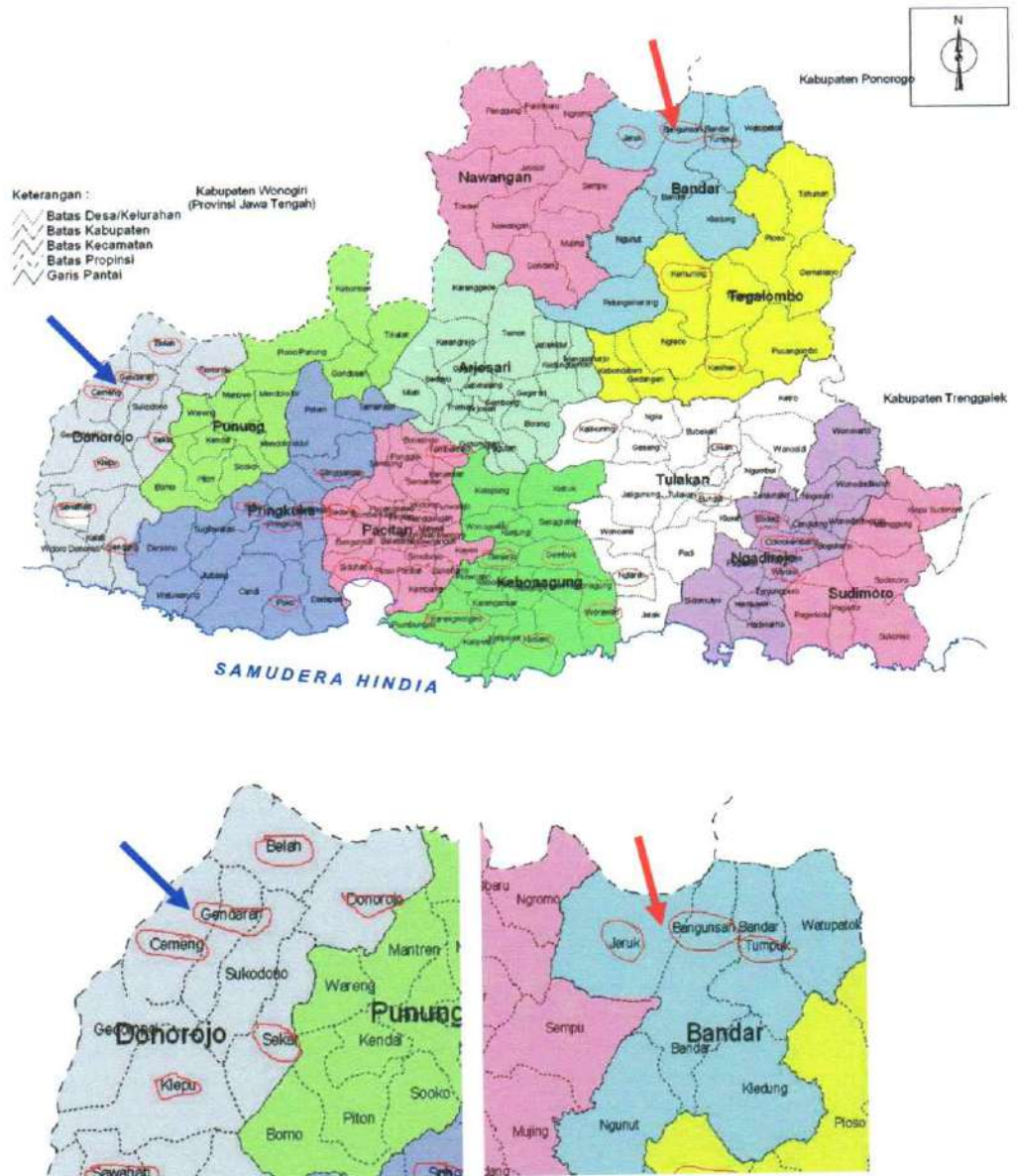
ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

5.1.1 Gambaran umum lokasi penelitian

Pacitan merupakan salah satu kabupaten yang terletak di sepanjang pantai selatan di Propinsi Jawa Timur. Sebelah barat berbatasan dengan kabupaten Wonogiri propinsi Jawa Tengah, sebelah timur berbatasan dengan kabupaten Trenggalek propinsi Jawa Timur. Pada tahun 2006 penduduk Kabupaten Pacitan berjumlah ± 536.632 jiwa yang tersebar pada 12 kecamatan. Secara geografis, kecamatan-kecamatan tersebut sebagian berupa dataran rendah dan sebagian berupa dataran tinggi. Desa Donorojo merupakan dataran rendah yang relatif dekat dengan pantai, yaitu berjarak ± 18 km dari tepi pantai. Suhu rata-rata di daerah ini adalah $24,5$ °C. Sedangkan desa Jeruk merupakan dataran tinggi dengan ketinggian 750 m di atas permukaan laut dan berjarak ± 75 km dari tepi pantai, dengan suhu rata-rata 21 °C (Dinkes Pacitan, 2006).

Kabupaten Pacitan termasuk daerah non-endemik kusta dengan angka prevalensi $0,41/10.000$ penduduk. Diantara penderita kusta tersebut, 6 orang tinggal di Wilayah puskesmas Donorojo yang berpenduduk ± 24.000 jiwa dan 11 orang tinggal di wilayah puskesmas Jeruk yang mempunyai penduduk ± 20.000 jiwa (Dinkes Pacitan, 2006).



Gambar 5.1 Peta lokasi pengambilan sampel penelitian di Kabupaten Pacitan, Jawa Timur. Panah biru menunjukkan dataran rendah (desa Donorojo), Panah merah menunjukkan dataran tinggi (desa Jeruk).

Sampel penelitian adalah anak-anak sekolah dasar kelas IV, V, dan VI di wilayah puskesmas Donorojo yaitu SD Cemeng I dan SD Gendaran I, dengan jumlah siswa keseluruhan 119 anak. Sedangkan wilayah puskesmas Jeruk diambil 3 SD, yaitu SD Bangunsari I, II, dan III yang mempunyai jumlah siswa

seluruhnya 192 anak. Jumlah SD/MI di dataran rendah adalah 21 sekolah dengan jumlah siswa kelas IV, V, VI seluruhnya \pm 1124 siswa. Jumlah SD/MI di dataran tinggi adalah 16 dengan jumlah siswa kelas IV, V, dan VI \pm 982 siswa. Jumlah siswa yang tidak memenuhi kriteria penerimaan sampel adalah sebanyak 7 siswa di dataran rendah (4 siswa tidak hadir saat pengambilan spesimen, 3 siswa mempunyai riwayat kontak dengan penderita), sedangkan di dataran tinggi 6 siswa tidak hadir, 6 siswa lainnya mempunyai riwayat kontak. Berikut tabel jumlah SD/MI dan jumlah siswa di kedua wilayah tersebut:

Tabel 5.1 Jumlah siswa SD/MI di dataran rendah dan dataran tinggi

Lokasi	Jumlah SD/MI (buah)	Jumlah total siswa kelas IV, V, VI (siswa)	Sampel Terdaftar (siswa)	Sampel Sesuai kriteria (siswa)		
				L	P	Total
Dataran rendah	21	1124	2 SD : 119	55	57	112
Dataran tinggi	16	982	3 SD : 192	102	78	180

Keterangan: L: laki-laki, P: perempuan

5.1.2 Karakteristik Sampel

5.1.2.1 Umur

Sampel adalah anak sekolah dasar kelas IV, V, dan VI. Rata-rata umur sampel di dataran rendah maupun dataran tinggi adalah 10,63 tahun.

5.1.2.2 Jenis Kelamin

Distribusi Jenis kelamin berdasarkan hasil pemeriksaan serologi adalah: (1). Di dataran rendah, dari 112 sampel siswa, sebanyak 7 siswa laki-laki (6,3%) dan 16 siswa perempuan (14,3%) ditemukan seropositif. (2). Di dataran tinggi,

sebanyak 52 siswa laki-laki (28,9%) dan 50 siswa perempuan (27,8%) dari 180 siswa ditemukan seropositif.

Tabel 5.2 Distribusi jenis kelamin sampel berdasarkan hasil pemeriksaan serologi kusta dengan *indirect* ELISA.

Lokasi	Total siswa	Laki-laki				Perempuan			
		Seropositif	Seronegatif	Seropositif	Seronegatif	Seropositif	Seronegatif	Seropositif	Seronegatif
Dataran rendah	112	7	6,3%	48	42,8%	16	14,3%	41	36,6%
Dataran tinggi	180	52	28,9%	50	27,8%	50	27,8%	28	15,5%

Hasil analisis hubungan (asosiasi) antara seropositifitas kusta dengan jenis kelamin siswa di dataran rendah menggunakan uji Chi square didapatkan nilai P 0,076. Karena P hitung > P tabel (0,05), maka dapat disimpulkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara seropositifitas kusta dengan jenis kelamin siswa di dataran rendah.

Analisis hubungan (asosiasi) antara seropositifitas kusta dengan jenis kelamin siswa di dataran tinggi menggunakan uji Chi Square diperoleh nilai P 0,108. Nilai tersebut lebih besar dari P tabel (0,05). Hal ini berarti tidak ada hubungan yang bermakna antara nilai seropositifitas dengan jenis kelamin siswa di dataran tinggi.

Sedangkan dari pemeriksaan hapusan hidung dengan PCR didapatkan hasil: (1). Dari 4 siswa sekolah dasar di dataran rendah yang hapusan hidungnya positif mengandung DNA *M.leprae*, 2 diantaranya laki-laki, sedangkan 2 siswa lainnya perempuan. (2). Di dataran tinggi, ditemukan 5 sampel siswa yang hapusan hidungnya positif mengandung DNA *M. leprae*, yaitu 4 laki-laki, dan 1 perempuan.

Tabel 5.3 Distribusi jenis kelamin sampel berdasar hasil pemeriksaan hapusan hidung dengan teknik PCR

Lokasi	Total siswa	Laki-laki				Perempuan			
		Positif		Negatif		Positif		Negatif	
Dataran rendah	112	2	1,8%	53	47,3%	2	1,8%	55	49,1%
Dataran tinggi	180	4	2,2%	98	54,4%	1	0,6%	77	42,8%

Analisis hubungan (asosiasi) antara positifitas *M.leprae* dari hapusan hidung dengan jenis kelamin di dataran rendah dan dataran tinggi menggunakan uji Chi Square didapatkan nilai P masing-masing 1,000 dan 0,542. Hal ini menunjukkan bahwa baik di dataran rendah maupun dataran tinggi tidak terdapat hubungan bermakna antara positifitas *M.leprae* dari hapusan hidung dengan jenis kelamin siswa.

5.1.2.3 Status Gizi

Penghitungan status gizi terhadap sampel anak-anak sekolah dilakukan dengan menggunakan rumus Indeks Massa Tubuh (IMT) = $Bb \text{ (gram)}/Tb^2 \text{ (cm)}$. Kemudian hasilnya dikategorikan sebagai (1) "kurang" : jika diperoleh nilai < 18,5 gram/cm²; (2) "normal" jika nilainya antara 18,5-25 gram/cm²; (3) "lebih" jika > 25gram/cm². Hasil yang diperoleh dari penghitungan tersebut dapat dilihat dalam tabel di bawah ini:

Tabel 5.4 Hasil penghitungan status gizi sampel di dataran rendah dan tinggi

Lokasi	Total Siswa	Status gizi								
		Kurang			Normal			Lebih		
		L	P	T	L	P	T	L	P	T
Dataran rendah	112	47	51	98	8	5	13	-	1	1
Dataran tinggi	180	91	73	164	11	5	16	-	-	-

Keterangan: L : laki-laki, P : perempuan, T : total

Jumlah siswa di dataran rendah yang mempunyai nilai seropositif dengan status gizi kurang adalah 21 siswa, sedangkan 2 siswa status gizinya normal. Di dataran tinggi nilai seropositif terdapat pada 89 siswa dengan status gizi kurang, dan 13 siswa mempunyai status gizi normal. Tabel yang menunjukkan hubungan antara seropositifitas kusta dengan status gizi disajikan dibawah ini:

Tabel 5.5 Hubungan antara seropositifitas kusta dengan status gizi di dataran rendah dan tinggi

Lokasi/ Stat gizi	Hasil serologi							
	Seropositif				Seronegatif			
	Kurang	Normal	Lebih	Total	Kurang	Normal	Lebih	Total
Dataran rendah	21	2	-	23	77	11	1	89
Dataran tinggi	89	13	-	102	75	3	-	78
Total	110	15	-	125	152	14	1	167

5.1.2.4 Riwayat Kontak

Informasi tentang riwayat kontak diperoleh dari petugas kusta puskesmas di dataran rendah dan dataran tinggi. Riwayat kontak yang dimaksud di sini adalah adanya riwayat kontak secara intensif dengan anggota keluarga lain dalam satu rumah dan riwayat kontak dengan penderita yang tempat tinggalnya berjarak maksimal 500 m. Semua anak di dataran rendah tidak ada satupun yang mempunyai riwayat kontak serumah. Namun sebanyak 3 anak di lokasi ini mempunyai riwayat kontak dengan penderita yang tinggal di sekitar tempat tinggalnya dengan jarak maksimal 500 m tersebut (peta lokasi terlampir). Di dataran tinggi 3 anak mempunyai riwayat kontak dengan keluarga, dan 3 anak lainnya mempunyai riwayat kontak dengan penderita di sekitar tempat tinggalnya dengan jarak maksimal 500 m (peta lokasi terlampir). Ke-9 anak yang mempunyai

riwayat kontak tersebut masuk dalam kriteria penolakan sampel, sehingga tidak diperiksa.

5.1.3 Hasil pemeriksaan serologi kusta dengan teknik ELISA

Pada penelitian ini, dilakukan pemeriksaan serologi kusta terhadap serum sampel dengan teknik *indirect* ELISA untuk mendeteksi IgM anti PGL-I (hasil terlampir).

Hasil pemeriksaan serologi adalah didapatkan : nilai seropositif (kadar IgM > 605 u/ml) di dataran rendah sebanyak 23 dari 112 sampel yang memenuhi kriteria (20,5%) dan di dataran tinggi sebanyak 102 dari 180 sampel yang memenuhi kriteria (56,7%).

Tabel 5.6 Hasil pemeriksaan serologi kusta dengan teknik *indirect* ELISA

Lokasi	Jumlah sampel total sesuai kriteria (siswa)	Jumlah nilai seropositif		Jumlah nilai seronegatif	
		Jumlah	%	Jumlah	%
Dataran rendah	112	23	20,5	89	79,5
Dataran tinggi	180	102	56,7	78	43,3

5.1.4 Hasil pemeriksaan spesimen hapusan hidung dengan teknik PCR

Hasil pemeriksaan spesimen hapusan hidung dengan teknik *nested* PCR (terlampir) didapatkan nilai positif (terlihat pita pada ketinggian 129 bp dari fragmen DNA sampel yang sejajar dengan kontrol positif) pada dataran rendah sebanyak 4 dari 112 sampel yang memenuhi kriteria (3,6%) dan di dataran tinggi sebanyak 5 dari 180 sampel yang memenuhi kriteria (2,8%).

Tabel 5.7 Hasil pemeriksaan hapusan hidung dengan teknik *nested* PCR

Lokasi	Jumlah sampel total sesuai kriteria (siswa)	Jumlah nilai positif		Jumlah nilai negatif	
		Jumlah	%	Jumlah	%
Dataran rendah	112	4	3,6	108	96,4
Dataran tinggi	180	5	2,8	175	97,2

Gambar 5.2 Hasil pemeriksaan hapusan hidung dengan teknik *nested* PCR dari beberapa spesimen yang positif.

Keterangan: Pada gambar di atas tampak produk amplifikasi berada di daerah 129 bp. *Lane* 1-14: spesimen hapusan hidung, *Lane* 15: marker 100 bp DNA ladder, *Lane* 16: kontrol negatif, *Lane* 17: kontrol positif.

Sembilan sampel yang menunjukkan nilai positif dengan pemeriksaan PCR, 2 diantaranya pada pemeriksaan serologi menunjukkan seronegatif. Satu sampel bernilai 422 u/ml, dan lainnya nol.

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

Hasil pemeriksaan serologi kusta dan pemeriksaan PCR tersebut di atas selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji Chi Square. Di bawah ini disajikan hasil analisis dengan menggunakan program SPSS 13:

5.2.1 Analisis hasil pemeriksaan serologi kusta

Analisis Chi Square pemeriksaan serologi kusta di dataran rendah dan dataran tinggi diperoleh nilai signifikansi $P = 0,000$. Karena P hitung $<$ dari P tabel (0,05), maka disimpulkan terdapat beda bermakna antara seropositifitas kusta dengan menggunakan teknik *Indirect* ELISA di dataran rendah dan dataran tinggi.

5.2.3 Analisis hasil pemeriksaan PCR

Dari analisis uji Chi-Square pemeriksaan PCR di dataran rendah dan dataran tinggi diperoleh nilai P yang lebih besar dari 0,05 (0,973), maka disimpulkan tidak ada beda bermakna antara positifitas *M. leprae* dengan teknik *nested* PCR di dataran rendah dan di dataran tinggi.

BAB VI
PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh gambaran tentang perbandingan seropositifitas penyakit kusta pada anak-anak sekolah yang tinggal di dataran rendah dan di dataran tinggi yang ada di daerah non-endemik kusta dengan menggunakan teknik ELISA. Disamping itu ingin diketahui pula gambaran tentang perbandingan positifitas *M. leprae* dari hapusan hidung anak-anak sekolah pada kedua daerah tersebut dengan menggunakan teknik PCR. Perbandingan dua daerah tersebut dilakukan dengan latar belakang adanya fenomena yang menarik tentang penyebaran kasus kusta di Jawa Timur, yaitu kantung-kantung endemik terutama ditemukan di daerah pantai utara Jawa, sedangkan di pantai selatan menunjukkan prevalensi yang rendah atau bahkan tidak ditemukan kasus kusta. Hal lain yang menarik perhatian adalah penyebaran kasus kusta di seluruh dunia yang bervariasi secara geografis. Sebagai contoh adanya kantung endemis kusta di daerah pegunungan, seperti Nepal yang pada awal tahun 2004 masih mempunyai angka prevalensi 3,1/10.000 penduduk (WHO, 2005). Sedangkan Depkes RI pada tahun 2004 menyatakan bahwa Indonesia mempunyai angka prevalensi 0.86 per 10.000 penduduk, namun masih mempunyai kantung-kantung endemis kusta terutama di daerah pantai. Kenyataan bahwa belum adanya data tentang pola penyebaran kusta di daerah non-endemik juga menjadi pertimbangan dalam pemilihan topik penelitian ini, sehingga pada akhir penelitian diharapkan dapat memperoleh gambaran tentang pola penyebaran

dan tingkat paparan kusta di daerah non-endemik kusta dengan membandingkan dataran rendah dan dataran tinggi tersebut.

6.1 Karakteristik Sampel

6.1.1 Umur

Distribusi umur pada penyakit kusta sangat bervariasi dan menyerang segala umur, tetapi jarang ditemukan pada bayi. Hal ini diduga berkaitan dengan masa inkubasi penyakit tersebut yang cukup lama. Angka kejadian (*incidence rate*) meningkat pada umur 10-20 tahun (Depkes RI, 2004). Sedangkan menurut Noordeen (1994) di India selatan kebanyakan penderita kusta berumur 10-14 tahun, kemudian menurun pada kelompok umur berikutnya dan akan meningkat kembali pada umur 20-60 tahun. Pola distribusi sesuai umur tersebut hampir sama pada kebanyakan negara endemik kusta. Hal ini dapat terjadi karena masa inkubasi yang sangat panjang menyebabkan manifestasi klinis timbul lebih lambat. Angka kejadian yang tinggi pada umur 10-20 atau 10-14 tahun seperti tersebut sebelumnya mendasari pemilihan sampel penelitian ini. Sampel anak-anak sekolah kelas IV, V, dan VI SD di dataran rendah dan dataran tinggi mempunyai nilai rata-rata umur 10,63 tahun. Selain itu anak-anak dapat mewakili populasi penelitian karena paparan lingkungan mereka relatif tetap sesuai kehidupan mereka sehari-hari sebagai anak sekolah. Sebaliknya, penduduk usia dewasa seringkali mempunyai mobilitas lebih tinggi, sehingga lebih sulit untuk menentukan paparan lingkungannya. Bila ditemukan anak-anak sebagai penderita kusta, orang tua juga dapat dimintai keterangan seperti: onset dan perjalanan penyakit serta kemungkinan sumber penularan (Kattan *et al.*, 2006). Anak-anak

juga lebih rentan terhadap trauma, infeksi dan infestasi yang dapat memfasilitasi terjadinya transmisi kusta (Ramani *et al.*, 1990).

6.1.2 Jenis Kelamin

Kusta menyerang jenis kelamin laki-laki maupun perempuan, tetapi laki-laki lebih banyak dari pada perempuan dengan perbandingan 2:1. Kesimpulan tersebut didapatkan dari penelitian di beberapa tempat seperti India, Pilipina, Hawaii, Venezuela dan Cameroon. Tetapi perbandingan penderita kusta berdasarkan jenis kelamin seperti tersebut di atas tidak bersifat universal. Di beberapa wilayah seperti Uganda, Nigeria, Malawi, Gambia, Zambia, Thailand dan Jepang jumlah penderita laki-laki sama dengan penderita perempuan, bahkan kadangkala perempuan lebih banyak (Noordeen, 1994).

Jika jumlah penderita kusta laki-laki lebih banyak, maka beberapa penyebab dapat disebutkan antara lain: (1) Pekerjaan yang berhubungan dengan kusta banyak dilakukan oleh laki-laki, sehingga lebih berisiko tertular. (2) Pemeriksaan terhadap wanita penderita kusta kurang maksimal karena faktor budaya tertentu. Hal ini menyebabkan kasus kusta wanita tidak terdeteksi secara maksimal. (3) Wanita yang biasa menutup tubuhnya dengan rapat juga mempunyai kemungkinan lebih kecil untuk terjadinya kontak kulit dengan penderita kusta (Noordeen, 1994).

Pada penelitian ini juga terdapat variasi jumlah seropositifitas dan positifitas *M. leprae* berdasarkan jenis kelamin. Uji statistik yang menunjukkan hubungan antara seropositifitas dan positifitas *M. leprae* dengan jenis kelaminpun tidak bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa distribusi jenis kelamin yang

bervariasi tidak menggambarkan adanya pengaruh terhadap kedua hasil pemeriksaan tersebut.

6.1.3 Status Gizi

Penelitian Rao *et al.* (1986), menyimpulkan bahwa kasus kekurangan gizi berhubungan dengan kemiskinan bukan dengan penyakit kusta. Hubungan status gizi dengan imunitas sangat kompleks. Kekurangan gizi menyebabkan kelemahan imunitas seseorang, namun hingga saat ini masih ada kontroversi di antara para ahli tentang hubungan status gizi dengan imunitas pada penyakit kusta. Laporan kejadian yang meyakinkan adanya hubungan signifikan antara keduanya juga belum ada (Rao *et al.*, 1986). Pada penelitian ini pola hubungan seropositifitas dengan status gizi juga terlihat tidak menetap.

6.1.4 Riwayat Kontak

Riwayat kontak pada kusta secara umum tidak terdefinisi dengan jelas (Noorden, 1994). Dalam penelitian ini yang dimaksud adalah adanya riwayat kontak secara intensif dengan anggota keluarga lain dalam satu rumah dan riwayat kontak dengan penderita yang tempat tinggalnya berjarak maksimal 500 m. Hal ini berdasarkan alasan bahwa penularan kusta memerlukan persyaratan kontak yang lama, intim, dan terus menerus dengan sumber penularan (Agusni, 2003). Pada penelitian ini adanya riwayat kontak merupakan kriteria eksklusi. Sehingga diharapkan tidak didapatkan bias pada hasil penelitian.

Survey aktif kusta di daerah kantung endemik pada negara dengan prevalensi kusta rendah pernah dilakukan oleh Masanori *et al.*, pada tahun 2004.

Dalam survey tersebut dilakukan pemeriksaan serologi terhadap pasien kusta dalam terapi, kontak serumah, kontak pekerjaan dan non-kontak. Dari 14 sampel non-kontak didapatkan 3 diantaranya mempunyai antibodi positif. Hal ini menunjukkan telah terjadi paparan *M.leprae* terhadap ketiga sampel tersebut meskipun tidak mempunyai riwayat kontak. Namun dalam survey tersebut tidak disebutkan kemungkinan sumber paparan (Kai *et al.*, 2004).

6.2 Hasil pemeriksaan serologi kusta dengan teknik *indirect* ELISA

Pada penelitian ini pemeriksaan serologi yang digunakan adalah teknik *indirect* ELISA. Teknik serologi kuantitatif ini mengukur banyaknya ikatan antigen antibodi yang terbentuk dengan memberi label pada ikatan tersebut. Antibodi yang diukur kadarnya adalah antibodi anti PGL-I untuk IgM karena (1). Adanya IgM pada tubuh seseorang menunjukkan basil kusta yang aktif dalam tubuh, karena PGL-I hanya diproduksi oleh kuman yang hidup (Hunter and Brennan, 1981). (2) IgM anti PGL-I berhubungan dengan *bacillary load* pada pasien kusta dan merupakan indikator yang baik untuk monitor terapi karena titernya menurun setelah pengobatan (Stefani *et al.*, 1998)

Tingginya seropositifitas di dataran tinggi (desa Jeruk) kemungkinan disebabkan oleh beberapa hal. Kemungkinan pertama adalah karena *M. leprae* tumbuh lebih baik pada suhu yang relatif lebih dingin (Rees and Young, 1994; Amiruddin dan Noordeen, 1995). Kemungkinan kedua adalah masih adanya sumber infeksi manusia lain (penderita kusta) yang belum terdeteksi di daerah tersebut (*back log case*), mengingat bahwa kedua daerah yang diteliti merupakan kantong endemis (Noorden, 1994). Kemungkinan ketiga adalah adanya kasus

kusta subklinis yang berpotensi menjadi sumber penularan (agusni, 2003). Hal ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

6.3 Hasil pemeriksaan DNA *M.leprae* dengan teknik *nested* PCR

Teknik *nested* PCR pada penelitian ini menggunakan 2 pasang primer yaitu LP-F, LP-R dan Lp1, Lp2. Oligonukleotida LP-F dan LP-R akan mengamplifikasi sekuens 280 bp dari *repetitive element* (RLEP) yang spesifik dari *M.leprae*. Lp1 dan Lp2 akan mengamplifikasi sekuens 129 bp dari RLEP. Hasil pemeriksaan PCR dikatakan positif bila pada DNA *marker* (petanda) 100 bp DNA *ladder*, pada ketinggian 129 bp terdapat pita dari sampel dan posisi tersebut sejajar dengan kontrol positif.

Hasil Pemeriksaan dengan teknik PCR diuji dengan Chi square dan didapatkan perbedaan tidak bermakna antara dataran rendah dan dataran tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan besar sumber penularan *M.leprae* di daerah tersebut bukan berasal dari lingkungan alam, sehingga masih memerlukan penelitian lebih mendalam pula. Namun demikian adanya *M. leprae* dalam rongga hidung orang sehat yang dapat bersifat sementara masih dapat menjadi sumber penularan bagi orang lain, sehingga masih perlu diwaspadai. (Cree and Smith, 1998).

Basil kusta dalam jumlah yang banyak sering ditemukan pada mukosa hidung penderita kusta tipe lepromatosa. Menurut Shepard jumlah basil kusta pada mukosa hidung berkisar 10.000-100.000 (Noordeen, 1994). Sedangkan di luar hospes, *M. leprae* mampu hidup lebih dari 7 hari dalam sekret hidung yang kering dengan suhu dan suasana lembab yang bervariasi. Davey dan Rees (1974)

menyebutkan bahwa *M.leprae* mampu hidup selama 7 hari pada suhu 20,6°C dan kelembaban 43,7 %. Sedangkan Desikan 1977 menyebutkan bahwa *M. leprae* mampu hidup selama 9 hari pada suhu 35,7°C dan kelembaban 77,6%. Dalam keadaan panas, pada tanah yang basah dapat bertahan hidup lebih dari 46 hari (Rees and Young, 1994). Penelitian tentang hubungan iklim dengan kusta di Inggris oleh Duncan (1994) dihasilkan bahwa pada suhu 24,4 dan 25,2 °C *M.leprae* bertahan hidup antara 7 dan 8 hari; pada suhu 23,8 dan 22,8 °C dapat hidup 5,3 dan 6,5 hari; pada suhu 22,6 dan 21,8 °C dapat hidup selama 4,2- 5 hari. Terlihat pada penelitian Duncan tersebut bahwa kemampuan bertahan hidup *M.leprae* terlama pada suhu 24,4 dan 25,2°C, hal ini dikaitkan dengan meningkatnya risiko paparan *M.leprae*. Peningkatan paparan tersebut ditandai dengan peningkatan prevalensi kusta. Sedangkan di Afrika yang masih ditemukan daerah-daerah dengan prevalensi kusta tinggi mempunyai suhu 23,9-29,4 °C. Dataran tinggi dan dataran rendah pada penelitian ini mempunyai suhu rata-rata yang relatif rendah yaitu masing-masing 24,5 dan 21 °C. Tetapi ternyata dari penelitian ini diketahui bahwa positifitas *M.leprae* pada rongga hidung antara dua daerah tidak berbeda. Sehingga disimpulkan bahwa dalam hal ini adanya peran lingkungan alam terhadap paparan *M.leprae* pada kedua daerah tersebut kecil kemungkinannya. Penelitian yang lebih mendalam diperlukan lagi mengingat bahwa faktor yang berpengaruh pada pola penularan *M.leprae* meliputi beberapa hal antara lain: sosial, ekonomi, budaya dan faktor lingkungan.

Satu sampel mempunyai nilai positif dengan pemeriksaan PCR, tetapi nilai serologinya 422 u/ml (seronegatif). Kemungkinan telah terjadi respon imun terhadap *M. leprae* yang masuk, tetapi kadar IgM anti PGL-I nya masih di bawah

nilai *cut of point* (605 u/ml). Sedangkan satu sampel mempunyai nilai positif pada pemeriksaan PCR, tetapi kadar IgM anti PGL-I nya nol. Adanya variasi imunologik pada kusta dapat dijelaskan dengan konsep imunopatogenesis kusta. Konsep ini berkaitan erat dengan aktivitas subset sel limfosit *T-helper* (T_h), yaitu T_{h1} dan T_{h2} . Aktifitas T_{h1} sangat diperlukan dalam penghancuran *M. leprae* di dalam sel makrofag, karena sitokin yang dibentuk akan mengaktifkan respon imun lewat jalur seluler. Sedangkan aktifitas T_{h2} akan menghasilkan peningkatan aktivitas humoral. Pada kasus kusta stadium subklinik dapat terjadi kelainan imunopatologik yang mirip dengan orang sehat/ seronegatif, dapat pula terjadi kelainan yang mendekati penderita kusta manifes tipe MB (Agusni, 1997).

BAB VII
PENUTUP

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Seropositifitas kusta pada anak-anak sekolah di dataran tinggi 2,6 kali lebih tinggi dari pada di dataran rendah.
2. Positifitas *M.leprae* dari hapusan hidung anak-anak sekolah di dataran rendah dan dataran tinggi tidak berbeda.

7.2 Saran

1. Sumber infeksi lain yang berasal dari penderita kusta perlu dicari lagi, mengingat kedua daerah yang diteliti merupakan kantong endemis. Oleh karena itu pula kewaspadaan yang tinggi sangat dianjurkan.
2. Penelitian lain untuk membandingkan seropositifitas kusta di desa lain dalam wilayah yang sama juga masih diperlukan.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH. 2005. Cellular and Molecular Immunity. Update Edition. 5th Ed. The Curtis Center, 170 Independence Mall W 300E, Philadelphia: Pennsylvania 19106, pp 349-355.
- Abe M, Ozawa T, Minagawa F, Yoshino Y. 1991. Immuno-epidemiological studies on subclinical infection in leprosy. *Nippon R Gakkai Zasshi* 60 : 72-84.
- Agusni I. 1997. Perubahan pola imunologik sebagai indikator untuk penanganan kusta subklinik: suatu studi observasional longitudinal untuk mendapatkan dasar kebijakan dalam penanganan kusta stadium subklinik. Disertasi, Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Agusni I. 1998. Perkembangan terbaru imunopatogenesis penyakit kusta. *MDVI* 25 (4): 32-38S.
- Agusni I. 2001. Aplikasi teknik polymerase chain reaction (PCR) pada penyakit kusta. *Berkala I.P. Kulit dan Kelamin* 13 (1) : 28-32.
- Agusni I. 2003. Penyakit kusta penyakit tua dengan segudang misteri. Pidato pengukuhan jabatan guru besar dalam bidang ilmu penyakit kulit dan kelamin pada fakultas kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, 19 April 2003.
- Amiruddin MD, Hakim Z, Darwis ER. 1994. Diagnosis penyakit kusta. Dalam: Djuanda A, Menaldi SL, Wisesa TW, Ashadi LN (Eds). *Kusta Diagnostik dan Penatalaksanaan*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hlm 1-15.
- Amiruddin MD, Noordeen C. 1995. *Mycobacterium leprae*. *Berkala IP. Kulit dan Kelamin* 7 (1) : 53-58.
- Amiruddin MD. 1998. Penyakit kusta. Dalam: Harahap, M. (Eds) *Ilmu Penyakit Kulit*. Jakarta: Hipokrates, hlm 260-271.
- Beers SM van, de Wit MYL, Klatser PR. 1996. The Epidemiology of *Mycobacterium leprae*. *Recent insight. FEMS Microbiol Lett* 36: 221-300.
- Beers SM van, Izumi S, Madjid B, et al. 1994. An epidemiological study of leprosy infection by serology and polymerase chain reaction. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 62: 1-9.
- Brennan PJ. 1986. The carbohydrate-containing antigens of *Mycobacterium leprae*. *Lep Rev* 57 (Suppl.2) : 39-51.

- Britton WJ, Lockwood DNJ. 2004. Leprosy. Seminar. *Lancet* 363 : 1209-19.
- Brown TA. 2002. *Human genomes*, 2nd Ed. New York, USA: John Wiley and Sons Inc, pp 119-123.
- Carlston MJ. 2001. *Mycobacterium leprae* genome sequence: A landmark achievement. *Lepr Rev* 72: 385-386.
- Chakrabarty AN, Dastidar BA. 2002. Is soil an alternative source of leprosy infection? *Acta Leprologica* 12: 79-84.
- Cree IA, Smith WC. 1998. Leprosy transmission and mucosal immunity: toward eradication? *Lepr.Rev* 69:112-121.
- Crowther RJ. 2001. *Methods in molecular biology. The ELISA Guidebook. The International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria: Human Press Inc, pp 2-15.*
- Daumerie D. 2002. Elimination of leprosy as a public health problem-current status and challenges ahead. In: Report of the scientific working group on leprosy, 2002. <http://www.who.int/lep/resources/SWG04> (diakses 4 Desember 2007).
- Day R. 2001. Leprosy control programme in Indonesia. Achievement and Problem. Lokakarya Penyakit Kusta. PIT PERDOSKI, Makassar, 2001.
- De Wit MYL, Douglas JT, McFadden J, et al. 1993. Polymerase chain reaction of *Mycobacterium leprae* in nasal swab specimens. *J Clin Microbiol* Maret 1993: 502-506.
- De Wit MYL, Feber WR, Krieg SR. 1991. Application of polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium leprae* in skin tissue. *J Clin Microbiol* 29 (5): 906-910.
- Departemen Kesehatan RI. 2006. P2M & PL & LITBANGKES. <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=2183&Itemid=> (diakses 29 Januari 2008).
- Departemen Kesehatan RI. 2004. Buku pedoman nasional pemberantasan penyakit kusta. Direktorat Jenderal PPM dan PL, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2002. Buku pedoman nasional pemberantasan penyakit kusta. Direktorat Jenderal PPM dan PL, Jakarta.
- Dinas Kesehatan Jawa Timur. 2006. Laporan kusta tahun 2006. Dinkes Jatim, Surabaya.

- Dinas Kesehatan Kabupaten Pacitan. 2006. Laporan kusta kabupaten Pacitan. Dinkes Kab Pacitan.
- Donoghue HD, Holton J, Spigelman M. 2000. PCR primers that can detect low levels of *Mycobacterium leprae* DNA. *J. Med. Microbiol* Vol 50: 177-182.
- Friedman GD. 1993. Prinsip-prinsip epidemiologi. Yogyakarta: Yayasan Essentia Medica, hlm 69-72.
- Godal T, Negassi K. 1973. Subclinical infection in leprosy. *Br Med J* 3 : 557-9.
- Harboe M. 1994. Overview of host-parasite relation. In: Hastings,RC. *Leprosy*. Edinburg: Churchil Livingstone, pp 87-112.
- Hartskeerl RA, de Wit, Klatser PR. 1989. Polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium leprae*. *International of General Microbiology* 135: 2357-2363.
- Hatta M, Van Beers SM, Madjid B, et al. 1995. Spatial distribution and persistence of *Mycobacterium leprae* nasal carriage among a population in which leprosy is endemic in Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 89 : 381-5.
- Hernani. 2002. Situasi penyakit kusta di Indonesia. Simposium Kusta. KONAS X PERDOSKI, Medan, 2002.
- Hunter SW, Brennan PJ. 1981. A novel phenolic glycolipid from *M.leprae* possibly involved in immunogenecity and pathogenecity. *J Bacteriol* 49 : 198-204.
- Internasional Leprosy Association (ILA). 2002. The global situation of leprosy control at the beginning of the 21st century. In: Report of Internasional Leprosy Association Technical Forum, Paris, 25-28 Pebruari 2002. <http://www.ilep.org.uk/documents/techforum.pdf> (diakses 14 Pebruari 2007).
- Iskandar F, Amiruddin MD, Maskur Z, dkk. 1998. Hubungan pemeriksaan bakteriologis dan pemeriksaan serologis pada penderita kusta. *Jurnal Medika Nusantara* 19 (1): 41-45.
- Izumi S, Fujiwara T, Ikeda M, et al. 1990. Novel gelatin particle agglutination test for serodiagnosis of leprosy in the field. *J Clin Microbiol* 28: 525-9.
- Izumi S, Hatta M, Kawatsu K, et al. 1995. Seroepidemiological study of *M. leprae* infection in inhabitants of leprosy endemic village in south Sulawesi, Indonesia. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 63: 650.

- Izumi S, Budiawan T, Saeki K, et al. 1999. An epidemiological study on *Mycobacterium leprae* infection and prevalence of leprosy in endemic villages by molecular biological technique. Symposium Paper. Indian J Lepr 7 (1).
- Izumi S, Matsuoka M, Saeki K, et al. 2002. An epidemiological study on *Mycobacterium leprae* and prevalence of leprosy. J Clin. Microbiol 32: 2430-2435.
- Joklik WK, Willett HP, Amos DB, et al. 1992. *Mycobacterium*. Medical Bacteriology. Zinsser Mycrobiology. 20th Ed. United State of America: Appleton and Lange, pp 497-522.
- Jones L, Moszer I, Cole ST. 2001. Leproma. A *Mycobacterium leprae* Genome Browser. Lepr Rev 72: 470-477.
- Kandouw JM. 2001. Histologi dan klasifikasi lepra. Pertemuan ilmiah tahunan (PIT) VI. Perhimpunan dokter spesialis kulit dan kelamin Indonesia dan lokakarya dermatopatologi kusta. Makasar.
- Kandouw JM. 1999. Hubungan tipe HLA dengan kerentanan tubuh pada penyakit lepra: Suatu pendekatan imunogenetik pada populasi etnik Bugis-Makasar. Disertasi, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Kandouw JM, Ammirudin MD. 1998. Phenolic glycolipid. Jurnal Medika Nusantara 19 (2): 194-199.
- Katoch VM. 2002. Mycobacterial research in India: Successes and Challengers. Indian J Med Microbial. 20(4) 171-173.
- Katoch VM, Sharma VP. 2000. Recent advances in the microbiology of leprosy. Indian Journal of Leprosy. 72 (3): 363-374
- Kattan JA, Velazquez EF, Mugica RM. 2006. The epidemiology and clinical presentation of leprosy in the pediatric population of Paraguay. http://www.ymtl.med.yale.edu/theses/available/etd-06282006-102552/unrestricted/Thesis_Jessica_Kattan (diakses 18 Januari 2008).
- Klatser PR, Hartskeerl RA, Schooten WCA Van. 1986. Characterization of 36 K antigen of *M. leprae*. Lepr Rev 57 (Suppl 2) 77: 81.
- Lilienfeld DE, Stolley PD. 1994. Foundations of epidemiology. 3rd Ed. Oxford, New York: Oxford University Pers, pp 106-125.
- Misra N, Ramesh V, Misra RS, et al. 1995. Clinical utility of LCR/A15 gene for *Mycobacterium leprae* detection in leprosy tissues using the polymerase chain reaction. International Journal Leprosy 63 (1): 35-41.

- Mudatsir. 2003. Mengubah lepro-fobia masyarakat terhadap lepra melalui rekayasa sosial. *Jurnal Wafa* 2 (1): 11-20.
- Mullis K. 2002. The polymerase chain reaction. http://www.escience.ws/b572/L3/L3_files (diakses 3 Januari 2008).
- Noordeen SK. 1994. The epidemiology of leprosy. In: Hasting RC. *Leprosy*. Edinburg: Churchil Livingstone, pp 29-43.
- Noordeen SK. 2003. Challenges with case detection and its validation. In: WHO Technical Advisory Group on Elimination of Leprosy (TAG), Yangon, 9 and 10 February 2003. http://www.whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CPE_CEE_003.36 (diakses 4 Desember 2007).
- Nuryanti L, Agusni I. 2002. Berbagai kemungkinan sumber penularan *M. leprae*. *Berkala I.P. Kulit dan Kelamin* 14 (3): 288-298.
- Plikaytis BB, Gelber RH, Shinnick TM. 1990. Rapid and sensitive detection of *Mycobacterium leprae* using a nested-primer gene amplification assay. *J Clin Microbiol* 28 (9): 1913-1937.
- Ramani WS, Gopalkrishnan N, Nair. 1990. Leprosy among school children in Trivandrum City. Original contribution. Year: 1990, Vol:56, Issue:4, Page: 286-288. <http://www.ijdv.com/article.asp?issn=0378-6323; year=1990; volume=56; issue=4; spage=286; epage=288; aulast=Wesley> (diakses 18 Januari 2008).
- Rees JW, Young DB. 1994. The microbiology of leprosy. In: Hasting RC. *Leprosy*. Edinburg : Churchill Livingstone, pp 29-43.
- Rao KN, Laksmi V, Saha K. 1986. Undernutrition in lepromatous leprosy, Part I, Is It Associated with Poverty or with Disease?. *Lepr Rev* (1986) 57:299-309.
- Sangupta U. 2000. Immunopathology of leprosy: Current status. *Indian Journal of Leprosy* 72 (3): 381-387.
- Santos A, De Miranda AB, Sarno EN, et al. 1994. Use of PCR mediated amplification of *Mycobacterium leprae* in different type of clinical samples for the diagnosis of leprosy. *Journal Medical Microbiology* 39: 298-304.
- Sastroasmoro S, Ismael S. 2002. *Dasar-dasar metodologi penelitian klinis*. Edisi ke-2. Jakarta: CV. Sagung Seto, hlm 70-76.
- Scollard DM, Adams LB, Gillis TP et al. 2006. The continuing challenges of leprosy. *Clinical Microbiology Reviews*, April 2006, p. 338-381, Vol. 19,

- No.20893-8512/06/\$08.00+0doi:10.1128/CMR.19.2.338-381.2006. [Http://www.cmr.asm.org/cgi/content.full.19/2/338.html](http://www.cmr.asm.org/cgi/content.full.19/2/338.html) (diakses 12 Juli 2007).
- Smith WC. 1996. Research needs related to disabilities and rehabilitation. *International Journal of Leprosy* 64 (4): 52-64.
- Smith WC. 2000. Consequences of leprosy and socio-economic rehabilitation. *Leprosy Review* 71: 417-419.
- Stefani, Mariane MA, Martelli, et al. 1998. Assessment of anti-PGL-I as a prognostic marker of leprosy reaction. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*, Sep 1998.
- Trautman JR. 1994. The history of leprosy. In: Hastings, RC. *Leprosy*. Edinburg: Churchill Livingstone, pp 11-23.
- Vyas GK, Dudani IU, Chaudhary RC. 1982. A sociological study leprosy cases in Gandhi Kusth Ashram, Jodhpur (Rajasthan). *Leprosy in India* 54 (2): 324-331
- Wichitwechkarn J, Karnjan S, Shuntawuttisette S, et al. 1996. Detection of *Mycobacterium leprae* Infection by PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 33 (1): 45-49.
- WHO Expert Committee on Leprosy. 1998. 7th Report (WHO Technical Report Series, No 874), Geneva.
- World Health Organisation. 2005. Global strategy for further reducing the leprosy burden and sustaining leprosy control activities, (Plan period: 2006-2010). WHO/CDS/CPE/CEE/2005. http://www.whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_CDS_CPE_CEE_2005.53 (diakses 13 Nopember 2007).
- Yulir Y, Widodo T. 2004. *Pengetahuan Sosial Geografi*. Penerbit Bumi Aksara, Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1.**LEMBAR PENGUMPUL DATA**

Nama	:	Usia	:	th
No Kode	:	Sex	:	L / P
Kelas: IV,V,VI	:	BB/TB	:	kg/ cm

Anamnesis :

Pemeriksaan fisik :

Penebalan syaraf

Lesi kulit

DIAGNOSIS :

Riwayat kontak : ada / tidak ada

Keterangan : Serumah/ tidak serumah, jarak m

Spesimen : Darah : PS

Nose Swab : PN

Lampiran 2.**LEMBAR PERSETUJUAN MENGIKUTI PENELITIAN
(INFORMED CONSENT)**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Umur : th (L/P)
 Alamat :

Bertindak atas nama seluruh orang tua murid dari sekolah
, kelas IV, V,
 dan VI. (daftar nama terlampir)

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

1. Kami bersedia/ tidak keberatan putra-putri kami ikut berpartisipasi dalam penelitian penyakit kulit (kusta), serta akan mengikuti semua prosedur penelitian.
2. Kami bersedia putra-putri kami mengikuti tindakan dalam penelitian ini berupa pemeriksaan fisik, pengambilan sampel dari rongga hidung dan darah sebanyak 1,5 ml melalui pembuluh darah vena sesuai dengan prosedur rutin pengambilan sampel untuk pemeriksaan laboratorium.
3. Setelah mempelajari tata cara penelitian dan mendengar penjelasan dari peneliti atau pihak lain yang diberi kewenangan, kami 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. Kami mengerti bahwa kami dapat membatalkan pernyataan ini dan dapat menarik diri dari penelitian ini setiap waktu.

Saksi

(.....)

Mengetahui,
 Kepala Puskesmas

(.....)

Pacitan,.....
 Yang membuat pernyataan,

(.....)

Penanggung jawab penelitian,

(.....)

Lampiran 3.

Reagen Untuk *Indirect* ELISA

Coating buffer (pH=9.6)	NaHCO ₃	2.93g
	Na ₂ CO ₃	1.59g
	NaN ₃	0.1g
	D.W.	up to 1000ml
10xPBS	Na ₂ HPO ₄	11.5g
	KH ₂ PO ₄	2.0g
	NaCl	80.0g
	KCl	2.0g
	D.W.	up to 1000ml
10xPBST	Na ₂ HPO ₄	11.5g
	KH ₂ PO ₄	2.0g
	NaCl	80.0g
	KCl	2.0g
	Tween20	5.0ml
	D.W.	up to 1000ml
10xPBST5	Na ₂ HPO ₄	11.5g
	KH ₂ PO ₄	2.0g
	NaCl	80.0g
	KCl	2.0g
	Tween20	50.0ml
	D.W.	up to 1000ml
PBS (pH=7.2)	10xPBS	100ml
	D.W.	900ml
PBST5/T (pH=7.2)	10xPBST5/T	50ml
	D.W.	450ml
Blocking Buffer (simpan 4°C)	Skimed milk	10.0g
	NaN ₃	1.0g
	PBS	up to 1000ml
Washing Buffer	10xPBST	100ml
	D.W.	900ml
Dilution buffer (dipakai dalam keadaan baru)	PBST5	50ml
	Skimed milk	0.5g
Citrate Phosphate Buffer (pH=5.0)	Citrate H ₂ O	5.1g
	Na ₂ HPO ₄	7.3g

OPD solution (simpan pada -20°C)	D.W. up to 1000ml	
	OPD	200mg
	Methanol	5ml
Stopping Solution	H ₂ SO ₄ pk	35ml
	D.W.	465ml
NT-P-BSA stock solution (simpan pada -20°C)	NT-P-BSA	5mg
	Coating Buffer	5.0ml
NT-P-BSA working solution	NT-P-BSA stock solution	100µl
	Coating Buffer	100ml
Substrate solution	Citrate-phosphate buffer	100ml
	OPD stock solution	1.0ml
	30% H ₂ O ₂	40µl

Lampiran 4.

Prosedur ekstraksi DNA dari spesimen hapusan hidung (Kit Qiagen)

Prosedur ekstraksi DNA dari Pelet sel dengan kit Qiagen *miniprep* :

- Pelet sel diresuspensi dengan menambahkan larutan P1 yang berisi enzim RNase sebanyak 250 μ l.
- Ditambahkan Bufer P2 sebanyak 250 μ l yang mengandung NaOH untuk memberi suasana Basa, lalu divortex perlahan hingga larutan berubah menjadi sedikit bening.
- Ditambahkan 350 μ l Bufer N3 berisi guanidine-HCl dan Asam asetat untuk menetralsir suasana Basa pada saat isolasi DNA terjadi, dan digoyang perlahan hingga terbentuk endapan putih.
- Disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan maksimum (13.000 rpm) dalam suhu ruangan.
- Supernatan yang berisi DNA sampel, dipindahkan dengan cara didekantasi ke dalam tabung steril khusus yang terdapat membran silika didalamnya, kemudian disentrifus 30-60 detik pada kecepatan maksimal.
- Filtrat dibuang, selanjutnya DNA yang terperangkap pada membran silika dalam tabung dicuci dengan bufer PB berisi guanidine-HCl dan isopropanol sebanyak 0,5 ml, disentrifus 30-60 detik pada kecepatan maksimal.
- Tabung berisi DNA dicuci kembali dengan 0.75 ml Bufer PE berisi etanol 70 % disentrifus 30-60 detik pada kecepatan maksimal. Filtrat dibuang untuk kemudian tabung disentrifus sekali lagi selama 60 detik untuk menghilangkan residu dari bufer pencuci.
- DNA yang telah dipresipitasi dilarutkan dengan *Distilled Water Sterile* sebanyak 30-50 μ l, diinkubasi selama 1 menit dan disentrifus selama 1 menit

No	Kode	JK	US	Tb	Bb	IMT	Sts gizi	No.Swab	Hsl Swab	No.Serum	Hsl Serum	
											IgM	N
1	Bangll-4-01	L	12	135	24	13.17	k	PN-001		PS-001	370	sn
2	Bangll-4-02	L	9	125	22	14.08	k	PN-002		PS-002	333	sn
3	Bangll-4-03	L	10	130	27	15.98	k	PN-003		PS-003	76	sn
4	Bangll-4-04	L	9	121	21	14.34	k	PN-004		PS-004	278	sn
5	Bangll-4-05	P	10	126	22	13.86	k	PN-005		PS-005	608	sp
6	Bangll-4-06	P	10	144	33	15.91	k	PN-006		PS-006	635	sp
7	Bangll-4-07	P	12	141	25	12.57	k	PN-007		PS-007	521	sn
8	Bangll-4-08	P	9	122	20	13.44	k	PN-008		PS-008	857	sp
9	Bangll-4-09	L	9	134	30	16.71	k	PN-009		PS-009	277	sn
10	Bangll-4-10	L	10	122	21	14.11	k	PN-010		PS-010	617	sp
11	Bangll-4-11	L	10	121	20	13.66	k	PN-011		PS-011	0	sn
12	Bangll-4-12	P	9	127	24	14.88	k	PN-012		PS-012	656	sp
13	Bangll-4-15	L	10	128	25	15.26	k	PN-013		PS-013	650	sp
14	Bangll-4-14	L	10	124	20	13.01	k	PN-014		PS-014	1052	sp
15	Bangll-4-13	P	10	124	21	13.66	k	PN-015		PS-015	752	sp
16	Bangll-4-16	P	9	123	23	15.20	k	PN-016		PS-016	1303	sp
17	Bangll-4-18	L	10	130	24	14.20	k	PN-017		PS-017	819	sp
18	Bangll-4-17	L	9	129	23	13.82	k	PN-018		PS-018	892	sp
19	Bangll-4-19	P	13	148	33	15.07	k	PN-019		PS-019	510	sn
20	Bangll-4-20	P	13	148	33	15.07	k	PN-020		PS-020	1568	sp
21	Bangll-5-01	P	10	135	28	15.36	k	PN-024		PS-021	270	sn
22	Bangll-4-21	L	11	133	24	13.57	k	PN-025		PS-022	177	sn
23	Bangll-5-02	L	11	137	28	14.92	k	PN-022		PS-023	1712	sp
24	Bangll-5-03	L	11	136	27	14.60	k	PN-021		PS-024	475	sn
25	Bangll-5-04	L	10	128	25	15.26	k	PN-023		PS-025	304	sn
26	Bangll-5-06	P	11	136	29	15.68	k	PN-027		PS-026	466	sn
27	Bangll-5-05	L	11	122	22	14.78	k	PN-026		PS-027	104	sn
28	Bangll-5-07	L	12	136	29	15.68	k	PN-028		PS-028	270	sn
29	Bangll-5-08	L	11	130	26	15.38	k	PN-029		PS-029	109	sn
30	Bangll-5-09	L	10	128	24	14.65	k	PN-030		PS-030	574	sn
31	Bangll-5-11	L	10	141	38	19.11	n	PN-035		PS-031	350	sn
32	Bangll-5-10	P	10	132	23	13.20	k	PN-033		PS-032	1614	sp
33	Bangll-5-12	P	10	127	21	13.02	k	PN-031		PS-033	393	sn
34	Bangll-5-13	L	11	124	22	14.31	k	PN-034		PS-034	417	sn
35	Bangll-5-15	L	11	138	28	14.70	k	PN-036		PS-035	1096	sp
36	Bangll-5-14	L	11	140	25	12.76	k	PN-032		PS-036	841	sp
37	Bangll-5-16	L	11	136	26	14.06	k	PN-038		PS-037	301	sn
38	Bangll-5-17	P	10	142	26	12.89	k	PN-037		PS-038	557	sn
39	Bangll-5-18	P	13	135	26	14.27	k	PN-039		PS-039	644	sp
40	Bangll-5-20	P	12	145	30	14.27	k	PN-041		PS-040	318	sn
41	Bangll-6-01	L	13	142	28	13.89	k	PN-040		PS-041	517	sn
42	Bangll-6-02	P	11	137	29	15.45	k	PN-043		PS-042	172	sn
43	Bangll-6-03	P	11	147	32	14.81	k	PN-044		PS-043	344	sn
44	Bangll-6-04	L	12	144	32	15.43	k	PN-042		PS-044	594	sn
45	Bangll-6-05	L	12	134	24	13.37	k	PN-045		PS-045	259	sn
46	Bangll-6-06	L	12	144	32	15.43	k	PN-046		PS-046	348	sn
47	Bangll-6-07	P	11	125	21	13.44	k	PN-047		PS-047	987	sp
48	Bangll-6-08	L	11	140	29	14.80	k	PN-048		PS-048	304	sn
49	Bangll-6-09	L	12	134	26	14.48	k	PN-049		PS-049	390	sn
50	Bangll-6-10	P	12	137	30	15.98	k	PN-050		PS-050	768	sp

51	Bangli-6-11	P	12	152	36	15.58	k	PN-051		PS-051	916	sp
52	Bangli-6-12	L	10	147	36	14.70	k	PN-052		PS-052	888	sn
53	Bangli-6-13	L	12	132	26	14.92	k	PN-053		PS-053	442	sn
54	Bangli-6-14	L	14	145	36	17.12	k	PN-054		PS-054	486	sn
55	Bangli-4-02	P	10	134	26	14.48	k	PN-056		PS-055	778	sp
56	Bangli-4-01	L	9	133	24	13.57	k	PN-055		PS-056	701	sp
57	Bangli-4-04	P	10	127	22	13.64	k	PN-058		PS-057	980	sp
58	Bangli-4-03	L	9	126	20	12.60	k	PN-057		PS-058	565	sn
59	Bangli-4-05	L	10	122	21	14.11	k	PN-059		PS-059	548	sn
60	Bangli-4-06	P	10	134	26	14.48	k	PN-060		PS-060	696	sp
61	Bangli-4-07	L	9	128	25	15.26	k	PN-061		PS-061	297	sn
62	Bangli-4-08	P	10	124	21	13.66	k	PN-062		PS-062	508	sn
63	Bangli-4-09	P	9	128	22	13.43	k	PN-063		PS-063	190	sn
64	Bangli-4-11	L	10	130	23	13.61	k	PN-065		PS-065	461	sn
65	Bangli-4-12	L	9	131	23	13.40	k	PN-066		PS-066	364	sn
66	Bangli-4-13	P	9	139	26	13.46	k	PN-067		PS-067	618	sp
67	Bangli-4-14	L	9	123	25	16.52	k	PN-068		PS-068	186	sn
68	Bangli-4-16	P	9	140	34	17.35	k	PN-070		PS-069	727	sp
69	Bangli-4-15	L	9	133	25	14.13	k	PN-069		PS-070	275	sn
70	Bangli-4-18	P	9	133	24	13.57	k	PN-072		PS-071	1220	sp
71	Bangli-4-20	P	9	126	24	15.12	k	PN-073		PS-072	400	sn
72	Bangli-4-17	P	10	124	20	13.01	k	PN-071		PS-073	403	sn
73	Bangli-4-19	P	10	143	25	12.23	k	PN-074		PS-074	585	sn
74	Bangli-4-22	L	10	130	23	13.61	k	PN-076		PS-075	603	sn
75	Bangli-4-21	L	9	124	19	12.36	k	PN-075		PS-077	335	sn
76	Bangli-5-02	L	12	148	31	14.15	k	PN-078		PS-078	718	sp
77	Bangli-5-03	L	11	145	34	16.17	k	PN-079		PS-079	705	sp
78	Bangli-5-05	P	11	129	25	15.02	k	PN-082		PS-080	849	sp
79	Bangli-5-04	L	11	134	28	15.59	k	PN-080		PS-081	1021	sp
80	Bangli-5-06	L	10	133	28	15.83	k	PN-081		PS-082	1096	sp
81	Bangli-5-08	L	11	135	29	15.91	k	PN-083		PS-083	496	sn
82	Bangli-5-09	P	10	142	34	16.86	k	PN-084		PS-084	727	sp
83	Bangli-5-10	L	10	132	24	13.77	k	PN-085		PS-085	1585	sp
84	Bangli-5-11	P	10	133	25	14.13	k	PN-086		PS-086	672	sp
85	Bangli-5-12	L	11	148	44	20.09	n	PN-087		PS-087	1196	sp
86	Bangli-5-14	L	11	125	24	15.36	k	PN-089		PS-088	1390	sp
87	Bangli-5-13	L	11	137	28	14.92	k	PN-088		PS-089	258	sn
88	Bangli-5-15	L	11	137	35	18.65	n	PN-090		PS-090	1037	sp
89	Bangli-5-16	L	10	135	25	13.72	k	PN-091		PS-091	423	sn
90	Bangli-5-17	P	10	139	26	13.46	k	PN-092		PS-092	339	sn
91	Bangli-5-18	L	11	141	34	17.10	k	PN-093		PS-093	28	sn
92	Bangli-5-19	P	10	132	31	17.79	k	PN-094		PS-094	0	sn
93	Bangli-5-20	L	10	137	28	14.92	k	PN-095		PS-095	76	sn
94	Bangli-5-21	L	11	125	24	15.36	k	PN-096		PS-096	340	sn
95	Bangli-5-23	L	10	135	28	15.36	k	PN-097		PS-097	597	sn
96	Bangli-6-01	L	12	148	40	18.26	k	PN-098		PS-098	1414	sp
97	Bangli-6-03	L	13	140	30	15.31	k	PN-100		PS-100	1339	sp
98	Bangli-6-05	P	12	153	37	15.81	k	PN-102		PS-101	381	sn
99	Bangli-6-07	P	12	146	34	15.95	k	PN-104		PS-103	902	sp
100	Bangli-6-06	L	11	144	36	17.36	k	PN-103		PS-104	1127	sp
101	Bangli-6-10	L	12	142	31	15.37	k	PN-109		PS-107	1827	sp
102	Bangli-6-11	P	12	140	33	16.84	k	PN-106		PS-108	1375	sp
103	Bangli-6-12	L	12	139	27	13.97	k	PN-107		PS-109	831	sp
104	Bangli-6-13	L	11	124	23	14.96	k	PN-108		PS-110	397	sn

105	Bangl-6-14	P	12	154	41	17.29	k	PN-111		PS-111	1225	sp
106	Bangl-6-15	P	11	138	27	14.18	k	PN-112		PS-112	748	sp
107	Bangl-6-17	P	12	138	27	14.18	k	PN-114		PS-113	1265	sp
108	Bangl-6-16	P	11	138	27	14.18	k	PN-113		PS-114	368	sn
109	Bangl-6-18	P	12	146	35	16.42	k	PN-116		PS-115	1425	sp
110	Bangl-6-19	L	11	139	28	14.49	k	PN-115		PS-116	292	sn
111	Bangl-6-20	P	11	141	31	15.59	k	PN-117		PS-117	1319	sp
112	Bangl-6-01	P	11	134	31	17.26	k	PN-118		PS-118	409	sn
113	Bangl-6-02	L	11	140	36	18.37	k	PN-119		PS-119	983	sp
114	Bangl-6-03	P	10	137	31	16.52	k	PN-120		PS-120	846	sp
115	Bangl-6-04	P	11	143	36	17.60	k	PN-121		PS-121	1191	sp
116	Bangl-6-05	L	11	139	31	16.04	k	PN-122	+	PS-122	422	sn
117	Bangl-6-06	L	10	123	26	17.19	k	PN-123		PS-123	809	sp
118	Bangl-6-08	P	9	123	25	16.52	k	PN-125		PS-124	453	sn
119	Bangl-6-07	P	10	132	30	17.22	k	PN-124		PS-125	334	sn
120	Bangl-6-09	L	9	126	25	15.75	k	PN-126		PS-126	592	sn
121	Bangl-6-10	L	10	129	28	16.83	k	PN-130		PS-127	1225	sp
122	Bangl-6-11	P	10	126	25	15.75	k	PN-127		PS-128	816	sp
123	Bangl-6-12	P	10	123	25	16.52	k	PN-128		PS-129	816	sp
124	Bangl-6-14	L	10	131	28	16.32	k	PN-131		PS-130	1051	sp
125	Bangl-6-13	P	10	130	28	16.57	k	PN-129		PS-131	398	sn
126	Bangl-6-16	L	10	131	26	15.15	k	PN-133		PS-132	849	sp
127	Bangl-6-15	L	10	129	33	19.83	n	PN-132	+	PS-133	698	sp
128	Bangl-6-18	L	10	123	23	15.20	k	PN-135		PS-134	761	sp
129	Bangl-6-17	L	10	123	22	14.54	k	PN-134	+	PS-135	628	sp
130	Bangl-6-19	L	10	125	28	17.92	k	PN-136		PS-136	680	sp
131	Bangl-6-21	L	10	119	23	16.24	k	PN-137		PS-137	1978	sp
132	Bangl-6-22	L	10	123	23	15.20	k	PN-139		PS-138	825	sp
133	Bangl-6-23	L	12	130	29	17.16	k	PN-138		PS-139	2064	sp
134	Bangl-6-02	P	10	125	23	14.72	k	PN-141		PS-140	418	sn
135	Bangl-6-01	L	11	154	45	18.97	n	PN-140		PS-141	822	sp
136	Bangl-6-03	L	10	126	25	15.75	k	PN-146		PS-142	2691	sp
137	Bangl-6-04	L	10	155	85	35.38	n	PN-147		PS-143	360	sn
138	Bangl-6-05	L	10	135	29	15.91	k	PN-148		PS-144	1085	sp
139	Bangl-6-06	P	10	136	35	18.92	n	PN-149		PS-145	1878	sp
140	Bangl-6-07	L	11	136	35	18.92	n	PN-150		PS-146	1137	sp
141	Bangl-6-08	L	11	133	30	16.96	k	PN-142	+	PS-147	666	sp
142	Bangl-6-09	P	11	143	30	14.67	k	PN-143		PS-148	1411	sp
143	Bangl-6-10	L	10	130	28	16.57	k	PN-144		PS-149	1168	sp
144	Bangl-6-12	P	11	131	28	16.32	k	PN-151	+	PS-150	855	sp
145	Bangl-6-11	P	12	146	51	23.93	n	PN-145		PS-151	375	sn
146	Bangl-6-13	L	10	137	44	23.44	n	PN-152		PS-152	1069	sp
147	Bangl-6-14	L	11	136	29	15.68	k	PN-153		PS-153	746	sp
148	Bangl-6-15	L	10	126	24	15.12	k	PN-154		PS-154	706	sp
149	Bangl-6-17	P	11	140	40	20.41	n	PN-156		PS-155	1411	sp
150	Bangl-6-16	L	10	139	29	15.01	k	PN-155		PS-156	1327	sp
151	Bangl-6-19	L	11	137	33	17.58	k	PN-158		PS-157	686	sp
152	Bangl-6-18	P	11	141	33	16.60	k	PN-157		PS-158	646	sp
153	Bangl-6-20	P	11	132	30	17.22	k	PN-159		PS-159	1019	sp
154	Bangl-6-21	L	11	133	30	16.96	k	PN-160		PS-160	1046	sp
155	Bangl-6-23	P	11	125	23	14.72	k	PN-162		PS-161	1579	sp
156	Bangl-6-22	P	10	142	34	16.86	k	PN-161		PS-162	1333	sp
157	Bangl-6-24	L	11	129	27	16.22	k	PN-163		PS-163	109	sn
158	Bangl-6-25	L	12	137	30	15.98	k	PN-164		PS-164	983	sp

159	BangIII-5-26	L	11	136	30	16.22	k	PN-165		PS-165	1136	sp
160	BangIII-5-27	L	11	101	20	10.02	k	PN-166		PS-166	000	sn
161	BangIII-5-28	L	11	127	27	16.74	k	PN-167		PS-167	717	sp
162	BangIII-5-29	P	10	131	28	16.32	k	PN-168		PS-168	1642	sp
163	BangIII-5-30	L	11	132	28	16.07	k	PN-169		PS-169	548	sn
164	BangIII-5-32	P	10	129	25	15.02	k	PN-170		PS-170	336	sn
165	BangIII-6-01	L	13	168	63	22.32	n	PN-171		PS-171	1090	sp
166	BangIII-6-02	P	13	158	53	21.23	n	PN-172		PS-172	2883	sp
167	BangIII-6-03	P	12	132	27	15.50	k	PN-173		PS-173	639	sp
168	BangIII-6-04	P	12	136	31	16.76	k	PN-174		PS-174	369	sn
169	BangIII-6-05	P	11	150	56	24.89	n	PN-175		PS-175	799	sp
170	BangIII-6-06	P	12	131	29	16.90	k	PN-176		PS-176	503	sn
171	BangIII-6-07	P	12	137	32	17.05	k	PN-177		PS-177	845	sp
172	BangIII-6-08	P	11	141	32	16.10	k	PN-178		PS-178	827	sp
173	BangIII-6-10	P	12	147	32	14.81	k	PN-180		PS-179	1030	sp
174	BangIII-6-09	P	11	141	32	16.10	k	PN-179		PS-180	405	sn
175	BangIII-6-11	L	12	145	41	19.50	n	PN-181		PS-181	1069	sp
176	BangIII-6-12	L	11	139	31	16.04	k	PN-182		PS-182	151	sn
177	BangIII-6-13	L	11	143	45	22.01	n	PN-183		PS-183	619	sp
178	BangIII-6-14	P	11	146	39	18.30	k	PN-184		PS-184	627	sp
179	BangIII-6-15	P	11	144	33	15.91	k	PN-185		PS-185	955	sp
180	BangIII-6-16	P	11	127	28	17.36	k	PN-186		PS-186	4118	sp
1	Cemni-4-01	L	10	145	39	18.55	n	PN-187		PS-187	827	sp
2	Cemni-4-02	L	10	133	30	16.96	k	PN-188		PS-188	320	sn
3	Cemni-4-03	P	9	139	34	17.60	k	PN-189		PS-189	1016	sp
4	Cemni-4-04	P	9	124	25	16.26	k	PN-190		PS-190	1061	sp
5	Cemni-4-05	L	9	123	21	13.88	k	PN-191	+	PS-191	722	sp
6	Cemni-4-06	L	9	122	26	17.47	k	PN-192		PS-192	722	sp
7	Cemni-4-07	P	9	133	26	14.70	k	PN-193		PS-193	669	sp
8	Cemni-4-08	P	9	117	19	13.88	k	PN-194		PS-194	342	sn
9	Cemni-4-09	P	9	132	26	14.92	k	PN-195		PS-195	1580	sp
10	Cemni-4-10	P	9	129	23	13.82	k	PN-196		PS-196	316	sn
11	Cemni-4-11	L	10	137	31	16.52	k	PN-197		PS-197	320	sn
12	Cemni-4-12	L	9	122	21	14.11	k	PN-198		PS-198	911	sp
13	Cemni-4-14	L	9	123	22	14.54	k	PN-199		PS-199	526	sn
14	Cemni-4-15	L	9	136	25	13.52	k	PN-200		PS-200	2195	sp
15	Cemni-4-16	P	9	130	26	15.38	k	PN-201		PS-201	1173	sp
16	Cemni-4-17	P	9	130	25	14.79	k	PN-202	+	PS-202	828	sp
17	Cemni-5-01	P	12	149	41	18.47	k	PN-203		PS-203	1068	sp
18	Cemni-5-02	P	12	144	38	18.33	k	PN-204		PS-204	891	sp
19	Cemni-5-03	L	10	131	28	16.32	k	PN-205		PS-205	375	sn
20	Cemni-5-04	L	10	137	31	16.52	k	PN-206		PS-206	406	sn
21	Cemni-5-05	P	11	136	47	25.41	l	PN-207		PS-207	485	sn
22	Cemni-5-06	P	11	134	30	16.71	k	PN-208		PS-208	444	sn
23	Cemni-5-07	P	9	131	28	16.32	k	PN-209		PS-209	820	sp
24	Cemni-5-08	P	10	136	28	15.14	k	PN-210		PS-210	1276	sp
25	Cemni-5-09	L	10	128	25	15.26	k	PN-211		PS-211	537	sn
26	Cemni-5-10	L	10	127	25	15.50	k	PN-212		PS-212	685	sp
27	Cemni-5-11	P	10	128	27	16.48	k	PN-213		PS-213	1026	sp
28	Cemni-5-12	L	10	140	38	19.39	n	PN-214		PS-214	1224	sp
29	Cemni-5-13	L	11	138	30	15.75	k	PN-215		PS-215	488	sn
30	Cemni-5-14	P	10	138	35	18.38	k	PN-216	+	PS-216	815	sp
31	Cemni-5-15	L	10	128	25	15.26	k	PN-217		PS-217	452	sn
32	Cemni-5-16	L	10	142	38	18.85	n	PN-218		PS-218	0	sn

33	Cemnl-5-17	L	11	136	31	16.76	k	PN-219		PS-219	489	sn
34	Cemnl-5-18	L	14	100	40	18.75	n	PN-220		PS-220	0	sn
35	Cemnl-6-02	P	12	137	29	15.45	k	PN-221		PS-221	404	sn
36	Cemnl-6-03	L	12	142	37	18.35	k	PN-222		PS-222	75	sn
37	Cemnl-6-04	L	12	138	30	15.75	k	PN-223		PS-223	5	sn
38	Cemnl-6-05	L	11	142	37	18.35	k	PN-224		PS-224	240	sn
39	Cemnl-6-06	L	12	138	30	15.75	k	PN-225		PS-225	0	sn
40	Cemnl-6-07	P	12	148	35	15.98	k	PN-226		PS-226	0	sn
41	Cemnl-6-09	L	11	132	27	15.50	k	PN-228		PS-227	318	sn
42	Cemnl-6-08	P	11	142	33	16.37	k	PN-227		PS-228	0	sn
43	Gendl-4-01	P	10	132	26.5	15.21	k	PN-229		PS-229	334	sn
44	Gendl-4-02	L	9	128	26	15.80	k	PN-230		PS-230	0	sn
45	Gendl-4-03	L	9	125	30	19.32	n	PN-231		PS-231	78	sn
46	Gendl-4-04	P	9	116	16.5	12.30	k	PN-232		PS-232	0	sn
47	Gendl-4-05	L	9	136	31	16.86	k	PN-233		PS-233	0	sn
48	Gendl-4-06	P	10	125	26	16.75	k	PN-234		PS-234	0	sn
49	Gendl-4-07	P	10	138	38	19.95	n	PN-235		PS-235	52	sn
50	Gendl-4-08	P	10	131	28	16.44	k	PN-236		PS-236	156	sn
51	Gendl-4-09	P	10	125	25	16.13	k	PN-237		PS-237	573	sn
52	Gendl-4-10	P	9	121	23	15.66	k	PN-238		PS-238	0	sn
53	Gendl-4-11	L	10	132	27	15.54	k	PN-239		PS-239	0	sn
54	Gendl-4-12	P	9	130	23.5	13.91	k	PN-240		PS-240	0	sn
55	Gendl-4-13	L	9	130	25	14.79	k	PN-241		PS-241	0	sn
56	Gendl-4-14	P	10	123	21	13.99	k	PN-242		PS-242	76	sn
57	Gendl-4-15	P	10	125	21.5	13.85	k	PN-243		PS-243	556	sn
58	Gendl-4-16	P	10	120	22	15.33	k	PN-244		PS-244	1424	sp
59	Gendl-4-17	P	10	138	33	17.45	k	PN-245		PS-245	118	sn
60	Gendl-4-18	P	10	122	20	13.55	k	PN-246		PS-246	749	sp
61	Gendl-4-19	L	9	134	27	15.04	k	PN-247		PS-247	47	sn
62	Gendl-4-20	L	9	121	23	15.71	k	PN-248		PS-248	27	sn
63	Gendl-4-21	L	9	129	24	14.33	k	PN-249	+	PS-249	0	sn
64	Gendl-4-22	P	9	136	29	15.61	k	PN-250		PS-250	554	sn
65	Gendl-4-23	P	9	139	30.5	15.76	k	PN-251		PS-251	2238	sp
66	Gendl-4-24	L	9	130	27	15.93	k	PN-252		PS-252	0	sn
67	Gendl-5-01	L	11	136	30.5	16.61	k	PN-253		PS-253	0	sn
68	Gendl-5-02	L	11	131	27	15.64	k	PN-254		PS-254	21	sn
69	Gendl-5-03	L	11	137	27.5	14.67	k	PN-255		PS-255	208	sn
70	Gendl-5-04	L	11	136	30.5	16.59	k	PN-256		PS-256	303	sn
71	Gendl-5-06	P	11	139	26	13.55	k	PN-257		PS-257	0	sn
72	Gendl-5-07	P	10	148	45	20.49	n	PN-258		PS-258	92	sn
73	Gendl-5-08	P	11	146	38	17.85	k	PN-259		PS-259	0	sn
74	Gendl-5-09	P	10	155	54	22.48	n	PN-260		PS-260	309	sn
75	Gendl-5-10	L	12	126	23	14.42	k	PN-261		PS-261	0	sn
76	Gendl-5-12	L	11	134	26.5	14.85	k	PN-263		PS-263	0	sn
77	Gendl-5-13	L	10	133	27	15.26	k	PN-264		PS-264	273	sn
78	Gendl-5-14	L	10	136	30.5	16.54	k	PN-265		PS-265	0	sn
79	Gendl-5-15	P	10	133	32.5	18.32	k	PN-266		PS-266	0	sn
80	Gendl-5-16	L	11	143	34	16.63	k	PN-270		PS-267	0	sn
81	Gendl-5-17	L	10	131	25	14.57	k	PN-269		PS-268	311	sn
82	Gendl-5-18	P	10	143	36.5	17.87	k	PN-267		PS-269	0	sn
83	Gendl-5-19	P	10	138	32.5	17.04	k	PN-268		PS-270	238	sn
84	Gendl-5-20	L	10	137	29	15.41	k	PN-271		PS-271	6	sn
85	Gendl-5-21	P	11	140	31	15.86	k	PN-272		PS-272	191	sn
86	Gendl-5-22	P	11	141	30	15.20	k	PN-273		PS-273	261	sn

87	Gendl-5-23	P	10	140	35	17.88	k	PN-274		PS-274	17	sn
88	Gendl-6-01	L	14	151	41.5	18.10	k	PN-275		PS-275	101	sn
89	Gendl-6-02	L	14	148	43	19.53	n	PN-276		PS-276	33	sn
90	Gendl-6-04	P	12	159	44	17.40	k	PN-278		PS-277	57	sn
91	Gendl-6-03	L	12	145	38	18.15	k	PN-277		PS-278	0	sn
92	Gendl-6-05	P	13	148	47.5	21.69	n	PN-279		PS-279	11	sn
93	Gendl-6-06	L	13	154	38	16.11	k	PN-280		PS-280	38	sn
94	Gendl-6-07	L	11	144	33	15.91	k	PN-281		PS-281	497	sn
95	Gendl-6-08	L	12	139	33	17.08	k	PN-282		PS-282	65	sn
96	Gendl-6-09	L	11	140	30	15.37	k	PN-283		PS-283	73	sn
97	Gendl-6-10	L	12	137	26	13.79	k	PN-284		PS-284	75	sn
98	Gendl-6-12	P	12	152	41.5	17.96	k	PN-285		PS-285	312	sn
99	Gendl-6-13	L	11	144	36	17.48	k	PN-286		PS-286	0	sn
100	Gendl-6-14	P	12	140	31	15.75	k	PN-287		PS-287	0	sn
101	Gendl-6-15	P	11	138	29	15.18	k	PN-288		PS-288	0	sn
102	Gendl-6-16	P	11	142	34	16.96	k	PN-291		PS-289	31	sn
103	Gendl-6-17	P	11	148	39.5	18.11	k	PN-289		PS-290	5048	sp
104	Gendl-6-20	L	11	144	39	18.89	n	PN-293		PS-293	157	sn
105	Gendl-6-21	L	11	138	30.5	15.92	k	PN-294		PS-294	191	sn
106	Gendl-6-22	P	11	142	35	17.31	k	PN-295		PS-295	466	sn
107	Gendl-6-23	P	12	136	30	16.27	k	PN-296		PS-296	203	sn
108	Gendl-6-24	P	11	144	35	16.95	k	PN-297		PS-297	359	sn
109	Gendl-6-25	P	11	153	53	22.67	n	PN-298		PS-298	0	sn
110	Gendl-6-26	L	12	145	41	19.39	n	PN-299		PS-299	157	sn
111	Gendl-6-27	P	13	144	38.5	18.46	k	PN-300		PS-300	118	sn
112	Gendl-6-28	P	12	129	27	16.20	k	PN-301		PS-301	228	sn

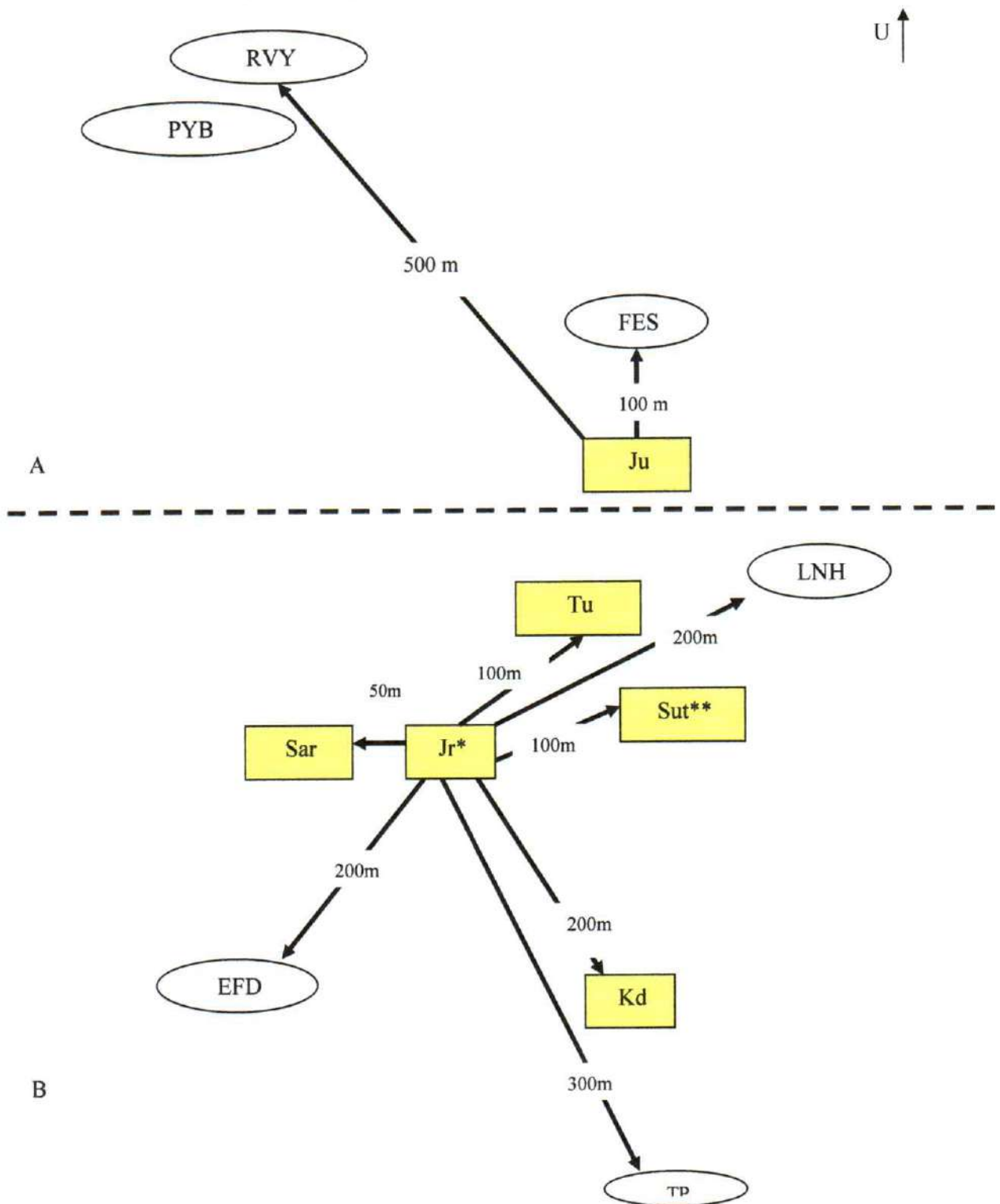
Keterangan:

- No : Nomor Urut sampel
 Kode : Kode sampel
 JK : Jenis Kelamin (L: laki-laki; P: perempuan)
 US : Usia (tahun)
 Tb : Tinggi badan (cm)
 Bb : Berat badan (kg)
 IMT : Indeks Massa Tubuh
 Sts gizi : Status gizi (k: kurang; n:normal; l:lebih)
 No Swab : Nomor Spesimen hapusan hidung
 Hsl Swab : Hasil pemeriksaan PCR (Positif: (+); Negatif : tanpa tanda)
 No Serum : Nomor spesimen serum
 Hsl Serum : Hasil pemeriksaan serologi (IgM: kadar IgM; N: nilai seropositif (sp), nilai seronegatif (sn))

Lampiran 6

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Skema Lokasi tempat tinggal siswa yang mempunyai riwayat kontak



Keterangan: kotak warna kuning: penderita kusta; lingkaran putih: siswa yang mempunyai riwayat kontak dengan lokasi tempat tinggal maksimal 500m. A. Desa Donorojo, terdapat 3 siswa yang tinggal di sekitar penderita kusta. B. Desa Jeruk, terdapat 3 siswa yang tinggal di sekitar penderita; * 2 siswa kontak serumah (FF & NF); ** 1 siswa kontak serumah (NFH)

Lampiran 7

Hasil analisis Chi Square pemeriksaan serologi kusta di dataran rendah dan dataran tinggi

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Lokasi sampel * Pemeriksaan serologi	292	100.0%	0	.0%	292	100.0%

Lokasi sampel * Pemeriksaan serologi Crosstabulation

		Pemeriksaan serologi		Total	
		seropositif	seronegatif		
Lokasi sampel	dataran rendah	Count	23	89	112
		Expected Count	47.9	64.1	112.0
	dataran tinggi	Count	102	78	180
		Expected Count	77.1	102.9	180.0
Total		Count	125	167	292
		Expected Count	125.0	167.0	292.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	36.813 ^b	1	.000		
Continuity Correction ^a	35.352	1	.000		
Likelihood Ratio	38.679	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
N of Valid Cases	292				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 47.95.

Lampiran 8.

Hasil analisis Chi Square pemeriksaan PCR di dataran rendah dan dataran tinggi

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Lokasi sampel * Hasil pemeriksaan PCR	292	100.0%	0	.0%	292	100.0%

Lokasi sampel * Hasil pemeriksaan PCR Crosstabulation

			Hasil pemeriksaan PCR		Total
			positif	negatif	
Lokasi sampel	dataran rendah	Count	4	108	112
		Expected Count	3.5	108.5	112.0
	dataran tinggi	Count	5	175	180
		Expected Count	5.5	174.5	180.0
Total		Count	9	283	292
		Expected Count	9.0	283.0	292.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.146 ^b	1	.703		
Continuity Correction ^a	.001	1	.973		
Likelihood Ratio	.143	1	.705		
Fisher's Exact Test				.736	.476
N of Valid Cases	292				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.45.

Lampiran 9.

Hasil analisis hubungan (asosiasi) antara seropositifitas kusta dengan jenis kelamin siswa di dataran rendah (desa Donorojo) menggunakan uji Chi square

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jenis Kelamin dataran rendah * Hasil Serologi	112	100.0%	0	.0%	112	100.0%

Jenis Kelamin dataran rendah * Hasil Serologi Crosstabulation

			Hasil Serologi		Total
			Seropositif	Seronegatif	
Jenis Kelamin dataran rendah	Laki-laki	Count	7	48	55
		Expected Count	11.3	43.7	55.0
	Perempuan	Count	16	41	57
		Expected Count	11.7	45.3	57.0
Total		Count	23	89	112
		Expected Count	23.0	89.0	112.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4.038 ^b	1	.044		
Continuity Correction ^a	3.152	1	.076		
Likelihood Ratio	4.133	1	.042		
Fisher's Exact Test				.061	.037
N of Valid Cases	112				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 11.29.

Lampiran 10.

Hasil analisis hubungan (asosiasi) antara seropositifitas kusta dengan jenis kelamin siswa di dataran tinggi (desa Jeruk) menggunakan uji Chi Square

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jenis Kelamin dataran tinggi * Hasil serologi	180	100.0%	0	.0%	180	100.0%

Jenis Kelamin dataran tinggi * Hasil serologi Crosstabulation

			Hasil serologi		Total
			Seropositif	Seronegatif	
Jenis Kelamin dataran tinggi	Laki-laki	Count	52	50	102
		Expected Count	57.8	44.2	102.0
	Perempuan	Count	50	28	78
		Expected Count	44.2	33.8	78.0
Total		Count	102	78	180
		Expected Count	102.0	78.0	180.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.099 ^b	1	.078		
Continuity Correction ^a	2.588	1	.108		
Likelihood Ratio	3.120	1	.077		
Fisher's Exact Test				.095	.054
N of Valid Cases	180				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 33.80.

Lampiran 11.

Hasil analisis hubungan (asosiasi) antara positifitas *M.leprae* dari hapusan hidung dengan jenis kelamin di dataran rendah (desa Donorojo) menggunakan uji Chi Square

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jenis Kelamin * Hasil PCR dataran rendah	112	100.0%	0	.0%	112	100.0%

Jenis Kelamin * Hasil PCR dataran rendah Crosstabulation

			Hasil PCR dataran rendah		Total
			positif	negatif	
Jenis Kelamin	laki-laki	Count	2	53	55
		Expected Count	2.0	53.0	55.0
	perempuan	Count	2	55	57
		Expected Count	2.0	55.0	57.0
Total		Count	4	108	112
		Expected Count	4.0	108.0	112.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.001 ^b	1	.971		
Continuity Correction ^a	.000	1	1.000		
Likelihood Ratio	.001	1	.971		
Fisher's Exact Test				1.000	.677
N of Valid Cases	112				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.96.

Lampiran 12.

Hasil analisis hubungan (asosiasi) antara positifitas *M.leprae* dari hapusan hidung dengan jenis kelamin di dataran tinggi (desa Jeruk) dengan uji Chi Square

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jenis kelamin * Hasil PCR dataran tinggi	180	100.0%	0	.0%	180	100.0%

Jenis kelamin * Hasil PCR dataran tinggi Crosstabulation

			Hasil PCR dataran tinggi		Total
			positif	negatif	
Jenis kelamin	laki-laki	Count	4	98	102
		Expected Count	2.8	99.2	102.0
	perempuan	Count	1	77	78
		Expected Count	2.2	75.8	78.0
Total		Count	5	175	180
		Expected Count	5.0	175.0	180.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.140 ^b	1	.286		
Continuity Correction ^a	.372	1	.542		
Likelihood Ratio	1.244	1	.265		
Fisher's Exact Test				.390	.279
N of Valid Cases	180				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.17.

Lampiran 13

Hasil PCR Positif

No	Kode	JK	US	Tb	Bb	IMT	Sts gizi	No.Swab	Hsl Swab	No.Serum	Hsl Serum	
											IgM	N
1	BangIII-4-05	L	11	139	31	16.04	k	PN-122	+	PS-122	422	sn
2	BangIII-4-15	L	10	129	33	19.83	n	PN-132	+	PS-133	698	sp
3	BangIII-4-17	L	10	123	22	14.54	k	PN-134	+	PS-135	628	sp
4	BangIII-5-08	L	11	133	30	16.96	k	PN-142	+	PS-147	666	sp
5	BangIII-5-12	P	11	131	28	16.32	k	PN-151	+	PS-150	855	sp
1	Cemnl-4-05	L	9	123	21	13.88	k	PN-191	+	PS-191	722	sp
2	Cemnl-4-17	P	9	130	25	14.79	k	PN-202	+	PS-202	828	sp
3	Cemnl-5-14	P	10	138	35	18.38	k	PN-216	+	PS-216	815	sp
4	Gendl-4-21	L	9	129.4	24	14.33	k	PN-249	+	PS-249	0	sn

Keterangan:

No : Nomor Urut sampel

Kode : Kode sampel

JK : Jenis Kelamin (L: laki-laki; P: perempuan)

US : Usia (tahun)

Tb : Tinggi badan (cm)

Bb : Berat badan (kg)

IMT : Indeks Massa Tubuh

Sts gizi : Status gizi (k: kurang; n:normal; l:lebih)

No Swab : Nomor Spesimen hapusan hidung

Hsl Swab : Hasil pemeriksaan PCR (Positif: (+); Negatif : tanpa tanda)

No Serum : Nomor spesimen serum

Hsl Serum : Hasil pemeriksaan serologi (IgM: kadar IgM; N: nilai seropositif (sp), nilai seronegatif (sn))