

TESIS

**DETEKSI DNA *Mycobacterium leprae* PADA SUMBER AIR
PENDUDUK DI DAERAH ENDEMIK KUSTA**

STUDI EPIDEMIOLOGI MOLEKULER DI KABUPATEN SUMENEP



TUT 00 00
for
of

DINAR ADRIATY

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**

TESIS

**DETEKSI DNA *Mycobacterium leprae* PADA SUMBER AIR
PENDUDUK DI DAERAH ENDEMIK KUSTA**

STUDI EPIDEMIOLOGI MOLEKULER DI KABUPATEN SUMENEP

**DINAR ADRIATY
NIM 090310648L**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**

**DETEKSI DNA *Mycobacterium leprae* PADA SUMBER AIR
PENDUDUK DI DAERAH ENDEMIK KUSTA**

STUDI EPIDEMIOLOGI MOLEKULER DI KABUPATEN SUMENEP

TESIS

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

**Oleh :
Dinar Adriaty
NIM 090310648L**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

Tanggal 10 Desember 2005

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL.....

Oleh :

Pembimbing Ketua

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

Pembimbing

Dr. Kuntaman dr., MS., SpMK
NIP. 130 783 547

Mengetahui,
KPS Ilmu Kedokteran Tropis

Dr. Kuntaman dr., MS., SpMK
NIP. 130 783 547

PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS

Telah diuji pada
Tanggal.....
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Indropo Agusni, dr., SpKK(K)

- Anggota :
1. Dr. Kuntaman, dr., MS., SpMK
 2. Prof. Kuntoro, dr., PhD
 3. Prof. Dr. Harijanto Notopuro, dr.
 4. Lindawati Alimsardjono, dr., MKes

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Puji dan syukur yang tak terhingga saya panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah berkenan melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis ini dengan sebaik-baiknya. Tesis ini merupakan bagian akhir dari seluruh rangkaian kegiatan pendidikan Magister Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis, Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati yang paling dalam saya menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

Prof. Dr. Indropo Agusni, dr., SpKK(K), sebagai pembimbing ketua sekaligus sebagai Ketua Kelompok Studi Kusta di TDC Unair, yang telah penuh perhatian memberikan dorongan, arahan, masukan dan bimbingan sejak penulisan proposal hingga akhir penulisan tesis ini, disamping itu beliau juga telah memberikan kesempatan seluas-luasnya kepada saya untuk dapat melakukan penelitian di laboratorium kusta TDC Unair.

Dr. Kuntaman, dr., MS., SpMK, sebagai pembimbing yang juga telah membimbing, mendukung, memberikan semangat dan motivasi sehingga saya dapat menyelesaikan tesis dengan sebaik-baiknya.

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Med Puruhito, dr dan Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan pada saya untuk dapat mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister ini.

Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., Msc, selaku pimpinan Tropical Disease Center yang telah memberikan ijin, doa restu dan kesempatan seluas-luasnya kepada saya untuk dapat mengikuti pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Shinzo Izumi, MD., PhD, sebagai konsultan JICA Silver Expert sekaligus sebagai pembimbing, dan panutan yang dengan ikhlas dan sabar mendukung secara moril materil dan membantu semua aktifitas saya dalam proses analisa sampel serta mengajarkan bagaimana seorang peneliti senantiasa jujur, disiplin dan tidak boleh cepat berputus asa jika sedang menghadapi kesulitan di dalam penelitian.

Bupati Sumenep dan Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Sumenep atas ijin, dukungan, bantuan dan kerjasamanya kepada saya untuk melakukan penelitian di wilayah Kabupaten Sumenep hingga penelitian ini selesai.

Hj. Erliyati, dr. selaku kepala puskesmas Talango beserta para petugas kusta di puskesmas kecamatan Talango atas dukungan, bantuan dan kerjasamanya sehingga peneliti dapat melakukan penelitian dan pengambilan sampel sebaik-baiknya.

Sdr. Imamul Muttaqin, SKM, selaku kolega yang telah ikut membantu, bekerjasama terhadap pelaksanaan penelitian dan pengambilan di kabupaten kusta sehingga dapat berjalan lancar.

Drs. Mudatsir, MKes; Iswahyudi, SKM; Ratna Wahyuni, S.Si yang telah memberikan bantuan, ide-ide dan kesempatan sebesar-besarnya kepada saya hingga proses analisa sampel dapat berjalan lancar.

Seluruh pengajar program studi ilmu kedokteran tropis yang telah meluangkan waktu untuk transfer ilmu pengetahuan di sela-sela kesibukan.

Seluruh warga Pulau Talango terutama aparat desa setempat dan warga yang berkenan mengizinkan dan membantu pelaksanaan pengambilan sampel sehingga mempermudah proses penelitian.

Semua teman-teman seangkatan ilmu kedokteran tropis yang senantiasa membantu, mengingatkan, mendukung segala aktifitas pendidikan program magister ini.

Saudara-saudara saya, suami saya M. Subchan S, S.Sos dan keluarga besar saya tercinta yang dengan sabar telah memberikan doa restu hingga akhirnya saya dapat menyelesaikan pendidikan Magister ini.

Pada kesempatan ini tidak lupa saya menyampaikan rasa hormat dan bangga serta terima kasih yang sebesar besarnya kepada ibu saya tercinta, Ibu Moedjajana yang telah senantiasa dengan penuh kasih sayang dan kesabaran, membesarkan, mendidik dan medoakan dengan tak henti-hentinya, juga doa saya dari lubuk hati terdalam untuk ayah tercinta, Bapak Imam Soepii (Alm) yang telah memberikan inspirasi, tauladan dan motivasi kepada saya sehingga tercapai semua yang dicita-citakan, semoga Allah membalas amal baik beliau.

Seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu namun tanpa bantuan mereka. penelitian ini tidak akan berjalan dengan baik.

Akhirul kalam, izinkan saya menyampaikan permohonan maaf yang sebesar-besarnya atas segala sesuatu yang kurang berkenan selama saya menempuh pendidikan Magister ini. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunia-Nya bagi kita semua. Amin

Surabaya, Desember 2005

Penulis

RINGKASAN

Deteksi DNA *Mycobacterium leprae* Pada Sumber Air Penduduk di Daerah Endemik Kusta**Studi Epidemiologi Molekuler di Kabupaten Sumenep**

Dinar Adriaty

Sejak tahun 1993 WHO telah mencanangkan program “*Elimination of Leprosy by year 2000*”, dimana seluruh negara di dunia harus menurunkan prevalensi kusta di bawah 1 per 10.000, bertujuan agar kusta tidak lagi menjadi masalah kesehatan. Pada dasarnya, program yang dicanangkan oleh WHO telah berhasil sesuai target, tetapi di beberapa negara berkembang, termasuk Indonesia penyakit kusta masih menjadi masalah kesehatan. Saat ini meskipun angka yang dicapai Indonesia adalah 0,84 per 10.000 penduduk, namun tidak semua wilayah di Indonesia bisa mencapai angka tersebut. Masalah kusta di Indonesia, menurut disebabkan karena beberapa propinsi di Indonesia masih terdapat daerah endemis (daerah kantong) penyakit kusta yang ternyata adalah daerah sulit dijangkau dan terpencil, menyebar terutama di beberapa kawasan Indonesia Timur sehingga mempersulit penanggulangan.

Hingga pertengahan tahun 2004, angka prevalensi kusta di Propinsi Jawa Timur sebesar 1,39 per 10.000 penduduk yang menyebar pada 38 kabupaten/kota dengan jumlah penderita terdaftar sebanyak 4298 penderita. Dari seluruh kabupaten/kota tersebut Kabupaten Sampang menduduki urutan pertama prevalensi kusta yaitu 6,41, kemudian diikuti Sumenep 6,29, Pamekasan 4,01, Lamongan 3,94 dan Tuban 3,54 per 10.000 penduduk. Kabupaten Sumenep merupakan salah satu daerah endemik kusta yang masih memiliki daerah kantong dengan angka prevalensi yang sangat tinggi. Kecamatan Talango adalah salah satu daerah kantong endemik kusta dengan angka prevalensi kusta sebesar 23,6 per 10.000 penduduk. Kecamatan Talango memiliki jumlah penduduk sebesar 39.479 tersebar di 8 desa, dimana 5 dari 8 desa di kecamatan tersebut memiliki angka prevalensi diatas 20 per 10.000 penduduk.

Selama dekade terakhir pemberantasan kusta di Jawa Timur pada umumnya telah berhasil menurunkan prevalensi kusta, namun insidens kusta baru tetap bertahan terutama di daerah endemis (daerah kantong) walaupun kasus aktif sebagai sumber infeksi telah diobati. Hal ini mungkin disebabkan antara lain karena : adanya *backlog case* yakni adanya kasus yang tidak terdeteksi dan tidak mendapat terapi, adanya infeksi subklinis yang tidak terdeteksi pada populasi, dan kemungkinan adanya sumber penularan / reservoir di luar manusia, yang menyebabkan kontrol, eliminasi dan eradikasi kusta pada manusia menjadi sulit. Dari berbagai penelitian epidemiologi, timbul kecurigaan bahwa banyak individu yang terinfeksi basil kusta tanpa adanya sumber penularan yang jelas atau tidak

ditemukannya penderita kusta yang menjadi sumber penularan, terjadi antara lain disebabkan oleh penularan secara tidak langsung yakni melalui lingkungan hidup.

Pada dasawarsa terakhir, ilmu biologi molekuler telah dipergunakan untuk mendeteksi basil *M. leprae*, diantaranya adalah dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Deteksi *M. leprae* dengan PCR pertama kali dipergunakan dan dikembangkan oleh Klatser untuk mendeteksi adanya basil kusta dari spesimen biopsi penderita kusta hingga kini berkembang berbagai metode terapan PCR. PCR merupakan suatu cara *in vitro* untuk memperbanyak DNA suatu organisme dengan menggunakan enzim polimerase yang diarahkan oleh potongan urutan DNA yang spesifik bagi DNA organisme tersebut. 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*.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa kejadian positif DNA *M. leprae* dari sumber air yang dipakai penduduk di daerah endemis kusta, deteksi tersebut memakai metode PCR yang menggunakan primer Lp1, Lp2, Lp3, Lp4 dimana primer tersebut menyandi daerah 18 kDa antigen *M. leprae* regio RLEP *repetitive sequence*. Dari hasil PCR yang dilakukan terhadap 34 sampel air sumur di desa Kombang didapatkan 13 sampel positif mengandung DNA *M. leprae* (38%) dan dari 35 sampel air sumur di desa Gapurana didapatkan 6 sampel positif mengandung DNA *M. leprae* (17%). Uji *Chi-Square* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kedua daerah tersebut dalam insiden positifitas PCR pada air sumur yang digunakan penduduk $p < 0,05$ ($p = 0,045$). Hasil penelitian lebih lanjut dari sampel air sumur di desa Kombang dan Gapurana menunjukkan bahwa PCR positif terbanyak berasal dari sumur yang tidak ada penderita. Hal ini menunjukkan bahwa adanya *M. leprae* di dalam sumber air penduduk tidak tergantung ada tidaknya penderita kusta di daerah tsb dan juga tidak tergantung tipe kusta dari pengguna sumber air tsb. Tampaknya *M. leprae* memang dapat bertahan hidup di alam lingkungan sumber air tsb.

SUMMARY

Detection *Mycobacterium leprae* DNA from Water Resource in Endemic Leprosy Areas**Molecular Epidemiology Study in Kabupaten Sumenep**

Dinar Adriaty

Since WHO (World Health Organization) proclaimed “*Elimination of Leprosy by year 2000*” in 1993, the global prevalence of leprosy has declined significantly in the last 10 years. However, this decline does not correspond to a reduction of the new leprosy cases in the world. This condition has also remained the same in Indonesia. After following the MDT (Multi Drug Therapy) treatment program, the prevalence rate in Indonesia has reduced into 0,84 per 10.000 inhabitants. In contrast to the prevalence rates, the detection rate (CDR) of leprosy, have remained unchanged over the last 10 years, this caused leprosy is still one of health problem in Indonesia. The most important unsolved problems in epidemiology of leprosy are the highly uneven geographic distribution of the disease. There are many hyper endemic “pocket” areas in some endemic countries, spreading in several provinces especially in the east of Indonesia.

East Java province is the one of many provinces which has some pockets areas of hyper endemic leprosy. Until in the middle of 2004, prevalence rate in East Java province still 1,39 per 10.000 inhabitants distribute to 38 districts with 4298 registered cases. From whole districts in East Java Province, Sampang has the highest prevalence rate (6,41), followed by Sumenep (6,29), Pamekasan (4,01), Lamongan (3,94) and Tuban (3,54) per 10.000 inhabitants. Sumenep is one of endemic areas which have many hyper endemic areas especially in the islands region that still isolated from outsider. One of them is Talango Island that has 39.479 inhabitants living in 8 villages with prevalence of leprosy is 24,1 per 10.000 inhabitants.

According to the theory, these major problems in leprosy might be caused to: backlog cases, sub clinical leprosy among the healthy people and probably due to the existence of non human reservoir in the environment of endemic leprosy areas. Some environmental factors are suspected to be an important role in *M.leprae* infection and transmission of the disease other than patients. However, there a considerable number of epidemiological and microbiological observations lead us to explore the real fact on this matter happen in those endemic places in East Java.

In order to better understand the role of *M. leprae* transmission among endemic leprosy areas, a molecular biology method called Polymerase Chain Reaction (PCR) was performed. This method can detect a 99-bp fragment of the 18 kDa antigen *M.leprae* RLEP *repetitive sequence*. This technique has specific and sensitive for DNA *M.leprae*, so it can be reliable to investigate the DNA *M.leprae* in specimens such as skin slit smear, biopsy tissue or from the environment.

From PCR detection with expected lengths were compared a comparative study on the incidence of *M. leprae* in the water between two villages that represented highly endemic leprosy area and lower endemic leprosy area is conducted. The result shows that 13 out of 34 water samples from highly endemic leprosy area positive. Lower endemic leprosy area has 6 positive PCR out of 35 water samples. The correlation between the presence of DNA *M.leprae* in the water and prevalence of leprosy in two villages was showed that there was statistically highly significant $p<0,05$ ($p=0,045$).

Analysis data using Chi-square also shows that there was no statistically significant difference between the number of patients who used the water and positive PCR DNA *M.leprae* from water samples. Another result shows that there was no statistically significant difference between the type of leprosy and positive PCR of DNA *M.leprae*.

All the information shows that possible epidemiological roles of the bacilli in the environment influence to transmission of leprosy in endemic leprosy area. Although the results seems strongly suggest water as a probable source of infection, more investigation still need to explain the existence of live bacilli and how can they infect to human. However, this information has benefit in order to show that the leprosy eradication program which is still ongoing, such as early detection of *M.leprae*, prevention, promotion among the inhabitants in endemic leprosy area and it must be continuously conducted by public health official.

ABSTRACT

**Detection *Mycobacterium leprae* DNA from Water Resource in
Endemic Leprosy Areas**

Molecular Epidemiology Study in Kabupaten Sumenep

Dinar Adriaty

One of the most important unsolved questions in epidemiology of leprosy is the highly uneven geographic distribution of the disease. There are many hyper endemic “pocket” in endemic countries. Little is known about the reason why leprosy is still hyper endemic in these areas.

Some environmental factors were suspected to be an important role in *M.leprae* infection and transmission of the disease other than patients. However, there is considerable number of epidemiological and microbiological observations leads us to explore the real happened in those endemic places in East Java.

The aim of this research is analyzing statistically using Chi-square, correlation between the presence of DNA *M.leprae* in the water and prevalence of leprosy in two villages. Water is being taken from well in highly endemic leprosy area and lower endemic leprosy area in Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep; a small island which has prevalence rate more than 20 per 10.000. All PCR products has expected length about 99bp come from region 18 kDa antigen *M.leprae* RLEP repetitive sequence using primers Lp1, Lp2, Lp3, Lp4 recommended by Donoghue et.al. The result shows that 13 out of 34 water samples from highly endemic leprosy area positive. Lower endemic leprosy area has 6 positive PCR out of 35 water samples. The correlation between the presence of DNA *M.leprae* in the water and prevalence of leprosy in two villages was showed that there was statistically highly significant $p < 0,05$ ($p = 0,045$).

Keywords: *Mycobacterium leprae*, DNA, water, endemic leprosy

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia Penguji.....	v
Ucapan terima kasih.....	vi
Ringkasan.....	viii
Summary	x
Abstract.....	xii
Daftar isi	xiii
Daftar gambar	xvi
Daftar tabel	xvii
Daftar lampiran.....	xviii
Daftar singkatan.....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.3.1 Tujuan umum.....	8
1.3.2 Tujuan khusus.....	8
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.4.1 Manfaat keilmuan.....	8
1.4.2 Manfaat terapan.....	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Penyakit Kusta.....	10
2.1.1 Definisi.....	10
2.1.2 Sejarah.....	10
2.1.3 Epidemiologi.....	11
2.2 Faktor Risiko Terjadi Insidens Kusta.....	20
2.3 <i>Mycobacterium leprae</i>	21
2.3.1 Taksonomi.....	21
2.3.2 Morfologi.....	21
2.3.3 Sifat pertumbuhan	23
2.4 Perjalanan Klinis.....	25
2.5 Respon Imun.....	26
2.5.1 Respon imun alami.....	26
2.5.2 Respon imun dapatan.....	27
2.6 Gejala Klinis.....	29
2.6.1 Klasifikasi.....	30
2.6.2. Diagnosis.....	32
2.6.3 Pengobatan.....	32

2.7 Deteksi <i>Mycobacterium leprae</i>	34
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN...	38
3.1 Kerangka Konseptual.....	38
3.2 Hipotesis.....	42
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	43
4.1 Rancangan Penelitian.....	43
4.2 Materi Penelitian.....	43
4.3 Teknik Pengambilan Sampel.....	43
4.3.1 Kriteria inklusi.....	43
4.3.2 Kriteria eksklusi.....	44
4.3.3 Alur penelitian.....	44
4.4 Variabel dan Definisi Operasional.....	44
4.4.1 Variabel penelitian.....	44
4.4.2 Definisi operasional.....	45
4.5 Bahan Penelitian.....	46
4.5.1 Bahan untuk pengambilan sampel air	46
4.5.2 Bahan untuk pengecatan BTA <i>Ziehl Nielsen</i>	46
4.5.3 Bahan untuk ekstraksi DNA dan PCR sampel air.....	46
4.6 Instrumen Penelitian.....	47
4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	47
4.6.1 Lokasi penelitian.....	47
4.6.2 Waktu penelitian.....	47
4.8 Prosedur dan Pengambilan Data.....	48
4.8.1 Prosedur pengambilan sampel air.....	48
4.8.2 Pengecatan <i>Ziehl Neelsen</i>	48
4.8.3 Pemeriksaan dengan metode PCR.....	49
4.8.3.1 Prosedur amplifikasi DNA.....	49
4.8.4 Pengumpulan data.....	50
4.8.5 Cara analisa data.....	51
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN.....	52
5.1 Data Penelitian.....	
5.1.1 Gambaran umum lokasi penelitian.....	52
5.1.2 Hasil deteksi basil <i>M.leprae</i> dengan pemeriksaan BTA dan PCR dari sampel air desa Gapurana dan desa Kombang.....	56
5.2 Analisis dan Hasil Penelitian.....	58
BAB 6 PEMBAHASAN.....	62
6.1 Gambaran umum.....	62
6.2 Hasil deteksi DNA <i>M.leprae</i> dengan PCR dari Sampel Air	63
6.3 Peran Faktor Lingkungan Terhadap Alur Penularan <i>M.leprae</i> di Daerah Endemis Kusta.....	65
BAB 7 PENUTUP.....	67
7.1 Kesimpulan.....	67

7.2 Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN.....	76



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Distribusi penyakit kusta di dunia 1996-1997.....	11
Gambar 2.2 Situasi kusta di Indonesia tahun 1990-2001.....	13
Gambar 2.3 Situasi kusta di Jawa Timur tahun 1995-2004.....	14
Gambar 2.4 Transmisi penularan kusta dan faktor risiko terjadi insidens kusta	21
Gambar 2.5 Perjalanan klinis penyakit kusta.....	25
Gambar 2.6 Tahapan proses <i>Polymerase Chain Reaction</i>	35
Gambar 3.1 Kerangka konseptual.....	41
Gambar 5.1 Peta Pulau Talango.....	52
Gambar 5.2 Lokasi Sumur di Kecamatan Talango.....	54
Gambar 5.3 Tempat Mandi Umum di Kecamatan Talango.....	55
Gambar 5.4 Basil Tahan Asam yang dideteksi dengan pewarnaan ZN.....	56
Gambar 5.5 Hasil deteksi basil <i>M.leprae</i> dengan teknik PCR dari sampel air sumur Desa Kombang.....	57

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Gambaran penyakit kusta di Kecamatan Talango s/d 2004	15
Tabel 2.2 Mikobakteria di lingkungan.....	19
Tabel 4.1 Sampel Air Kecamatan Talango.....	50
Tabel 4.2 Hasil pemeriksaan PCR dan BTA dari sampel air di daerah endemik kusta	51
Tabel 5.1 Prevalensi Penderita Kusta per Desa se Kecamatan Talango per Desember 2004.....	53
Tabel 5.2 Angka Prevalensi dan CDR Kusta per 10.000 penduduk di Kecamatan Talango Tahun 1999-2004.....	53
Tabel 5.3 Hasil Deteksi basil <i>M.leprae</i> dengan PCR dari Sampel Air desa Kombang dan desa Gapurana.....	58
Tabel 5.4 Hasil Deteksi basil <i>M.leprae</i> dengan teknik PCR menurut data karakteristik Sumur.....	59
Tabel 5.5 Hasil Deteksi basil <i>M.leprae</i> dengan teknik PCR pada sampel air menurut tipe kusta dari penderita yang mengkonsumsi air sumur..	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Penjelasan dan Informasi Penelitian.....	76
Lampiran 2	Data Sampel Air Talango.....	77
Lampiran 3	Hasil uji statistik <i>Chi-square</i> Kejadian PCR Positif antara sampel air di daerah prevalensi kusta tinggi dan prevalensi kusta rendah.....	79
Lampiran 4	Hasil uji statistik <i>Chi-square</i> dan <i>Fisher's Exact Test</i> PCR Positif dengan jumlah penderita kusta yang memakai air sumur.....	80
Lampiran 5	Hasil uji statistik <i>Chi-square</i> dan <i>Fisher's Exact Test</i> PCR Positif dengan tipe kusta dari penderita yang memakai air sumur.....	81

DAFTAR SINGKATAN



BTA	: Basil Tahan Asam
ZN	: Ziehl Neelsen
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
PCR	: Polymerase Chain Reaction
MB	: Multibasilar
PB	: Pausibasilar
WHO	: World Health Organization
<i>M.leprae</i>	: <i>Mycobacterium leprae</i>
MDT	: Multi Drug Therapy
PR	: Prevalence Rate
CDR	: Case Detection Rate
HCl	: Hydrochloric Acid
KCl	: Kalium Klorida
MgCl	: Magnesium Klorida
dNTP	: Deoxynucleotida Triphosphate
PDAM	: Perusahaan Daerah Air Minum
PBST	: Physiologic buffered saline-Tween 20

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kusta (lepra, *Morbus Hansen*) adalah suatu penyakit menular yang bersifat kronis. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium leprae* yang menyerang saraf tepi, selanjutnya dapat menyerang kulit, mukosa mulut, saluran nafas atas, sistim retikulo endothelial, mata, otot, tulang dan testis (Job, 1994). Penyakit ini dapat menimbulkan kecacatan pada tubuh penderita serta menimbulkan masalah psikososial akibat masih adanya stigma buruk tentang penyakit ini di masyarakat.

Sejak tahun 1993 WHO telah mencanangkan program “*Elimination of Leprosy by year 2000*”, dimana seluruh negara di dunia harus menurunkan prevalensi kusta di bawah 1 per 10.000, bertujuan agar kusta tidak lagi menjadi masalah kesehatan (WHO, 1993). Program Pengobatan dengan *Multi Drug Therapy* (MDT) yang telah dimulai sejak tahun 1990, telah menurunkan jumlah keseluruhan penderita kusta di seluruh dunia dari 5,4 juta orang yang terdaftar (dari estimasi total 10-12 juta) ditahun 1985, menjadi tinggal 770.000 orang (dari estimasi total 1,6 juta) di tahun 2000 (WHO, 2000).

Pada dasarnya, program yang dicanangkan oleh WHO telah berhasil sesuai target, tetapi di beberapa negara berkembang, termasuk Indonesia penyakit kusta masih menjadi masalah kesehatan. Pada tahun 1997, Badan Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa Indonesia masih menduduki peringkat ke tiga



di dunia setelah India dan Brazil, dengan jumlah penderita kusta terdaftar sebanyak 33.739 orang, *Prevalensi Rate* (PR) 1,7 per 10.000 penduduk dan *Case Detection Rate* (CDR) 7,5 per 10.000 penduduk. Lima tahun kemudian peringkat ini turun menjadi menjadi nomor 4 dunia setelah India, Brazil dan Nepal dengan jumlah penderita kusta terdaftar sebanyak 17.250 orang, PR 0,8/10.000 dan CDR 0,62/10.000 (Hernani, 2002).

Indonesia sejak Juni tahun 2000 secara nasional sebenarnya telah mencanangkan Eliminasi Kusta, yang artinya secara nasional angka kejadian kusta atau prevalensi kusta diusahakan agar dapat mencapai target prevalensi kusta di bawah 1 per 10.000 penduduk. Ketika itu angka yang dicapai adalah 0,84 per 10.000 penduduk, namun tidak semua wilayah di Indonesia bisa mencapai angka tersebut. Masalah kusta di Indonesia, menurut Depkes (2001) disebabkan karena beberapa propinsi di Indonesia masih terdapat daerah endemis (daerah kantong) penyakit kusta yang ternyata adalah daerah sulit dijangkau dan terpencil, menyebar terutama di beberapa kawasan Indonesia Timur sehingga mempersulit penanggulangan (Hernani, 2002).

Propinsi Jawa Timur sendiri menempati urutan ke 8 setelah Irian Jaya, Maluku, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Nanggroe Aceh Darussalam, Kalimantan Tengah dan Sulawesi Utara sebagai daerah endemik kusta. Hingga pertengahan tahun 2004, angka prevalensi kusta di Propinsi Jawa Timur sebesar 1,39 per 10.000 penduduk yang menyebar pada 38 kabupaten/kota dengan jumlah penderita terdaftar sebanyak 4298 penderita. Dari seluruh kabupaten/kota tersebut Kabupaten Sampang menduduki urutan pertama prevalensi kusta yaitu 6,41,

kemudian diikuti Sumenep 6,29, Pamekasan 4,01, Lamongan 3,94 dan Tuban 3,54 per 10.000 penduduk (Dinkes Jatim, 2004). Kabupaten Sumenep merupakan salah satu daerah endemik kusta yang masih memiliki daerah kantong dengan angka prevalensi yang sangat tinggi. Kecamatan Talango adalah salah satu daerah kantong endemik kusta dengan angka prevalensi kusta sebesar 23,6 per 10.000 penduduk. Kecamatan Talango memiliki jumlah penduduk sebesar 39.479 tersebar di 8 desa, dimana 5 dari 8 desa di kecamatan tersebut memiliki angka prevalensi diatas 20 per 10.000 penduduk (Dinkes Sumenep, 2004).

Selama dekade terakhir pemberantasan kusta di Jawa Timur pada umumnya telah berhasil menurunkan prevalensi kusta, namun insidens kusta baru tetap bertahan terutama di daerah endemis (daerah kantong) walaupun kasus aktif sebagai sumber infeksi telah diobati. Basil *M. leprae* bersifat obligat intraseluler (hanya bisa hidup di dalam sel lain), dengan demikian pengobatan anti kusta menggunakan regimen MDT yang mengandung bakterisidal terhadap *M. leprae* seharusnya dapat memutuskan rantai penularan. Kondisi ini mungkin disebabkan antara lain karena:

1. Adanya *backlog case*, yakni adanya kasus yang tidak terdeteksi dan tidak mendapat terapi.
2. Adanya infeksi subklinis yang tidak terdeteksi pada populasi.
3. Kemungkinan adanya sumber penularan *reservoir* di luar manusia, yang menyebabkan kontrol, eliminasi dan eradikasi kusta pada manusia menjadi sulit (Noordeen, 1994).

Masalah *back log case* selalu terjadi pada masa tahap awal program pemberantasan kusta, namun jumlah ini biasanya akan semakin berkurang dengan bertambah lamanya program pemberantasan kusta berjalan. Dari fakta yang ada terlihat bahwa jumlah penderita kusta baru tetap tidak berkurang dalam sepuluh tahun terakhir dan fenomena ini berlangsung hingga saat ini di semua daerah endemik kusta di Indonesia maupun di seluruh dunia. Hal ini bukan berarti program tidak berjalan dengan baik namun dapat pula karena kemungkinan kedua yakni fenomena kasus kusta sub klinik (Agusni, 2003).

Sejak tahun 1990, para ahli kusta telah mengetahui adanya kusta sub klinis, yakni individu berbadan sehat tanpa terlihat adanya gejala kusta, namun memberikan hasil uji serologi yang positif. Meskipun demikian, tidak semua penduduk akan terkena penyakit kusta karena adanya kekebalan alamiah terhadap basil kusta. Dalam tahapan sub klinis terdapat dua kemungkinan, infeksi dapat berkembang menjadi infeksi klinis atau dapat sembuh dengan sendirinya (*self healing*) dan tidak berkembang menjadi infeksi klinis, namun beberapa jurnal menyebutkan bahwa tahapan sub klinis juga dapat menjadi sumber penularan yang penting disamping kasus aktif karena pada tahapan ini ternyata mampu mengeluarkan sekresi basil dari nasal yang bersifat *transient/ sementara* (Cree and Smith, 1998).

Sumber penularan basil kusta dapat terjadi melalui kontak langsung dengan sumber infeksi (manusia), dapat pula melalui jalur tidak langsung yaitu melalui lingkungan (Cree and Smith, 1998). Sumber penularan *M.leprae* yang

utama adalah dari penderita kusta tipe MB terutama pada penderita kusta tipe lepromatosa yang sangat infeksius dan belum diobati (Noordeen, 1994).

Dari berbagai penelitian epidemiologi, timbul kecurigaan bahwa banyak individu yang terinfeksi basil kusta tanpa adanya sumber penularan yang jelas atau tidak ditemukannya penderita kusta yang menjadi sumber penularan, terjadi antara lain disebabkan oleh penularan secara tidak langsung (Agusni, 2003; Desikan and Sreevatsa, 1995). Pendapat bahwa penularan dapat terjadi secara tidak langsung melalui lingkungan diperkuat dengan fakta-fakta, salah satunya adalah bahwa di Amerika telah ditemukan hewan Armadillo liar yang mengidap kusta dan mengandung *M. leprae* dalam tubuhnya. Basil kusta juga telah ditemukan pada berbagai hewan seperti monyet dan tikus (Blake *et al.*, 1987; Mayer *et al.*, 1992).

Berawal dari fakta ditemukannya basil *M.leprae* pada tubuh hewan, berkembang penelitian untuk mencari transmisi penularan kusta di luar manusia (dari lingkungan). Penelitian tersebut antara lain: Dari penelitian Chakrabarty, dkk (2001) dilaporkan bahwa *M.leprae* dari percikan ludah penderita bisa bertahan hidup di tanah sampai 40 hari. Chakrabarty dan Dastidar (2002) juga melaporkan adanya korelasi antara peta penyebaran kusta secara geografis dengan peta kondisi geografis tanah yang mengandung *fossil-fuels*, baik di Amerika maupun India. Kazda, *et.al* (1987) melaporkan ditemukannya *M.leprae* dari tanah di daerah endemik kusta di Bombay, India. Leslie, *et.al* (1987) menemukan salah satu sampel tanah di daerah endemik kusta yang diuji dengan Antibodi monoklonal

yang spesifik terhadap Antigen PGL-I, yakni antigen dari *M.leprae* dan hasilnya adalah positif.

Secara teoritis basil *M.leprae* mampu hidup lebih dari 7 hari di luar *host*, di dalam *secret* hidung yang kering, pada keadaan yang gelap dengan temperatur dan kelembaban yang bervariasi (Cree and Smith, 1998). Davey and Young (1974) menyebutkan bahwa *M.leprae* mampu hidup selama 7 hari pada temperatur 20,6°C dan kelembaban 43,7% (Rees and Young, 1994). Desikan (1977) menyebutkan bahwa *M.leprae* mampu hidup selama 9 hari pada temperatur 35,7°C dan kelembaban 77,6%. Pada keadaan panas, pada tanah yang basah, *M.leprae* mampu hidup selama lebih dari 46 hari (Desikan and Sreevatsa 1995, Ramu 1981). Adanya berbagai penemuan tersebut, cukup beralasan untuk mencurigai faktor lingkungan hidup di daerah endemik kusta sebagai media transmisi penularan basil *M.leprae*.

Hingga saat ini *M.leprae* belum dapat dibiakkan dalam media buatan secara *in vitro*. Fakta tersebut menyebabkan sulitnya penelitian terhadap penyakit ini. Penelitian *M.leprae* secara mikrobiologis selama ini hanya dapat dilakukan secara *in vivo* melalui pengembangan bermacam model hewan coba (Rees and Young, 1994).

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

yang sering dilakukan adalah pengecatan Basil Tahan Asam (BTA) dengan menggunakan pewarna *Ziehl Nielsen*. Dengan pulasan *Ziehl Nielsen* basil ini dapat terlihat soliter, bergerombol, atau berbentuk globus. Globus ini dibatasi oleh membran dan berisi 50-100 basil *M.leprae*. Globus ini tersusun paralel menyerupai bundel sigaret (Rees and Young, 1994; Amiruddin, *et.al.*, 1994). Pemeriksaan BTA bersifat tidak spesifik dalam mendeteksi basil *M.leprae*, karena juga dapat memberikan hasil positif dengan mikobakteria lain.

Pada dasawarsa terakhir, ilmu biologi molekuler telah dipergunakan untuk mendeteksi basil *M.leprae*, diantaranya adalah dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Deteksi *M.leprae* dengan PCR pertama kali dipergunakan dan dikembangkan oleh Klatser (1989). PCR merupakan suatu cara *in vitro* untuk memperbanyak DNA suatu organisme dengan menggunakan enzim polimerase yang diarahkan oleh potongan urutan DNA yang spesifik bagi DNA organisme tersebut (Brown, 2002).

Potongan gen yang dapat diamplifikasi dan spesifik terhadap basil *M.leprae* bisa bermacam-macam, seperti daerah 18kDa, 36 kDa, 65 kDa yang merupakan protein penyusun dinding sel basil *M.leprae* (Katoch and Sharma, 2000). Melalui berbagai penelitian, pemeriksaan dengan PCR ternyata memberikan hasil yang cukup sensitif yakni dapat mendeteksi 1-100 kuman (Santos *et al.*, 1997).

1.2 Rumusan Masalah

Adakah perbedaan kejadian DNA basil *Mycobacterium leprae* positif, dari sumber air di lingkungan daerah endemik kusta yang memiliki angka *prevalensi rate* tinggi dengan yang memiliki angka *prevalensi rate* rendah ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Menganalisis kejadian positif DNA *M.leprae* dari sumber air yang dipakai penduduk di daerah endemis kusta.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Mendeteksi kejadian positif DNA *M.leprae* dari sumber air di daerah endemik kusta prevalensi tinggi dengan prevalensi rendah dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
2. Menganalisis perbedaan kejadian PCR positif dari sumber air di daerah endemik kusta prevalensi tinggi dengan daerah endemik prevalensi rendah.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat keilmuan

Penelitian ini diharapkan mampu menyumbangkan ilmu pengetahuan tentang :

- a. Proses transmisi penularan kusta secara tidak langsung yakni melalui lingkungan.
- b. Kemampuan teknologi biomolekuler untuk mendeteksi secara sensitif dan spesifik basil kusta dalam lingkungan.

1.4.2 Manfaat terapan

Penelitian ini dapat dijadikan salah satu pertimbangan baru strategi program pemberantasan penyakit kusta di masa mendatang yakni perbaikan higiene lingkungan dan pengadaan air bersih.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Kusta

2.1.1 Definisi

Penyakit kusta (lepra, *Morbus Hansen*) adalah penyakit infeksi menahun yang disebabkan oleh oleh kuman *Mycobacteria leprae*, yang primer menyerang saraf tepi, selanjutnya menyerang kulit dan berbagai organ lainnya. Penyakit ini biasa mengakibatkan kecacatan tubuh bila segera tidak diobati dan menimbulkan masalah psikososial akibat adanya stigma atau predikat buruk dari penyakit dalam pandangan masyarakat (WHO, 1998).

2.1.2 Sejarah

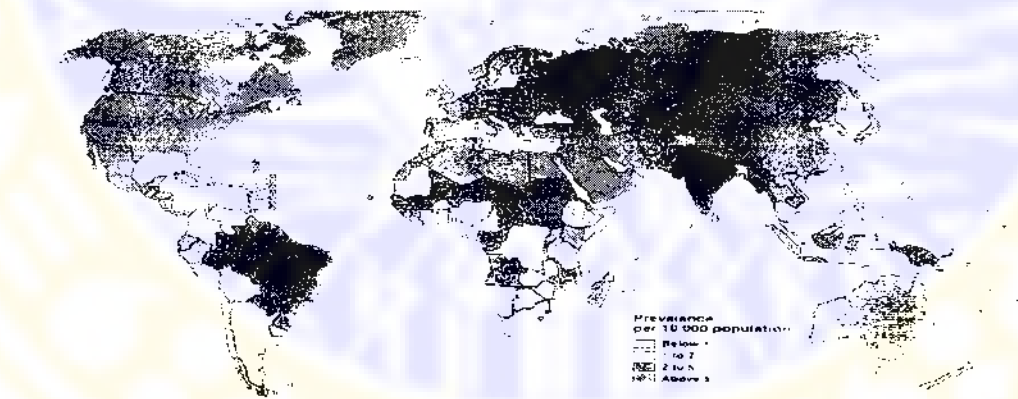
Penyakit kusta adalah penyakit yang setua peradaban manusia, karena telah lama diketahui dan ditulis dalam kitab-kitab kuno. Kata kusta berasal dari bahasa Sansekerta yang terdapat dalam kitab Veda (tahun 1400 SM) yaitu *kusttha* yang berarti merusak (Hasibuan, 1994). Kitab *Sushrat Samhita* di zaman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

Perjanjian Baru, yang merupakan terjemahan dari istilah *zaraath* dari bahasa Ibrani kuno yang tercantum dalam Kitab Perjanjian Lama (Trautman, 1994).

Penyakit kusta masuk ke Indonesia, diduga terbawa oleh orang-orang Cina dan India ke pulau Jawa. Pada tahun 1927 di Platungan dekat Semarang berdiri Leprosaria pertama di Indonesia dan selanjutnya pada tahun 1928 usaha pemberantasan penyakit kusta telah mulai dirintis oleh Dr. J.B Sitanala (Depkes RI, 1986).

2.1.3 Epidemiologi

Kusta tersebar di seluruh dunia terutama di daerah tropis dan sub tropis terutama di benua Afrika, Asia dan Amerika latin. Jumlah penderita kusta di dunia diperkirakan sekitar 12 juta dengan prevalensi 1,33 per 10.000 penduduk dengan jumlah penderita terbanyak adalah India (WHO, 2000).



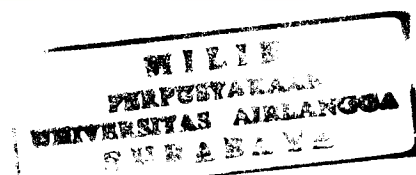
Gambar 2.1. Distribusi penyakit kusta di dunia tahun 1996-1997 (WHO, 2000)

Sejak tahun 1993 WHO telah mencanangkan program "*Elimination of Leprosy by year 2000*", dimana seluruh negara di dunia harus menurunkan

prevalensi kusta di bawah 1 per 10.000 penduduk agar kusta tidak lagi menjadi masalah kesehatan (WHO, 1993). Dengan Program Pengobatan *Multi Drug Therapy* (MDT) yang telah dimulai sejak tahun 1990, jumlah keseluruhan penderita kusta di seluruh dunia telah berkurang secara dramatik dari 5,4 juta orang yang terdaftar (dari estimasi total 10-12 juta) ditahun 1985, menjadi tinggal 770.000 orang (dari estimasi total 1,6 juta) di tahun 2000 (WHO, 2000).

Program Eliminasi Kusta tahun 2000 tersebut memang bisa dicapai oleh beberapa negara. Pada tahun 1997, Badan Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa Indonesia menduduki peringkat ke tiga di dunia 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 menjadi nomor 4 dunia dengan jumlah penderita kusta sebesar 17.250 orang, PR 0,8/10.000 dan CDR 0,62/10.00 (Hernani, 2002).

Angka prevalensi kusta di Indonesia pada tahun 2000 secara umum telah mengalami penurunan sesuai standar WHO yakni 0,84/10.000 penduduk, namun tidak semua wilayah Indonesia dapat mencapai angka tersebut. Tercatat masih ada 12 kabupaten di 9 propinsi di Indonesia yang angka prevalensinya di atas target eliminasi (Day, 2001). Masalah kusta di Indonesia, menurut Depkes (2001) disebabkan karena beberapa propinsi di Indonesia masih terdapat daerah endemis kusta yang ternyata adalah daerah sulit dijangkau dan terpencil, menyebar terutama di beberapa kawasan Indonesia Timur sehingga mempersulit penanggulangan (Hernani, 2002).



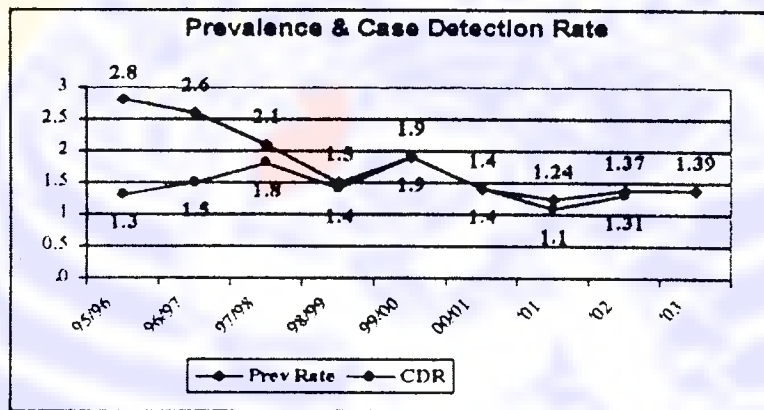
Penyebaran penyakit ini di Indonesia tidak merata, sebagian besar kasus ditemukan di Indonesia Bagian Timur disertai adanya kantong-kantong endemik dengan prevalensi cukup tinggi (Depkes RI, 1992; Agusni, 1997). Lebih lanjut Kandouw (1999) menyatakan bahwa Sulawesi Selatan merupakan salah satu daerah endemik penyakit ini dengan angka prevelansi mencapai 3,26 per 10.000 penduduk. Di Indonesia Bagian Barat angka prevalensi tidak terlalu tinggi, seperti DKI Jakarta 0,87 per 10.000 penduduk atau Sumatera Utara hanya 0,29 per 10.000 penduduk (Depkes RI, 1999). Kondisi perkembangan penyakit kusta secara umum di Indonesia dapat dilihat melalui grafik berikut.



Gambar 2. 2 Situasi kusta di Indonesia Tahun 1990-2001 (Depkes RI, 2002)

Propinsi Jawa Timur sendiri menempati urutan ke 8 setelah Irian Jaya, Maluku, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Nanggroe Aceh Darussalam, Kalimantan Tengah dan Sulawesi Utara sebagai daerah endemik kusta. Hingga pertengahan tahun 2004, tercatat bahwa propinsi Jawa Timur memiliki angka prevalensi kusta sebesar 1,39 per 10.000 penduduk yang menyebar pada 38 kabupaten/kota dengan jumlah penderita terdaftar sebanyak 4298 penderita. Dari

seluruh kabupaten/kota tersebut Kabupaten Sampang menduduki urutan pertama prevalensi kusta yaitu 6,41, kemudian diikuti Sumenep 6,29, Pamekasan 4,01, Lamongan 3,94 dan Tuban 3,54 per 10.000 penduduk (Dinkes Jatim, 2004). Gambaran kondisi kejadian kusta di Jawa Timur mulai tahun 1995 hingga pertengahan tahun 2004 dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 2.3 Situasi kusta di Jawa Timur tahun 1995-2004 (Dinkes Jatim, 2004)

Kabupaten Sumenep merupakan salah satu daerah endemik kusta yang masih memiliki daerah kantong dengan angka prevalensi yang sangat tinggi. Kecamatan Talango adalah salah satu daerah kantong endemik kusta dengan angka prevalensi kusta sebesar 24,1 per 10.000 penduduk yang terletak di daerah kepulauan di Kabupaten Sumenep. Kecamatan Talango memiliki jumlah penduduk sebesar 39.479 tersebar di 8 desa, dimana 5 dari 8 desa di kecamatan tersebut memiliki angka prevalensi diatas 20 per 10.000 penduduk (Dinkes Sumenep, 2004). Berikut tabel berisi gambaran penyakit kusta di Kecamatan Talango Kabupaten Sumenep.

Tabel 2.1 Gambaran penyakit kusta di Kecamatan Talango s/d Desember 2004

Keterangan	Absolut	Relatif
Jumlah penduduk	39.479	
Penderita yang diobati	93	23.6 per 10.000
PB	22	
MB	71	
Penderita baru	110	
PB	37	
MB	73	66,4
Penderita Anak (< 15 tahun)	13	11,8
Penderita Cacat II	17	15,5
Penderita selesai berobat	118	

(Sumber : Dinkes kabupaten Sumenep, 2004)

Jika dilihat dari grafik kondisi kusta baik di Indonesia maupun di Jawa Timur dapat disimpulkan bahwa selama dekade terakhir pemberantasan kusta pada umumnya telah berhasil menurunkan prevalensi kusta, namun insidens kusta baru (angka CDR) tetap bertahan terutama di daerah endemis walaupun kasus aktif sebagai sumber infeksi telah diobati. Hal ini mungkin disebabkan antara lain karena :

1. Adanya *backlog case*, yakni adanya kasus yang tidak terdeteksi dan tidak mendapat terapi.
2. Adanya infeksi subklinis yang tidak terdeteksi pada populasi.
3. Kemungkinan adanya sumber penularan reservoir di luar manusia, yang menyebabkan kontrol, eliminasi dan eradikasi kusta pada manusia menjadi sulit (Noordeen, 1994).

Masalah *back log case* selalu terjadi pada masa tahap awal program pemberantasan kusta, namun biasanya jumlah ini akan semakin berkurang dengan bertambah lamanya program pemberantasan kusta berjalan. Dari fakta yang ada terlihat bahwa jumlah penderita kusta baru tetap tidak berkurang dalam sepuluh tahun terakhir dan fenomena ini berlangsung hingga saat ini di semua daerah endemik kusta di Indonesia maupun di seluruh dunia. Hal ini bukan berarti program tidak berjalan dengan baik namun dapat pula karena kemungkinan kedua yakni fenomena kasus kusta sub klinik (Agusni, 2003).

Sejak tahun 1990, para ahli kusta telah mengetahui adanya kusta sub klinik, yakni individu berbadan sehat tanpa terlihat adanya gejala kusta, namun memberikan hasil uji serologi yang positif. Individu ini menunjukkan adanya antibodi spesifik terhadap basil kusta dalam titer yang signifikan, yang menunjukkan bahwa di dalam tubuhnya telah terinfeksi oleh basil *M.leprae*. Tingginya kadar antibodi spesifik ini setara dengan banyaknya kuman yang ada di dalam tubuh individu tersebut (Agusni, 2001). Meskipun sebagian besar penduduk di daerah endemik kusta pernah terinfeksi *M. leprae*, tidak semua penduduk akan terkena penyakit ini karena adanya kekebalan alamiah terhadap kuman. Dalam tahapan sub klinik terdapat dua kemungkinan, infeksi dapat berkembang menjadi infeksi klinis atau dapat sembuh dengan sendirinya (*self healing*) dan tidak berkembang menjadi infeksi klinis, namun beberapa jurnal menyebutkan bahwa tahapan sub klinik juga dapat menjadi sumber penularan yang juga penting disamping kasus aktif karena pada tahapan ini ternyata mampu mengeluarkan sekresi basil dari nasal yang bersifat *transient/ sementara* (Cree and

Smith, 1998). Hal ini diperkuat dengan kejadian positif pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari mukosa nasal pada periode sub klinis oleh Cree and Smith (1998). Selain tahapan sub klinis, pada kusta tipe lepromatosa dan tuberkuloid juga mampu mengeluarkan sejumlah besar bakteri ke lingkungan (Cree and Smith, 1998).

Sampai saat ini cara penularan penyakit kusta belum sepenuhnya terungkap. Tapi pada saat ini yang dianut adalah melalui *droplet infection* dengan *port d'entr ee* mukosa hidung dan kontak yang lama secara terus menerus. Saat ini yang dianggap sebagai tempat keluarnya kuman dari sumber penularan (*port d'exit*) adalah mukosa hidung penderita kusta tipe lepromatous 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 pembuluh darah alveoli dari tikus tersebut bisa ditemukan kuman tersebut. Ini berarti bahwa *M. leprae* bisa mencapai sistim sirkulasi darah dan selanjutnya akan bersarang di suatu tempat predileksi untuk kuman tersebut, biasanya disel Schwann di perinerium (Noordeen, 1994). Sedangkan penularan lainnya juga bisa melalui inokulasi, yaitu melalui kulit yang terkontaminasi misalnya *tatoos* dengan alat yang tidak bersih (Noordeen, 1994; Nurjanti dkk., 2002).

Kusta dapat ditemukan pada hewan-hewan yang terinfeksi secara alamiah/natural dari lingkungan dan diduga mampu pula menularkannya pada hewan lain dan juga pada manusia. Hewan tersebut adalah armadillo, simpanse, kera Mangabey, kera *Cyanomolgus*, kerbau dan kucing. Sedangkan 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 (Nurjanti dkk., 2002). Bagaimana cara penularan *M. leprae* dari hewan ke manusia belum banyak diketahui namun anggapan bahwa hanya manusia yang rentan terhadap infeksi *M. leprae* mulai dipertanyakan.

Penularan kusta terjadi dapat melalui kontak langsung dengan sumber infeksi (manusia), namun dapat juga melalui jalur tidak langsung yakni melalui lingkungan. Dari penelitian Chakrabarty, dkk (2001) dilaporkan bahwa *M. leprae* dari percikan ludah penderita bisa bertahan hidup di tanah sampai 40 hari. Chakrabarty dan Dastidar (2002) juga melaporkan adanya korelasi antara peta penyebaran kusta secara geografis dengan peta kondisi geografis tanah yang mengandung *fossil-fuels*, baik di Amerika maupun India. Kazda, *et.al* (1987) melaporkan ditemukannya *M. leprae* dari tanah di daerah endemik kusta di Bombay, India. Leslie, *et.al* (1987) menemukan salah satu sampel tanah di daerah endemik kusta yang diuji dengan Antibodi monoklonal yang spesifik terhadap Antigen PGL-I ternyata hasilnya adalah positif. Matsuoka, dkk (1999) melakukan penelitian dengan teknik PCR dengan sampel dari sumber-sumber air yang digunakan masyarakat di suatu daerah endemik kusta di daerah Sulawesi. Ternyata 21 dari 44 sampel air tersebut menunjukkan adanya DNA dari *M. leprae*.

Sedangkan penelitian Izumi, dkk (2002) pada sumur-sumur yang digunakan untuk masyarakat di suatu daerah endemik kusta dengan teknik PCR ternyata 20% dari sampel air yang diteliti menunjukkan uji PCR positif, yang berarti dua dari sepuluh sumur telah tercemar dengan basil kusta. Tabel berikut menunjukkan penemuan mikobakteria di lingkungan

Tabel 2.2 Mikobakteria di lingkungan (Leslie, *et al.*, 1987)

Table 1. Soil, water, and vegetation as sources of leprosy-like diseases and possibly of leprosy.

Source, associated finding	Description	Location	Test method (result)	Reference(s)
Soil				
Noncultivable AFB	1 of 4 soil samples positive	Bombay, India	Mouse footpad inoculation, histopathologic tests, and MAB to PGL-I antigen (positive)	34
Noncultivable AFB	Soil from 2 of 12 armadillo burrows positive	Pointe Coupee Parish, La.	MAB to PGL-I antigen (positive)	35*
Water				
<i>Lepra buxiformis</i>	Mycobacterial leprosy-like disease of water buffaloes	Indonesia	Histopathology of nodules and macroscopic observations (positive); cultivation attempts (negative)	36 ✓
Noncultivable AFB	Organism in pond water	Ivory Coast	Mouse footpad inoculation, armadillo inoculation, pyridine and DOPA oxidase (positive)	37 ✓
AFB in well water	17 samples tested; cultivable and noncultivable AFB	Bombay, India	Mouse footpad inoculation, histopathologic tests (positive)	34
Vegetation				
Buruli disease (<i>Mycobacterium ulcerans</i>)	Organism as saprophyte on grass, entry via skin lesions	Uganda	Characteristic growth on Löwenstein-Jensen medium	38
Cultivable AFB	Optimal qualities of sphagnum moss for growth of AFB	Germany, Sweden, and Norway	Culture on sphagnum moss medium; identification by standard biochemical and taxonomic methods	39, 40
Noncultivable AFB	Thought to exist in sphagnum	Norway	DOPA oxidase, pyridine, and mouse footpad tests (positive)	37, 41
Unknown				
Batrachian leprosy	Leprosy-like granulomas in tree frogs	Bolivia	Stains for AFB and histopathology (positive); cultures for AFB (negative)	42 ✓
Leprosy in two primates	Chimpanzee and mangabey monkey	Sierra Leone and Nigeria	Histopathology and biochemical analysis (positive); cultures (negative)	43 ✓

NOTE. Abbreviations: AFB = acid-fast bacilli; MAB = monoclonal antibody; PGL-I = phenolic glycolipid-I; DOPA = 3,4-dihydroxyphenylalanine.

* Personal communication, R. W. Truman.

Secara teoritis basil *M.leprae* mampu hidup lebih dari 7 hari di luar *host*, di dalam *secret* hidung yang kering, pada keadaan yang gelap dengan temperatur dan kelembaban yang bervariasi (Cree and Smith, 1998). Davey and Young (1974) menyebutkan bahwa *M.leprae* mampu hidup selama 7 hari pada temperatur 20.6°C dan kelembaban 43,7% (Rees and Young, 1994). Desikan (1977) menyebutkan bahwa *M.leprae* mampu hidup selama 9 hari pada temperatur 35.7°C dan kelembaban 77,6%. Pada keadaan panas, pada

tanah yang basah, *M.leprae* mampu hidup selama lebih dari 46 hari (Desikan and Sreevatsa 1995, Ramu 1981).

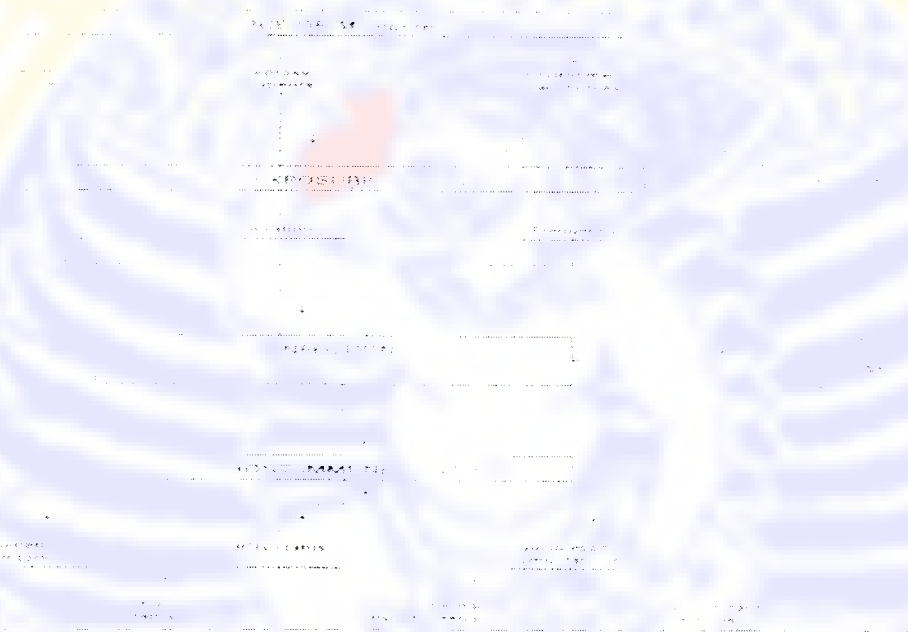
2.2 Faktor Risiko Terjadi Insiden Kusta

Faktor yang dianggap penting untuk terjadinya penularan kusta adalah : kontak yang lama, intim serta berlangsung terus menerus (Noordeen dalam Hastings, 1994). Berbagai penelitian memperlihatkan bahwa individu yang tinggal serumah dengan penderita kusta terutama tipe MB (Multi Basilar) mempunyai risiko terkena kusta 5-8 kali lipat dibanding individu tanpa kontak. Faktor lain yang juga berperan penting adalah status gizi dan status ekonomi. Penyakit kusta banyak menyerang masyarakat dengan sosial ekonomi rendah. Hal ini dihubungkan dengan rendahnya daya tahan tubuh, gizi yang kurang baik dan lingkungan serta higiene yang tidak baik.

Noordeen (1989) dalam Hastings menyebutkan faktor etnik, iklim, nutrisi, migrasi dan kondisi sosial ekonomi juga berpengaruh. Dikatakan bahwa sosial ekonomi rendah, kondisi rumah yang buruk dan terlalu padat berpengaruh terhadap penularan penyakit kusta. Jumlah penderita laki-laki lebih banyak dari perempuan dengan perbandingan 2:1 (Agusni, 1997; Iskandar dkk., 1988; Kandouw, 1999). Hal ini dimungkinkan karena laki-laki lebih sering keluar rumah daripada perempuan.

Faktor kepadatan penduduk dan kepadatan anggota keluarga yang tinggal dalam satu rumah juga mempengaruhi kesempatan seseorang untuk tertular kusta. Risiko akan lebih besar lagi, jika ditunjang oleh kondisi rumah yang tidak memenuhi syarat, misalnya kelembaban dan pertukaran udara yang kurang.

Selain itu endemisitas di suatu daerah juga merupakan faktor penting. Ottenhoff dalam Hastings (1994) menyebutkan faktor genetik juga dapat berpengaruh, hal ini mungkin berkaitan dengan kerentanan individu terhadap infeksi *M.leprae*, virulensi *M.leprae*, serta status imunologik seseorang. Berikut gambaran adalah pola transmisi dan faktor risiko yang dapat meningkatkan insidens penyakit kusta.



Gambar 2.4 Transmisi penularan kusta dan faktor risiko terjadi insidens kusta (Cree and Smith, 1998)

2.3 *Mycobacterium leprae*

2.3.1 Taksonomi

M. leprae termasuk dalam famili *Mycobacteriaceae*, ordo *Actinomycetales*, Klas *Schyzomycetes* (Joklik dkk., 1992; Peter AR, 2003).

2.3.2 Morfologi

M. leprae adalah kuman yang berbentuk pleomorf lurus, batang ramping dan biasanya berbentuk paralel dengan kedua ujungnya bulat, ukuran panjangnya

1 - 8 μm dan lebar 0,3 - 0,5 μm . Basil ini menyerupai kuman berbentuk batang Gram positif, tidak bergerak dan tidak berspora (Amiruddin dan Noordeen, 1995; Brooks dkk., 2001; Pfyffer, dkk., 2003).

Bila menggunakan mikroskop elektron tampak *M. leprae* mempunyai dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan dan lapisan padat pada bagian dalam yang terdiri dari lipopolisakarida dan lipopolisakarida-protein kompleks. Dinding polisakarida dari *M. leprae* adalah suatu arabinogalaktan yang diesterifikasi oleh asam mikolat (*mycolic acid*) yang membedakan *M. leprae* dari mikobakteria lain (Kandauw dkk., 1998). Dinding sel juga berisi protein yang telah diidentifikasi sebagai target sel T, antara lain protein 17 kDa, 14 kDa, 36 kDa, 65 kDa yang membentuk dinding sel (Rees dkk., 1994).

M. leprae merupakan kuman Gram positif dimana sitoplasmanya mempunyai struktur yang sama dengan kuman Gram positif yang lain yaitu mengandung DNA dan RNA. Terdapat protein yang dominan dalam sitoplasma yaitu: protein 28 kDa, protein 17 kDa yang berbeda dengan protein pada dinding sel dan *GroEl Heat Shock Protein*, yang juga pada dinding sel. Selain itu juga terdapat protein 65 kDa (*GroEl heat shock protein*) yang umumnya ditemukan pada bentuk *M. leprae* yang telah mengalami degradasi (Rees dkk., 1994).

Semua informasi yang menentukan struktur *M. leprae* terdapat dalam genom. DNA *M. leprae* dapat ditransfer oleh organisme yang dapat dibiakkan, maka teknik aplikasi molekuler dapat dipelajari. Studi genom *M. leprae* merupakan fokus utama penelitian kusta di masa yang akan datang (Rees dkk.,

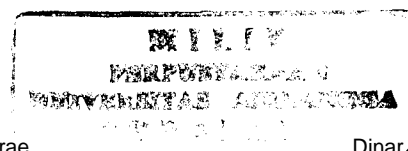
1994). Berat molekul DNA *M. leprae* paling ringan di antara genus mikobakteria dan hanya sedikit mengandung guanin dan sitosin (Kandouw dkk., 1998).

Analisa 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 dianalisa untuk mendeteksi *M. leprae* dengan jumlah kecil dari sampel klinis menggunakan PCR selain itu telah dilakukan pemetaan genom untuk keperluan penelitian (Jones, dkk., 2001; Calston., 2001).

2.3.3 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 *lepromatous* dan tipe *bordeline* serta lesi-lesi penderita dalam keadaan reaksi. Tempat-tempat ini menunjukkan bahwa *M. leprae* tumbuh lebih baik pada tempat dengan suhu kurang dari 37°C (optimum 27-30°C) dengan kata lain tempat yang lebih dingin. Hal ini dibuktikan dengan percobaan Stor pada tahun 1971 yang menginokulasikan *M. leprae* pada armadillo dimana *M. leprae* berkembang biak pada hati, limpa, dan nodul lymphaticus yang memiliki suhu 30-36°C (Rees dkk., 1994; Amiruddin dkk., 1995).

Hingga saat ini *M. leprae* belum berhasil dibiakkan dalam medium buatan. Pembiakan yang bisa 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 dkk., 1994).

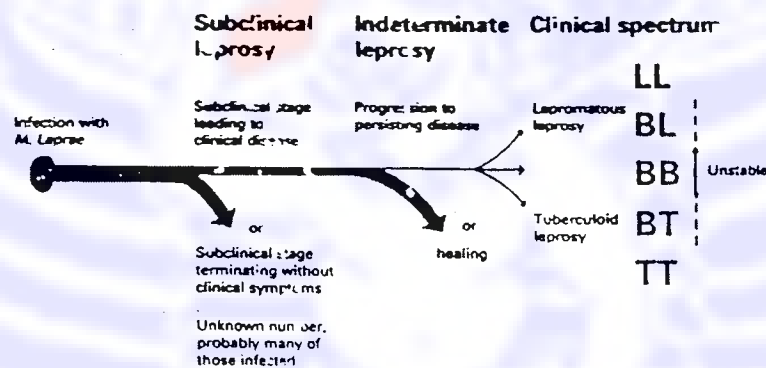
Kuman *M. leprae* ini berkembang biak secara berlahan dengan cara *binary fusion* dan memerlukan waktu 11-13 hari. Lamanya berkembang biak adalah sesuai dengan masa inkubasi dan kronisitas penyakit kusta pada manusia (Joklik dkk., 1992).

M. leprae mempunyai 5 sifat khas yang banyak dikenal sebagai kriteria untuk diagnostik :

1. Merupakan organisme obligat intraseluler yang tidak bisa dibiakkan dalam media buatan
2. Sifat mengikat asamnya dapat diekstraksi dengan pyridine, sesuatu yang tidak pernah ditemukan pada mikobarium 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 yang 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 *tuberculoid* dan negatif pada tipe *lepromatous*.

2.4 Perjalanan Klinik

Perjalanan klinik penyakit kusta merupakan suatu proses yang lambat dan berjalan bertahun-tahun, sehingga acapkali si 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 terjadi sakit.). Berikut adalah skema perjalanan klinis penyakit kusta.



Gambar 2.5 Perjalanan klinis penyakit kusta (Harboe, 1994)

Pada mereka yang kekebalan alamiahnya tidak berhasil membunuh kuman yang masuk, terjadi perkembangbiakan kuman di 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 karakteristik. Kelainan yang khas ini bervariasi, bisa pada kulit, saraf tepi maupun organ-organ lainnya. Bentuk kelainan yang terjadi tergantung tipe penyakit kusta yang terjadi dan berkaitan erat dengan imun penderita (Amiruddin dkk, 1994; Agusni, 1997).

2.5 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 yang ditimbulkan oleh *M. leprae*. Jika respon imun yang terjadi setelah infeksi cukup baik, maka multiplikasi bakteri dapat dihambat pada stadium awal sehingga dapat mencegah berkembangnya tanda dan gejala klinis selanjutnya (Harboe, 1994).

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

2.5.1 Respon imun alami

M. leprae masuk ke dalam tubuh dan berhasil melewati sistem pertahanan lapis pertama yang akan memfagosit, kemudian ikut bersama monosit dalam aliran darah. Selama dalam monosit kuman tersebut tidak terbunuh dan bahkan

bisa berkembang biak. Keadaan ini disebut *Trojan horse phenomena*, yaitu kuman ikut menumpang dan berkembang dalam salah satu sel tubuh tanpa dideteksi oleh sistem imunitas yang ada (Agusni, 1998).

Suatu saat monosit tersebut akan mati dan pecah sehingga kuman menyebar dan akan mencapai sel Schwann di perinerium saraf tepi yang merupakan predileksi tempat hidupnya *M. leprae*. Oleh karena itu, *M. leprae* tahan terhadap lisosim dan kuman tersebut dapat berkembang biak di dalam sel Schwann. Sel ini tidak dapat mengekspresikan molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II sehingga sel Schwann yang terinfeksi tidak bisa berkomunikasi dengan sel limfosit T akibatnya kuman di dalam sel Schwann tidak bisa terdeteksi oleh sistem imun (Kandouw, 1999; Abbas dkk., 2000).

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 kuman ditangkap oleh sel fagosit yang profesional khususnya makrofag. Setelah dicerna dan disajikan ke MHC kelas II maka sel Th/CD4+ akan mengenal dan selanjutnya dimulailah rangkaian imunitas seluler (Kandouw, 1999).

2.5.2 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 yang *obligate intracellular* 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.

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 dkk., 2000).

Respon imun humoral terhadap *M. leprae* merupakan aktifitas sel limfosit B yang berada dalam jaringan limfoid dan sirkulasi darah. Rangsangan dari komponen antigen kuman tersebut akan merubah sel limfosit B menjadi sel plasma yang akan menghasilkan antibodi yang akan membantu proses opsonisasi. Tetapi pada penyakit kusta fungsi respon imun humoral ini tidak efektif malahan justru menyebabkan timbulnya beberapa penyakit karena terbentuknya secara berlebihan (Harboe, 1994). Hal ini tampak pada penderita kusta *lepromatous* yang mana akibat rangsangan yang cukup lama oleh antigen *M. leprae* maka akan ditemukan antibodi dalam jumlah yang berlebihan dalam sirkulasi darah penderita. Selain antibodi yang spesifik maupun non spesifik juga ditemukan 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, sehingga kontrol terhadap sel limfosit menjadi hilang dan akibatnya sel B terus memproduksi antibodi (Harboe, 1994).

2.6 Gejala Klinis

a. Tipe Tuberkuloid Tuberkuloid (TT)

Lesi ini mengenai kulit maupun saraf, lesi kulit bisa satu atau beberapa, dapat berupa makula atau plak, batas 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. Gejala ini dapat disertai penebalan saraf perifer yang biasanya teraba, hilangnya rasa dan kelemahan otot (Amiruddin, 1998).

b. Tipe Bordeline Tuberkuloid (BT)

Lesi tipe ini menyerupai tipe TT, berupa makula anestesi atau plak yang sering disertai lesi satelit dipinggirnya, jumlah lesi satu atau beberapa, tetapi gambaran hipopigmentasi, kulit kering atau skuama jelas seperti pada tipe TT. Gangguan saraf tidak seberat pada tipe TT dan biasanya asimetrik. Biasanya ada lesi satelit yang letaknya dekat saraf perifer yang menebal (Amiruddin, 1998).

c. Tipe Bordeline Bordeline (BB)

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

pada bagian tengah, batas yang jelas yang merupakan ciri khas dari tipe ini (Amiruddin, 1998).

d. Tipe Bordeline Lepromatosa (BL)

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

e. Tipe Lepromatus Lepromatosa (LL)

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

2.6.1 Klasifikasi

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

a. Klasifikasi Madrid (1953) :

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

b. Klasifikasi Ridley-Jopling (1962) :

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

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

- 1) *Pausibasilar* (PB)

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

- 2) *Multibasilar* (MB)

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

Adapun klasifikasi yang banyak digunakan dalam bidang penelitian adalah klasifikasi menurut Ridley dan Jopling yang mengelompokkan penyakit kusta menjadi 5 kelompok berdasarkan gambaran klinis, bakteriologis, dan histopatologis (Amiruddin dkk., 1994; Agusni, 1997). Lebih lanjut Kandouw

(2001) menjelaskan bahwa klasifikasi Ridley dan Jopling dirasa paling tepat penggunaannya karena mempunyai korelasi dengan imunitas penderita.

2.6.2 Diagnosis

Untuk menegakkan diagnosis penyakit kusta, perlu dicari tanda-tanda pokok atau *cardinal signs* (Depkes, 1998) yaitu :

1. Adanya kelainan kulit dapat berupa hipopigmentasi, eritem, infiltrat, nodul;
2. Berkurang sampai hilang rasa pada kelainan kulit tersebut di atas;
3. Penebalan saraf tepi;
4. Adanya Basil Tahan Asam di dalam hapusan sayatan kulit (BTA positif).

Seseorang dinyatakan sebagai penderita kusta bilamana terdapat sekurang-kurangnya dua dari tanda-tanda pokok di atas.

2.6.3 Pengobatan

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

1. Pengobatan secara kausal

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

metode pengobatan kombinasi MDT-WHO (Rifampisin, DDS, dan Clofazimine).

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

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

4. Rehabilitasi medik

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

5. Rehabilitasi sosial

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

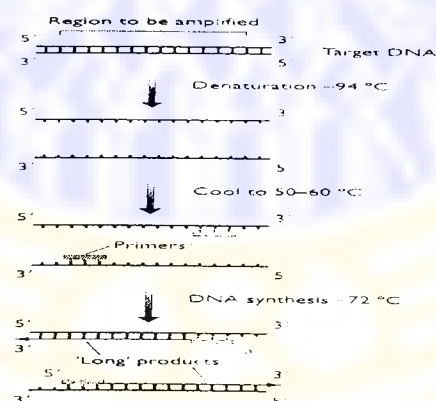
2.7 Deteksi *Mycobacterium leprae*

Basil kusta yakni *Mycobacterium leprae*, adalah bakteri patogenik yang diketahui tidak dapat di kultur secara *in vitro*, diagnosis penderita kusta sebagian besar ditegakkan berdasarkan gejala klinis, selain dapat juga didukung oleh pemeriksaan histopatologi dan pemeriksaan bakteriologis secara mikroskopis, namun diagnosis secara klinis memiliki banyak kesulitan karena penyakit kusta dapat menunjukkan gejala yang mirip dengan penyakit lain seperti *Pityriasis versicolor*, *Pityriasis alba*, *Psoriasis vulgaris*, *Mycosis superficialis*, dan TB Cutis (Agusni, 1997).

Pemeriksaan bakteriologis yang sering dilakukan adalah pengecatan Basil Tahan Asam (BTA) dengan menggunakan pewarna *Ziehl Nielsen*. Dengan

pulasan *Ziehl Nielsen* basil ini dapat terlihat soliter, bergerombol, atau berbentuk globus. Globus ini dibatasi oleh membran dan berisi 50-100 basil *M.leprae*. Globus ini tersusun paralel menyerupai bundel sigaret (Rees&Young; Amiruddin, *et.al.*, 1994). Pemeriksaan BTA bersifat tidak spesifik dalam mendeteksi basil *M.leprae*, karena juga dapat memberikan hasil positif dengan mikobakteria lain. Pemeriksaan mikroskopis juga tidak begitu sensitif karena hanya memiliki limit deteksi hingga 10^4 basil/ml (Shepard&McRae, 1968).

Pada dasawarsa terakhir, telah dikembangkan teknik biologi molekuler yang digunakan untuk mendeteksi basil *M.leprae*, diantaranya adalah dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mendeteksi DNA basil *M.leprae*, yang pertama kali dikembangkan oleh Klatser (1989). *Polymerase Chain reaction* (PCR) adalah suatu metode enzimatik *in vitro* yang digunakan untuk menghasilkan gugus DNA yang spesifik dalam jumlah besar dan dalam waktu singkat melalui tahap *denaturation*, *annealing* dan *extension* pada temperatur yang berbeda (De Wit dkk., 1991; Wichitwechekarn dkk., 1995; Agusni, 2001).



Gambar 2.6 Tahapan proses *Polymerase Chain Reaction* (Brown, 2002)

Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, PCR mempunyai tingkat spesifitas dan sensitifitas yang tinggi dalam waktu yang cepat untuk mendeteksi *M. leprae* pada penderita kusta yang menunjukkan gejala klinis maupun penderita sub klinis. 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, protein yang membentuk dinding sel) serta *leprosy serum reactive* (LSR), *ribosomal RNA* dan *repetitive sequences* yang berada di daerah cosmid, yang memiliki pola pengulangan tersebar maupun pola pengulangan tandem (Hartskeerl *et al.*, 1989; Santos *et al.*, 1994; Wichitwechekarn *et al.*, 1995; Katoch *et al.*, 2000; Cole *et al.*, 2001).

Untuk penelitian sekarang ini semakin banyak dilaporkan penggunaan PCR untuk mendeteksi *M. leprae* dari berbagai sampel, seperti sampel dari jaringan biopsi, hapusan mukosa hidung, jaringan hewan percobaan bahkan dari sumber air di lingkungan sekitar tempat tinggal penderita di daerah endemik kusta (Misra dkk., 1995; Izumi dkk., 2002, Agusni, 2003; Young, 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 dkk., 1995; Sharma dkk., 1996).

Penggunaan teknik PCR dalam mendeteksi DNA *M. leprae* dapat menggunakan beberapa cara, salah satunya adalah dengan teknik *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 akan 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 sensitifitas dan spesifitas (Plykatis *et al.*, 1990; Donoghue *et al.*, 1999).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Penularan basil kusta di daerah endemis dapat terjadi melalui kontak langsung dengan sumber infeksi (manusia), dapat pula melalui jalur tidak langsung yaitu melalui lingkungan (Cree and Smith, 1998). Cara penularan penyakit kusta belum sepenuhnya terungkap, namun pada saat ini yang dianut adalah teori penularan secara langsung melalui *droplet infection* dengan *port d'entr ee* mukosa hidung dan kontak yang lama secara terus menerus. Saat ini yang dianggap sebagai tempat keluarnya kuman dari sumber penularan (*port d'exit*) adalah mukosa hidung penderita kusta tipe lepromatous 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).

Transmisi penularan tidak langsung melalui lingkungan terjadi karena kecurigaan bahwa banyak individu yang terinfeksi basil kusta tanpa adanya sumber penularan yang jelas atau ditemukannya kasus kusta yang terjadi tanpa ditemukannya penderita kusta yang menjadi sumber penularan (Agusni, 2003). Hal ini diperkuat dengan berbagai penelitian sero-epidemiologis dan fakta-fakta antara lain: di Amerika telah ditemukan hewan Armadillo liar yang mengidap kusta dan mengandung *M. leprae* dalam tubuhnya. Basil kusta juga telah

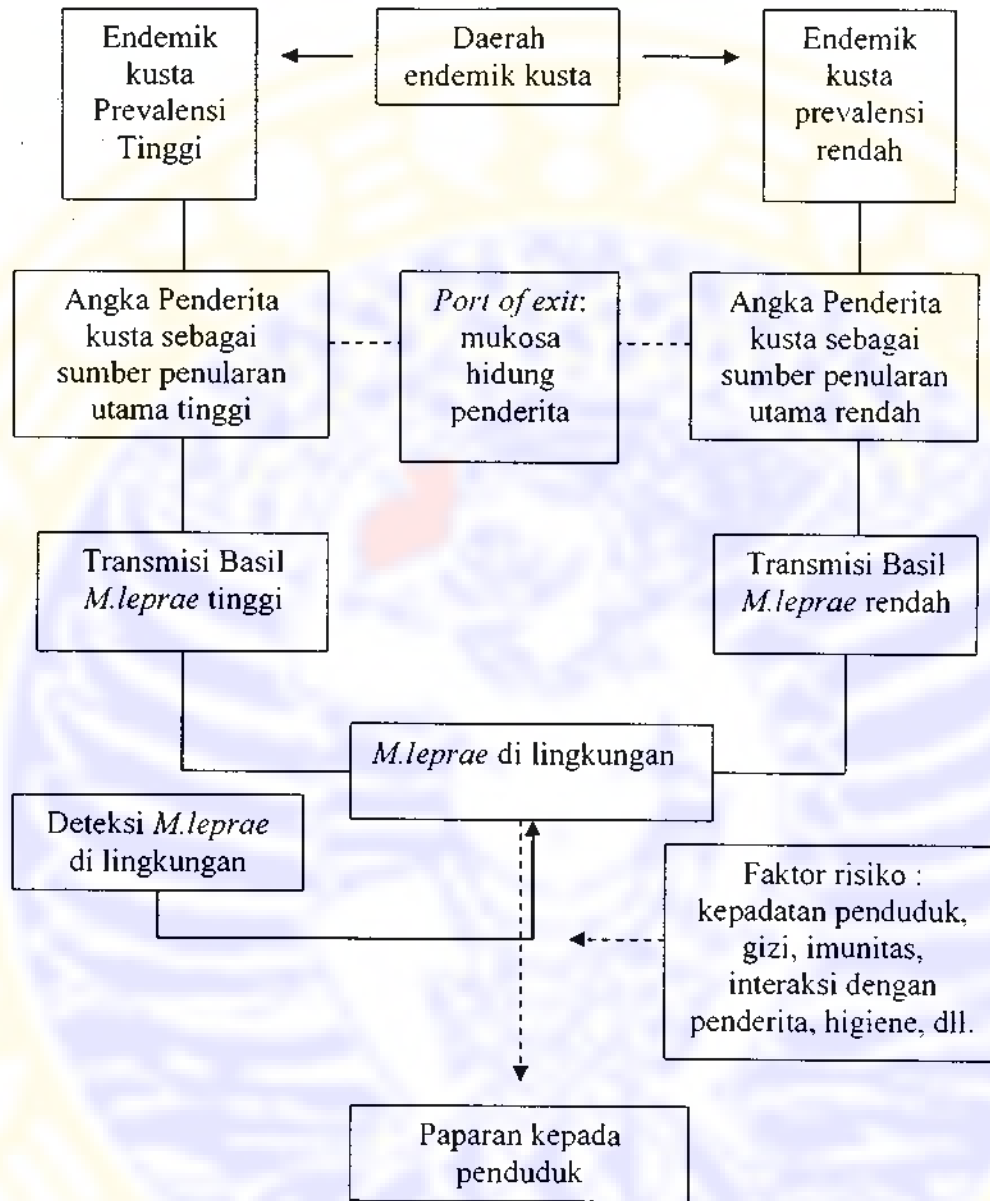
ditemukan pada berbagai hewan seperti monyet dan tikus (Blake dkk., 1987; Mayer dkk., 1992).

Menurut teori, basil *M.leprae* mampu hidup lebih dari 7 hari di luar *host*, di dalam *secret* hidung yang kering, pada keadaan yang gelap dengan temperatur dan kelembaban yang bervariasi (Cree and Smith, 1998). Davey and Young (1974) menyebutkan bahwa *M.leprae* mampu hidup selama 7 hari pada temperatur 20,6°C dan kelembaban 43,7% (Rees and Young, 1994). Desikan (1977) menyebutkan bahwa *M.leprae* mampu hidup selama 9 hari pada temperatur 35,7°C dan kelembaban 77,6%. Pada keadaan panas, pada tanah yang basah, *M.leprae* mampu hidup selama lebih dari 46 hari (Desikan and Sreevatsa 1995, Ramu 1981).

Dari fakta yang ada baik di Indonesia maupun di negara endemik kusta lainnya di dunia juga terdapat fenomena bahwa jumlah penderita kusta baru tetap tidak berkurang dalam sepuluh tahun terakhir dan fenomena ini berlangsung hingga kini. Hal ini dapat dikatakan bahwa di daerah endemik kusta interaksi antara penduduk dengan penderita kusta dan lingkungan daerah endemis dapat terjadi secara aktif baik langsung maupun tidak langsung.

Faktor risiko yang dianggap penting untuk terjadinya penularan kusta adalah : kontak yang lama, intim serta berlangsung terus menerus (Noordeen dalam Hastings. 1994). Berbagai penelitian memperlihatkan bahwa individu yang tinggal serumah dengan penderita kusta terutama tipe MB (Multi Basilar) mempunyai risiko terkena kusta 5-8 kali lipat dibanding individu tanpa kontak. Jika penderita kusta di daerah prevalensi tersebut sangat tinggi, maka transmisi

akan terjadi simultan baik secara langsung lewat penderita kusta ke penduduk sekitar maupun secara tidak langsung yakni melalui lingkungan. Apabila interaksi dilakukan secara intim, terus menerus dan terjadi dalam jangka waktu lama maka faktor lingkungan dapat menjadi salah satu jalur transmisi infeksi basil *M.leprae*. Selain faktor interaksi juga terdapat faktor risiko lainnya seperti faktor imunitas, sosio ekonomi, gizi, higiene, yang dapat mempengaruhi insidens terjadinya penyakit kusta.



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

Keterangan :

- Aspek yang diteliti
- Aspek yang tidak diteliti

3.2 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah dan kajian teori yang dilakukan maka dapat ditentukan hipotesis penelitian adalah : Terdapat perbedaan kejadian PCR positif DNA *M.leprae* dari air di daerah endemik kusta prevalensi tinggi dan prevalensi rendah.

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini bersifat observasional, analitik, dengan rancang bangun penelitian adalah *cross sectional*.

4.2 Materi Penelitian

Bahan penelitian ini adalah semua air sumur milik penduduk di daerah endemik kusta yakni desa Kombang mewakili desa dengan prevalensi tinggi dan desa Gapurana mewakili desa dengan prevalensi rendah di Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep. Berkenaan dengan jumlah sumur yang tidak terlalu banyak maka dilakukan *total sampling* untuk air sumur dari dua desa tersebut.

4.3 Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel antara lain sebagai berikut :

1. Desa dengan prevalensi kusta tinggi dan desa dengan prevalensi rendah di kabupaten Talango dilihat kondisi alam dan letak rumah penduduk termasuk rumah penderita kusta beserta lokasi sumur.
2. Sampel air yang telah diambil kemudian dicatat nama pemilik sumur dan ada tidaknya penderita yang memakai air tersebut.
3. Jika sumur terdapat penderita kusta maka dicatat nama dan tipe kustanya.

4.3.1 Kriteria inklusi

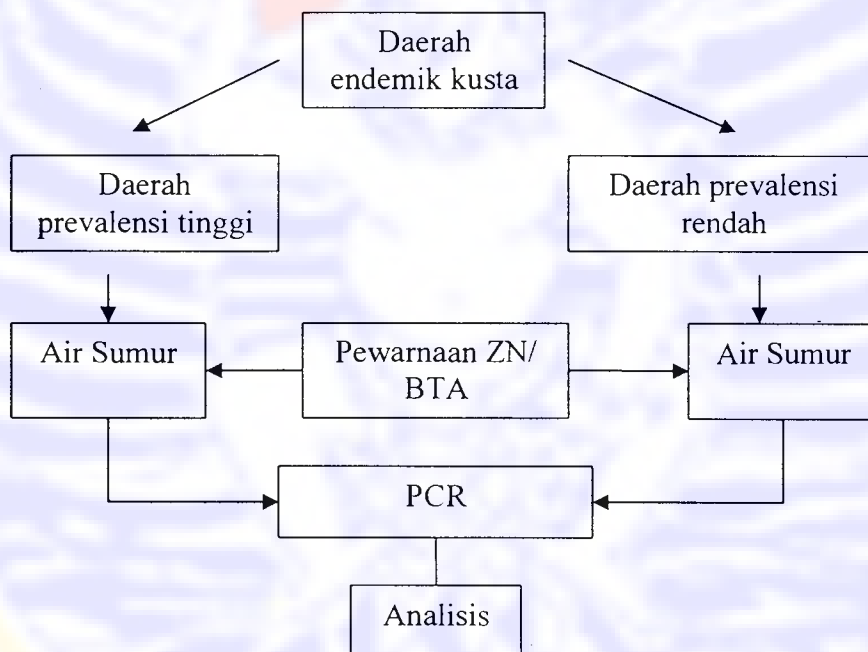
1. Air berasal dari sumber alam yakni air sumur.
2. Sumur berada di dalam kawasan kecamatan Talango Sumenep.

3. Sumur masih digunakan oleh penduduk sehari-hari untuk mandi, minum, mencuci pada saat dilakukan pengamatan.

4.3.2 Kriteria eksklusi

1. Air berasal dari sumber pengolahan air misalnya air PDAM.
2. Air telah mengalami proses penjernihan air misalnya diberi kaporit, antikuman.
3. Air sumur bukan di kawasan kecamatan Talango Sumenep.

4.3.3 Alur penelitian



4.4 Variabel dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel penelitian

1. Daerah asal isolat air sumur di daerah endemik yakni :
 Daerah prevalensi kusta tinggi
 Daerah prevalensi kusta rendah
2. Hasil PCR dari isolat sumur masing-masing daerah.

4.4.2 Definisi operasional

1. Daerah prevalensi kusta tinggi

Daerah yang memiliki prevalensi kusta lebih dari 10,00 per 10.000 penduduk yang datanya berasal dari data sekunder di Dinas Kesehatan Kabupaten Sumenep tahun 2004.

2. Daerah prevalensi kusta rendah

Daerah yang memiliki prevalensi kusta kurang dari 10,00 per 10.000 penduduk yang datanya berasal dari data sekunder di Dinas Kesehatan Kabupaten Sumenep tahun 2004.

3. Sumber air

Air sumur yang berada di daerah endemik kusta dan masih digunakan oleh penduduk untuk keperluan sehari-hari hingga saat dilakukan penelitian.

4. Pemeriksaan DNA *M.leprae*

Adanya DNA *M.leprae* dapat dideteksi dengan melakukan pemeriksaan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Pada penelitian ini digunakan 2 pasang primer yakni Lp1, Lp2 dan Lp3, Lp4 yang menyandi daerah 18 kDa antigen *M.leprae* pada regio RLEP3 *repetitive element* (X17153) yang mengamplifikasi fragmen DNA sebesar 129 bp untuk produk external (*outer*) dan 99 bp untuk produk internal (*inner*).

Hasil pemeriksaan PCR dikatakan positif bila pada DNA marker (petanda) yakni 20bp DNA ladder, di ketinggian 100bp (kurang lebih 99 bp) terdapat pita positif dari sampel dan fragmen tersebut sejajar dengan kontrol positif yaitu

DNA kuman *M.leprae* strain *Thai 53* hasil biakan dari *nude mice* yang dibiakkan di *Leprosy Research Center*, Tokyo, Jepang.

4.5 Bahan Penelitian

4.5.1 Bahan untuk pengambilan sampel air

1. Botol steril kualitas pro analisis
2. Alkohol 70%
3. Sarung tangan karet *disposable*
4. Tabung Sentrifus 50 ml
5. Membran Milliphore diameter 0,22 μm .

4.5.2 Bahan untuk pengecatan Basil Tahan Asam *Ziehl Nielsen* (BTA/ZN)

1. Larutan karbol fuchsin 0,3%
2. Larutan Asam alkohol (HCl Alkohol 3%)
3. Larutan Methylene Blue 0,3%

4.5.3 Bahan untuk ekstraksi DNA dan PCR sampel air

1. Bufer PBST (*Physiologic buffered Saline-Tween 20*)
2. Bubuk Agarosa produk Nu Sieve GTG
3. Bahan untuk ekstraksi DNA dari sampel air memakai *Qiagen miniprep kit*

Primer Lp1 5' TGCATGTCATGGCCTTGAGG 3'

Lp2 5' CACCGATACCAGCGGCAGAA 3'

Lp3 5' TGAGGTGTCGGCGTGGTC 3'

Lp4 5' CAGAAATGGTGCAAGGGA 3'

Masing-masing primer sebesar 5,0 pmol

4. PCR *master mixture* berisi : enzim *taqDNA* polimerase, Tris HCl (pH 9,0 pada suhu kamar) 10 mM, KCl 50 mM, MgCl 1,5 mM, campuran dNTP masing-masing 200 mM, DNA sampel untuk cetakan (*template*), *Distilled Water* steril.
5. Gel Agarosa untuk elektroforesis yang dibuat dengan konsentrasi 3% menggunakan produk *Nu Sieve* GTG dengan pelarut buffer TBE (*Tris-Boric EDTA*),
6. *Ethidium bromide* 0,01% digunakan untuk mengecat gel hasil elektroforesis.

4.6 Instrumen Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah Sentrifuge 5417 R Eppendorf 13.000 rpm suhu 4°C, Sentrifuge Kubota 4000 rpm suhu kamar, Takara PCR *Thermal Dice*, pipet mikro dengan tip berfilter steril buatan eppendorf ukuran 0,5-10µl, 20-100µl, 100-200µl, 200-1000µl, tabung eppendorf steril ukuran 1,5 ml, 500µl, 200µl, pinset steril, gelas obyek, lampu spiritus.

4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.7.1 Lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di daerah kabupaten Sumenep kecamatan Talango dan di Tropical Disease Center (TDC) Unair Surabaya.

4.7.2 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan selama 4 bulan antara bulan Maret 2005 sampai Juli 2005.

4.8 Prosedur dan Pengambilan Data

4.8.1 Prosedur pengambilan sampel air (Izumi, dkk 2002, Matsuoka dkk,1999)

1. Air sumur yang diambil adalah air dari kedalaman 1 meter di bawah permukaan air dan terlindung dari sinar matahari.
2. Sampel air dimasukkan ke dalam botol sampel khusus steril, disimpan pada lemari es suhu 4°C hingga saat diperiksa. Dari sampel air, diambil 150 ml untuk disaring dengan penyaring Milliphore sehingga semua bakteri tertahan dalam membran.
3. Filtrat dibuang dan membran yang telah dipakai untuk menyaring bakteri diambil dengan pinset steril dan ditempatkan pada tabung sentrifus 50 ml. Membran dicuci dengan larutan PBST sebanyak 1.5 ml dan di vortex selama 15 menit.
4. Setelah divortex, membran dibuang, dan suspensi dipindahkan ke dalam tabung eppendorf steril 1,5 ml dan disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm suhu 4°C selama 30 menit.
5. Supernatan dibuang. pelet dibuat hapusan dengan mengambil sebagian kecil suspensi, dilapiskan tipis ke obyek glass, difiksasi dan diwarnai dengan *Ziehl Neelsen*.
6. Pelet sel diekstraksi DNA dengan kit Qiagen *miniprep*, dengan prosedur sebagai berikut :

7. Pelet sel diresuspensi dengan menambahkan larutan P1 yang berisi enzim RNase sebanyak 250 μ l.
8. Ditambahkan Bufer P2 sebanyak 250 μ l yang mengandung NaOH untuk memberi suasana Basa, lalu divortex perlahan hingga larutan berubah menjadi sedikit bening.
9. 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.
10. Disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan maksimum (13.000 rpm) dalam suhu ruangan.
11. 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.
12. 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.
13. 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.

14. DNA yang telah dipresipitasi dilarutkan dengan *Distilled Water Sterile* sebanyak 30-50 μ l, diinkubasi selama 1 menit dan disentrifus selama 1 menit.

4.8.2 Pengecatan *Ziehl Neelsen*

1. Sediaan difiksasi dengan cara diangin-anginkan lalu dipanasi api sebentar dan cepat dengan hapusan menghadap ke atas.
2. Larutan karbol fuchsin 0,3% dituangkan ke atas hapusan hingga menutupi seluruh permukaan sediaan.
3. Sediaan dipanasi selama 3 menit hingga keluar asap putih (jangan sampai mendidih).
4. Sediaan didiamkan selama 5 menit dan dibilas dengan air mengalir pelan lalu dibilas dengan asam alkohol (HCl 3 % dalam Alkohol 70%) hingga warna merah fuchsin menghilang.
5. Sediaan dibilas kembali dengan air mengalir kemudian dituangi dengan *methylene blue* 0,3% hingga menutupi seluruh permukaan dan dibiarkan selama 1-2 menit.
6. Sediaan dibilas kembali dengan air mengalir dan diangin-anginkan.

4.8.3 Pemeriksaan dengan metode PCR (Donoghue *et.al*, 1999, Sambrook and Russell, *et.al*, 2001)

4.8.3.1 Prosedur amplifikasi DNA

1. Mesin PCR untuk program *nested* dilakukan dengan kondisi sebagai berikut :
 - a. *pre-heat* 94°C selama 4 menit

b. *denaturasi* 94°C selama 30 detik

annealing 60°C selama 30 detik (untuk eksternal PCR)

56°C selama 30 detik (untuk internal PCR)

extension 72°C selama 30 detik

Proses eksternal PCR dilakukan sebanyak 35 siklus dan proses internal PCR dilakukan sebanyak 30 siklus.

c. *prolong extension* selama 5 menit

2. Setelah amplifikasi fragmen DNA selesai, ukuran panjangnya dapat dianalisa dengan menggunakan gel agarosa 3% (w/v) melalui proses elektroforesis.
3. Elektroforesis selesai dan untuk visualisasinya dilakukan dengan cara merendam gel agarose ke dalam larutan *Ethidium Bromide* 0,01% dan dilihat dengan lampu ultraviolet.

4.8.4 Teknik Analisis Data

Data yang telah terkumpul diolah dan dianalisis menggunakan program komputer spss dan statcal. Teknik analisis data dilakukan secara deskriptif. Adanya perbedaan rata-rata hasil amplifikasi DNA basil *M.leprae* dengan teknik PCR dari sampel air dari daerah endemik kusta prevalensi tinggi dan prevalensi rendah diuji dengan statistik *Chi-square*.

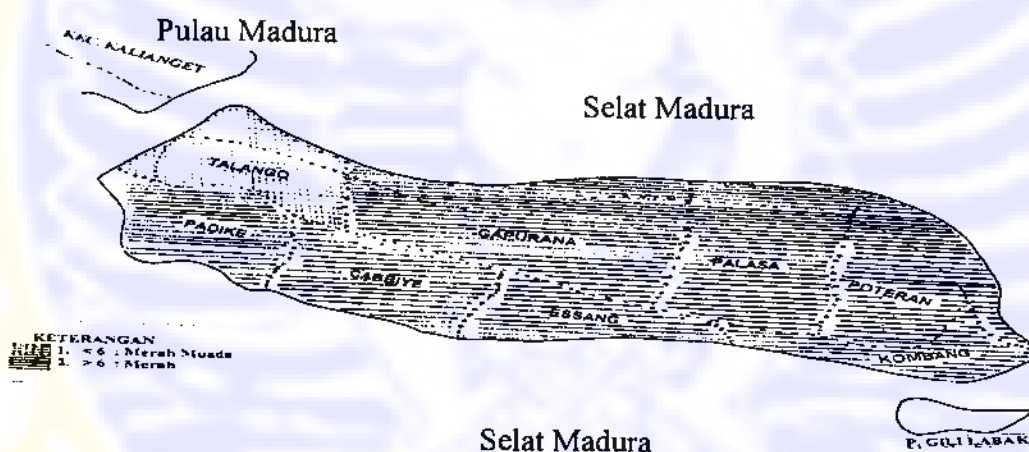
BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

5.1.1 Gambaran umum lokasi penelitian

Pulau Talango terletak di daerah kepulauan wilayah Kabupaten Sumenep sebelah timur dari kota Sumenep. Untuk dapat menuju ke pulau Talango terdapat transportasi laut yakni kapal tongkang bermesin disel dan sampan kecil bermotor yang berangkat dari kota Kalianget. Penduduk di Talango tahun 2004 berjumlah 39.479 jiwa yang tersebar di 8 Desa yaitu Desa Talango, Padike, Gapurana, Palasa, Essang, Cabbiye, Kombang dan Poteran (Dinkes Sumenep, 2004).



Gambar 5.1 Peta Pulau Talango (Dinkes Sumenep, 2004)

Kecamatan Talango merupakan daerah endemis kusta yang menurut laporan Dinkes Sumenep tahun 2004, menempati urutan pertama endemis kusta se kabupaten Sumenep, dengan prevalensi 24,1/10.000 penduduk. Berikut rincian

angka prevalensi penderita kusta per desa di Kecamatan Talango per Desember 2004.

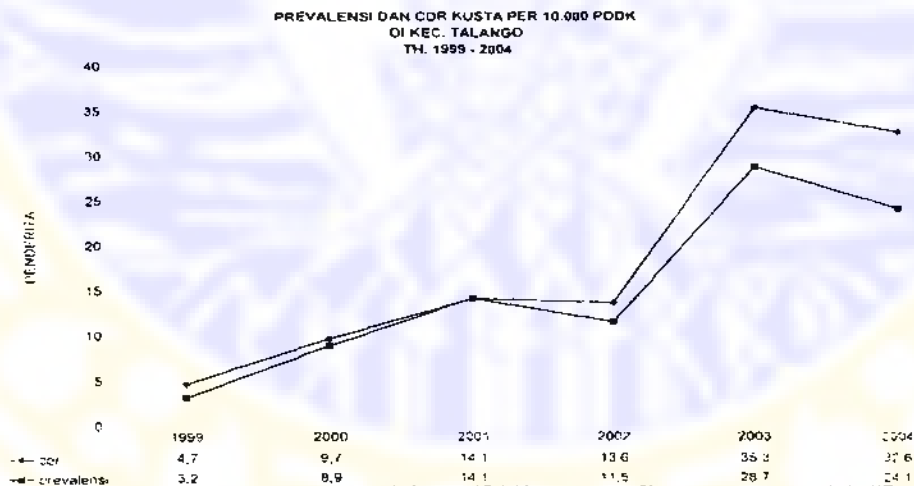
Tabel 5.1 Prevalensi Penderita Kusta per Desa se Kecamatan Talango per Desember 2004

No.	Nama Desa	Jumlah Penduduk	Jumlah Penderita	Prevalensi per 10.000 penduduk
1	Talango	5769	3	5,2
2	Padike	4803	11	22,9
3	Gapurana	8900	6	6,7
4	Palasa	5069	7	13,8
5	Essang	4109	12	29,2
6	Cabbiye	2830	12	42,4
7	Kombang	3074	15	48,8
8	Poteran	4925	29	58,9
Kecamatan		39.479	95	24,1

(Sumber : Dinkes kabupaten Sumenep, 2004)

Berikut gambaran situasi kusta di kecamatan Talango selama lima tahun terakhir (Dinkes Sumenep, 2004).

Tabel 5.2 Angka Prevalensi dan CDR Kusta per 10.000 penduduk di Kecamatan Talango Tahun 1999-2004



(Sumber : Dinkes kabupaten Sumenep, 2004)

Dari berbagai data tersebut dapat disimpulkan bahwa masalah mendasar yang terjadi di Kecamatan Talango adalah kasus penemuan baru yang masih tinggi hingga tahun 2004 sebesar 32,6 per 10.000 penduduk. Banyaknya kasus baru berarti transmisi basil kusta ke lingkungan sekitar, secara umum dapat dikatakan masih cukup tinggi.

Karakteristik alam bagian barat dari Kecamatan Talango relatif lebih subur daripada bagian timurnya. Jumlah sumur yang terdapat di bagian barat juga lebih banyak, kualitas air bagus dan debit air cukup banyak. Kondisi sumur di bagian timur memiliki kondisi sebaliknya, jumlah lebih sedikit, kualitas jelek, beberapa air sumur diantaranya berbau dan debit air kurang. Desa Gapurana yang mewakili daerah endemis dengan angka prevalensi kusta rendah memiliki jumlah sumur sebanyak 35 yang tersebar di enam dusun (data tertulis di Lampiran 2).

Desa Kombang yang mewakili daerah endemis dengan angka prevalensi kusta tinggi, memiliki jumlah sumur sebanyak 34 yang tersebar di delapan dusun (data tertulis di Lampiran 2). Sumur adalah milik pribadi namun dapat dipakai pula oleh beberapa penduduk sekitar lokasi sumur termasuk penderita kusta. Berikut gambaran secara umum, sumur yang berada di kedua desa (Gambar 5.2).



Gambar 5.2 Lokasi sumur di kecamatan Talango

Mereka mandi di tempat sumur itu berada, karena letak sumur biasanya sangat jauh dari tempat tinggal mereka. Air yang dibawa pulang hanya untuk minum. Berikut cara mereka mengambil air dan mandi di dekat lokasi sumur (Gambar 5.3).



Gambar 5.3 Tempat mandi umum di kecamatan Talango

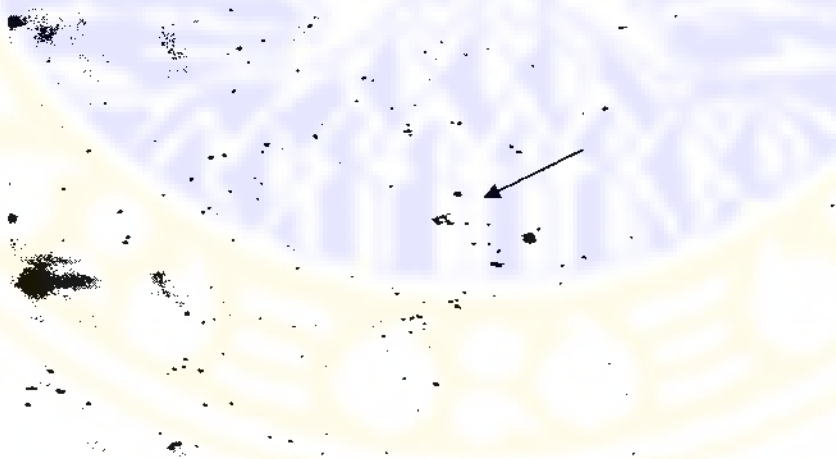
Dari beberapa pertanyaan yang diajukan, dapat diketahui bahwa penduduk di kecamatan Talango ternyata tidak memiliki *fobia* terhadap kusta dan penderitanya, dibandingkan dengan daerah diluar pulau Talango. Warga tidak merasa bahwa penyakit kusta adalah suatu aib, penyakit kutukan, dan bersifat memalukan. Penderita kusta masih dapat hidup sewajarnya diantara warga sekitar bahkan apabila penderita tersebut telah memiliki kecacatan, jika masih bisa bekerja maka mereka segera melanjutkan aktivitas bekerja. Hal ini dikarenakan pengetahuan mereka yang masih kurang terhadap penyakit kusta. Informasi yang mereka dapatkan kurang karena tempat mereka terpencil dan transportasi yang terbatas sehingga jauh dari fasilitas kesehatan. Mereka juga tidak tahu bahwa penyakit kusta adalah penyakit menular dan harus dicegah penyebarannya, maka dari itu persentase penemuan kasus baru (32,6 per 10.000 penduduk), penderita

MB (66,4%), angka kecacatan II (15,5%) dan penderita kusta pada usia anak-anak (11,6%), masing-masing masih tinggi.

Kurangnya informasi tentang kusta dan gejala awal dari penyakit kusta yakni bercak putih atau kemerahan yang memiliki kemiripan dengan penyakit kulit lainnya seperti *Pityriasis versicolor* (panu), dimana penyakit ini juga telah biasa dan banyak terjadi diantara warga desa, membuat penduduk Talango mengabaikan gejala awal kusta. Hal tersebut menjadi alasan mengapa mereka tidak pernah melapor/ memeriksakan diri ke petugas puskesmas sehingga deteksi dini penyakit kusta sulit untuk dilakukan.

5.1.2 Hasil deteksi basil *M.leprae* dengan pemeriksaan BTA dan PCR dari sampel air desa Gapurana dan desa Kombang

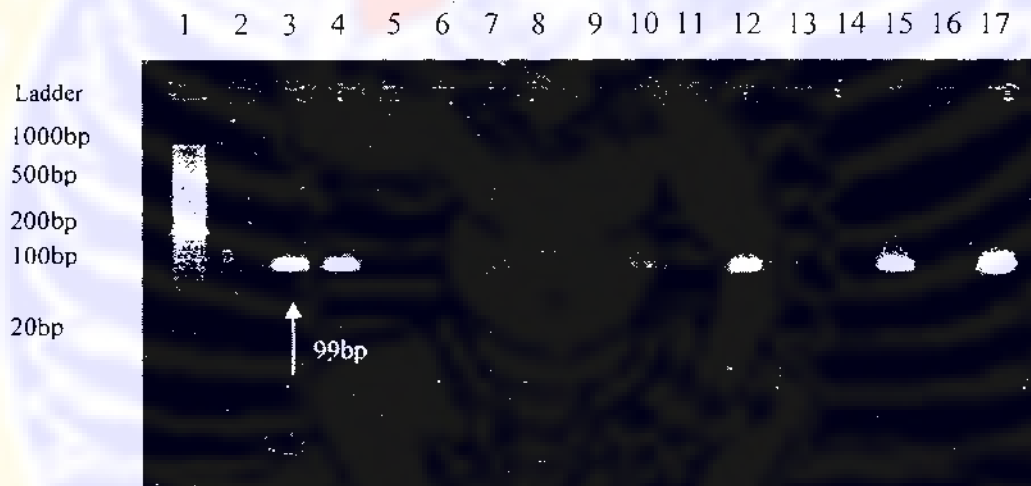
Pada penelitian ini, setiap sampel yang memenuhi kriteria dilakukan pemeriksaan bakteriologis dan dilakukan menurut skala Ridley-Jopling (hasil dapat dilihat pada Lampiran 2). Morfologi BTA yang rata-rata ditemukan pada sampel air di desa Gapurana dan desa Kombang sebagai berikut (Gambar 5.4).



Gambar 5.4 Basil Tahan Asam yang dideteksi dengan pewarnaan ZN (tanda panah)

Hasil dari pemeriksaan bakteriologis, didapatkan bahwa dari sampel air desa Gapurana ditemukan BTA positif sebanyak 8 sampel (22,86%) dari total 35 sampel dan dari desa Kombang ditemukan BTA positif sebanyak 7 sampel (20,6%) dari total 34 sampel.

PCR maupun pereaksi yang digunakan sudah terlebih dulu dilakukan optimasi baik sensitifitas dan spesifisitasnya sebelum penelitian dilakukan. Hasil deteksi basil *M.leprae* dengan teknik PCR yang positif ditandai dengan adanya produk amplifikasi DNA dengan ukuran 99 bp (Gambar 5.5).



Gambar 5.5 Hasil deteksi basil *M.leprae* dengan teknik PCR dari sampel air sumur Desa Kombang

Keterangan :

Pada hasil PCR tampak produk amplifikasi berada di daerah 99bp
Lane 1 : marker 20bp DNA ladder, *Lane 2-15* adalah sampel air.
Lane 16 : Kontrol Negatif, *Lane 17* : Kontrol Positif yakni DNA *M.leprae* Thai53 sebanyak 1pg/ μ l

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

Dari keseluruhan hasil deteksi basil *M.leprae* dengan teknik PCR didapatkan hasil PCR positif dari sampel air desa Kombang sebesar 13 sampel (38%) dari 34 total sampel dan PCR positif dari sampel air desa Gapurana sebesar 6 sampel (17%) dari total 35 sampel, data lengkap sebagai berikut (Tabel 5.3).

Tabel 5.3 Hasil deteksi basil *M.leprae* dengan PCR dari sampel air desa Kombang dan desa Gapurana

Asal Sumur	Hasil Deteksi PCR		Jumlah
	Positif	Negatif	
Desa Kombang	13 (68,4%)	21 (42%)	34 (49,3%)
Desa Gapurana	6 (31,6%)	29 (58%)	35 (50,7%)
Jumlah	19 (100%)	50 (100%)	69 (100%)

Fisher's exact test, $p = 0,045$, $df = 1$; χ^2 hitung (3,845) > χ^2 tabel (1;0,05)

Untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang bermakna dari kejadian DNA *M.leprae* positif hasil deteksi PCR antara sampel air yang diambil dari dua daerah endemik kusta berbeda prevalensi, maka perhitungan uji statistik *Chi-Square* diperoleh kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan PCR positif dari air sumur yang berasal dari daerah endemik kusta prevalensi tinggi dengan daerah prevalensi kusta rendah (lebih jelas dapat dilihat pada Lampiran 3).

Pada 69 sampel air yang berasal dari desa Kombang dan desa Gapurana, tercatat beberapa diantara sumur tersebut adalah tempat penderita mengambil air, yakni sebanyak 22 sumur dan lainnya tidak ada penderita (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran 2).

Dari seluruh sampel air yang diambil dari dua desa, dapat dirumuskan karakteristik sumur seperti berikut (Tabel 5.4).

Tabel 5.4 Hasil deteksi basil *M.leprae* dengan teknik PCR menurut data karakteristik pemakai sumur

Karakteristik Sumur	Hasil PCR		Jumlah
	Positif	Negatif	
Tidak ada Penderita	9 (47,4%)	38 (76%)	47 (68,1%)
Satu Penderita	8 (42,1%)	9 (18%)	17 (24,6%)
> 1 penderita	2 (10,5%)	3 (6%)	5 (7,2%)
Jumlah	19 (100%)	50 (100%)	69 (100%)

Data diatas (Tabel 5.4) menunjukkan bahwa hasil PCR positif berasal dari 8 (42,1%) sampel air sumur yang dipakai oleh 1 orang penderita kusta, 2 (10,5%) didapat dari sumur yang dipakai oleh lebih dari 1 penderita, dan 9 (47,4%) sumur tanpa penderita. Jika diuji statistik dengan FISHER's Exact test menggunakan program Statcal maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara hasil PCR positif dengan jumlah penderita kusta yang memakai air sumur, yakni $p > 0,05$ ($p = 5,367$) (Lampiran 4).

Pada 69 sampel air yang diambil dari desa kombang dan desa Gapurana, terdapat 13 penderita yang mengambil air merupakan penderita tipe PB dan 15 penderita tipe MB (data lengkap dapat dilihat pada Lampiran 5). Berikut hasil deteksi basil *M.leprae* dari sumur kedua desa tersebut menurut tipe penderita kusta yang mengkonsumsi air sumur (Tabel 5.5).

Tabel 5.5 Hasil deteksi basil *M.leprae* dengan teknik PCR pada sampel air menurut tipe kusta dari penderita yang mengkonsumsi air sumur

Tipe Kusta	Hasil Deteksi PCR		Jumlah
	Positif	Negatif	
Hanya PB	2 (10,5%)	7 (14%)	9 (13%)
Hanya MB	6 (31,6%)	3 (6%)	9 (13%)
Campuran (PB atau MB)	2 (10,5%)	2 (4%)	4 (5,8%)
Tidak Ada Penderita	9 (47,4%)	38 (76%)	47 (68,1%)
Jumlah	19 (100%)	50 (100%)	69 (100%)

Hasil PCR positif berasal dari air sumur yang dipakai oleh penderita dengan tipe PB sebanyak 2 (10,5%) sampel, 6 (31,6%) sampel berasal dari sumur yang dipakai oleh penderita tipe MB, 2 (10,5%) sampel berasal dari sumur yang dipakai oleh penderita PB maupun MB dan 9 sumur tanpa penderita. Uji statistik FISHER's Exact test menggunakan program Statcal menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara hasil PCR positif dengan tipe kusta $p > 0,05$ ($p = 8,993$) (Lampiran 5), namun dari data pada Tabel 5.5 dapat dilihat bahwa jumlah PCR positif pada air sumur yang tidak ada penderita dengan yang terdapat penderita, jumlahnya tidak terlampau jauh.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Gambaran umum

Penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Iswahyudi (2005) memberikan informasi tentang tingginya kasus seropositif terhadap anti-*M.leprae* antigen diantara para penduduk yang berada di wilayah Kecamatan Talango yakni desa Kombang dan desa Poteran yakni sebesar 20,7 % dari jumlah penduduk sehat di dua desa tersebut.

Tingginya jumlah seropositif terhadap anti-*M. leprae* antigen diantara para penduduk sehat di daerah endemik yang juga dilaporkan dalam penelitian Izumi, *et al*, (1998) menunjukkan bahwa sumber infeksi kusta mungkin berasal dari sesuatu hal yang secara intensif kontak dengan kehidupan sehari-hari penduduk daerah endemik kusta. Hal ini bisa berasal dari penderita yang belum diobati, kusta subklinis dan faktor lainnya yang berasal dari lingkungan. Dari beberapa hasil studi sero-epidemiologi yang dilakukan van Beers, *et al*, (1994) dan Izumi, *et al*, (1998) menunjukkan adanya dugaan kuat akan faktor lingkungan hidup di daerah endemik kusta sebagai sumber (*non-human reservoir*) basil kusta.

Berdasarkan penelitian Kazda, *et al* (1990), Matsuoka, dkk (1999) dan Izumi, dkk (2002) tentang deteksi *M.leprae* dari sampel air di daerah endemik kusta di India, Swedia serta Maluku utara dan Sulawesi (Indonesia), maka dipilihlah sampel air sebagai bahan penelitian untuk mempelajari *non-human reservoir* basil *M.leprae*.

6.2 Hasil deteksi basil *M.leprae* dengan pemeriksaan PCR dari sampel air

PCR dilakukan sebagai satu-satunya teknik untuk mendeteksi DNA *M.leprae* dari sampel air sumur, sedangkan pemeriksaan bakteriologis dengan pengecatan ZN dilakukan sebagai teknik pendukung bagi sampel yang akan dideteksi. Bagaimanapun pemeriksaan biologis tidak dapat dibandingkan dengan teknik PCR karena Basil Tahan Asam (BTA) yang dilihat pada sediaan sampel air bersifat tidak spesifik terhadap *M.leprae* tapi juga untuk mikobakteria lain semisal : *M.scrofulaceum*, *M. nonchromogenium*, *M. avium*, *M.terrae* (Ross, *et al*, 1997) lain halnya jika sediaan berasal dari sampel klinis misalnya sayatan lesi kulit (*skin slit smear*) maupun biopsi dari penderita kusta.

Ada beberapa cara spesifik yang dilakukan dengan metode PCR yang dikembangkan untuk mendeteksi DNA *M.leprae* guna kepentingan diagnostik, namun primer yang dirancang spesifik untuk *M.leprae* memiliki produk amplifikasi yang panjang. Misalnya primer yang dirancang oleh Hartskeerl, *et.al*, (1989) yang meamplifikasi gen daerah target 36 kDa antigen, memiliki produk amplifikasi sebesar 530 bp. Williams, *et. al* (1990) juga mendesain primer yang menyandi daerah gen 18 kDa antigen dan menghasilkan produk amplifikasi sebesar 360 bp, dan terakhir Plikaytis, *et.al* (1990) mencoba memakai teknik *nested* PCR mendesain primer yang menyandi daerah gen *groEL* (65 kDa antigen) menghasilkan produk outer 578 bp dan produk inner sebesar 347 bp. Produk amplifikasi yang relatif panjang ini memiliki beberapa kekurangan apabila DNA cetakan memiliki kualitas jelek misalnya rusak atau terfragmentasi.

Yoon, *et.al* (1993) menemukan daerah spesifik yang cukup sensitif yang berada pada daerah 18 kDa antigen namun terletak pada regio *repetitive element*

(RLEP) tepatnya RELP3 sequence X17153. Menurut Yoon, *et.al*, primer yang dirancang memiliki sensitifitas yang tinggi hingga 100ag (10^{-16} g) dari DNA target.

Dari hasil PCR yang dilakukan terhadap 34 sampel air sumur di desa Kombang didapatkan 13 sampel positif mengandung DNA *M.leprae* (38%) dan dari 35 sampel air sumur di desa Gapurana didapatkan 6 sampel positif mengandung DNA *M.leprae* (17%). Uji *Chi-Square* juga menunjukkan adanya perbedaan bermakna dari kejadian DNA *M.leprae* positif hasil deteksi PCR terhadap sampel air yang diambil dari dua desa berbeda prevalensi tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara prevalensi kusta dengan kejadian positif DNA *M.leprae* pada air sumur yang digunakan penduduk. Hasil ini sesuai dengan studi epidemiologi yang dilakukan Matsuoka, dkk (1999) terhadap sampel air sumur dan penduduk di daerah endemik kusta di propinsi Maluku utara, diantaranya yakni penduduk dengan angka prevalensi kusta tinggi (11,7%) berisiko memiliki sumur positif DNA *M.leprae* sebesar 3,24 kali lebih besar dibanding yang memiliki prevalensi rendah (tingkat kepercayaan 95%, CI 0,45-2,47). Hasil penelitian lebih lanjut dari sampel air sumur di desa Kombang dan Gapurana menunjukkan bahwa PCR positif terbanyak berasal dari sumur yang tidak ada penderita.

Uji statistik FISHER's Exact test menggunakan program Statcal (Lampiran 4) yakni $p > 0,05$ ($p = 8,993$) menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna dari banyaknya penderita yang menggunakan air terhadap kejadian positif DNA *M.leprae* dan jumlah PCR positif terbanyak berasal dari kelompok sumur yang tidak ada penderita. Sesuai teori bahwa kusta subklinis juga dapat menjadi sumber

penularan yang penting disamping kasus aktif, karena pada tahapan ini ternyata mampu mengeluarkan sekresi basil dari nasal yang bersifat *transient*/ sementara (Cree and Smith, 1998). Artinya bahwa kemungkinan hasil PCR positif terjadi pada sumur yang tidak terdapat penderita kusta, disebabkan oleh basil *M.leprae* yang terdistribusi di lingkungan sebagai akibat dari kusta subklinis diantara penduduk setempat maupun *non-human reservoir* basil *M.leprae*.

Uji statistik FISHER's *Exact test* menggunakan program Statcal (Lampiran 5) selanjutnya menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna yakni $p > 0,05$ ($p = 5,367$) antara tipe kusta dari penderita yang menggunakan air sumur dengan kejadian positif DNA *M.leprae* artinya kejadian positif DNA *M.leprae* pada air sumur tidak dipengaruhi oleh tipe kusta penderita dan angka kejadian positif DNA *M.leprae* terbanyak masih terdapat pada kelompok sumur tanpa penderita, hal ini juga menunjukkan bahwa transmisi basil *M.leprae* yang utama bukan hanya kontaminasi dari penderita kusta tapi juga dari faktor lingkungan daerah endemis kusta.

6.3 Peran Faktor Lingkungan Terhadap Alur Penularan *M. leprae* di Daerah Endemis Kusta

Tidak adanya informasi kesehatan yang cukup di masyarakat kabupaten Talango mengakibatkan penderita kusta tidak tahu bahwa kusta perlu dicegah penyebarannya sehingga jumlah penderita yang belum diobati dan yang belum terdaftar masih cukup banyak belum lagi ditambah jumlah kusta subklinis (KSS) diantara penduduk daerah endemik kusta, kasus kusta yang tidak terdeteksi ini diibaratkan seperti fenomena "gunung es". Sikap penduduk yang masih berpegang

teguh pada kebiasaan setempat dan kurangnya kesadaran akan kesehatan serta faktor *higine* membuat daur transmisi basil kusta tidak terputus. Kurangnya debit air di daerah kabupaten Talango mengakibatkan penduduk kurang memperhatikan faktor kebersihan sehingga dapat mengakibatkan penduduk berisiko terinfeksi basil kusta, oleh sebab itu terdapat kecenderungan desa yang memiliki prevalensi kusta tinggi adalah desa yang cenderung kering (jarang air).

Dari hasil penelitian dapat diketahui fakta bahwa terdapat sejumlah sampel sumur positif PCR namun tidak terdapat penderita. Hal ini menunjukkan adanya kemungkinan bahwa air dapat menjadi sumber infeksi kusta seperti halnya hasil penelitian yang dilakukan oleh Kazda, *et al* (1987) dan Chakrabarty dan Dastidar (2002) di India. Kemungkinan bahwa air dapat menjadi sumber infeksi kusta maupun hanya akibat tercemarnya air dari basil kusta yang berasal dari penderita yang belum diobati maupun dari kusta subklinis, diperlukan penelitian lebih lanjut terutama mekanisme transmisi basil kusta dari sumber air ke lingkungan, yakni bagaimana basil kusta dapat bertahan hidup di lingkungan mengingat bahwa *M.leprae* bersifat *obligate intracellular*. Sejauh ini informasi telah didapatkan dari penelitian yang dilakukan oleh Cirillo, dkk (1997) ditemukan bahwa *M.avium* dapat hidup dan berkembang biak dalam *Amoebae* dan ditegaskan oleh Jadin (1995) bahwa *M.leprae* ditemukan hidup di *Acanthamoeba culbertsoni*, sejenis *Amoebae* yang hidup bebas di lingkungan namun mekanisme penularan ke manusia juga masih perlu dipelajari lebih lanjut.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Dari hasil PCR yang dilakukan terhadap 34 sampel air sumur di desa yang memiliki prevalensi kusta tinggi didapatkan 13 sampel positif mengandung DNA *M.leprae* (38%) dan dari 35 sampel air sumur di desa yang memiliki prevalensi kusta rendah didapatkan 6 sampel positif mengandung DNA *M.leprae* (17%).
2. Uji Statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan PCR positif dari air sumur yang berasal dari daerah endemik kusta prevalensi tinggi dengan daerah prevalensi kusta rendah $p < 0,05$ ($p = 0,045$)

7.2 Saran

Bagi Peneliti :

Kemungkinan besar bahwa air dapat menjadi sumber infeksi kusta ataupun hanya akibat tercemarnya air dari basil kusta yang berasal dari penderita yang belum mendapat terapi, kusta subklinis ataupun berasal dari *non-human resources*, masih diperlukan penelitian lebih lanjut yang dapat menjelaskan mekanisme transmisi basil kusta yang sebenarnya terjadi di lingkungan alam daerah endemik kusta.

Bagi Pengelola Program :

Para pemegang program kesehatan P2PL hendaknya tetap melakukan penemuan kasus secara aktif untuk deteksi kusta secara dini untuk memutus daur transmisi kusta ke lingkungan sebagai upaya eradikasi kusta.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, AK, Lichtman, AH; Pober, JS. 2000. Cellular and Molecular Immunology. 4th ed. WB. Saunders Company. Philadelphia. p. 348-351.
- Agusni, I. 1997. Perubahan Pola Imunopatologik sebagai Indikator Untuk Penanganan Kusta Subklinik: Suatu Studi Observasional Longitudinal untuk Mendapatkan Dasar Kebijakan dalam Penanganan Kusta Stadium Subklinik. Disertasi. Program Pascasarjana 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. Balai Penerbit FKUI. Jakarta. hlm. 1-15.
- Amiruddin, MD dan 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. 260-271.
- Baison, KA. Dan Borne, BVD. 1998. Dimensions and Process of Stigmatization in Leprosy. Lep. Rev. 69: 341-350.
- Bakker, MI; Hatta, M, Kwenang, A; Klatser, PR and Oskam, L. 2002. Epidemiology of Leprosy on Five Isolated Islands in the Flores Sea. Indonesia. Trop Med and Int Health. 7(9): 780-787.
- Berg, SG and Black, WC. 2003. Cooling Towers-A Potential environmental Source of Slow-Growing Mycobacterial Spesies. AIHA J. 64: 238-242
- Blake, LA; West, BC; Lery, CH; and Todd, JR. 1987. Environmental Nonhuman Source of Leprosy. Rev. Infect Dis. 9 (3) 562-577.

- Bryccesson, B. 1990. A Practical Method of Active Case Finding and Epidemiological Assessment: It Origin and Application in Leprosy Control Project in Indonesia. *International Journal of Leprosy*. 65 (4): 487-491.
- Brooks,GF; Butel JS; Morse, SA. 2001. Jawetz, Melnick, Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran. Penerjemah dan Editor: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. 467- 468.
- Brown, T.A, 2002. *Human Genomes*, 2nd Ed., John Wiley and Sons Inc., NY, USA. 119-123.
- Carlston, MJ. 2001 *Mycobacterium leprae* Genome Sequence: A Landmark Achievement. *Lepr. Rev.* 72: 385-386.
- Chae, GT; Lee, SB; Kabg, TJ; Shin, HK; Kim, JP; Ko, YH; Kim, SH. and Kim, NH. 2002. Typing of Clinical Isolates of *Mycobacterium leprae* and Their Distribution in Korea. *Lepr. Rev.* 73: 41-46.
- Chang, CT; Wang, LY; Liao, CY. and Huang, SP. 2002. Identification of Nontuberculous *Mycobacteria* Existing in Tap Water by PCR- Restriction Fragment Length Polymorphism. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(6): 3159-3161.
- Chakrabarty, AN. 2001. Repeated isolation of nocardia like organisms from multibacillary cases of leprosy. *Indian J Lepr*, 57:247-262.
- Chakrabarty, AN; Destidar, BA. 2002. Is Soil an Alternative Source of Leprosy Infection. *Acta Leprologica* . 12: 79-84.
- Cirillo, JD; Falkow, S; Tomkins, LS and Bermudez, LE. 1997. Interaction of *Mycobacterium avium* with Environmental Amoebae Enhance Virulence. *Infect. Immun.* 65: 3759-3767
- Cole, ST; Brosch, R; Parkhil, J. 2001. Deciphering the Biology *Mycobacterium tuberculosis* from Genome Sequence. *Nature*. 393: 537-544.
- Cole, ST; Eigmeier. G and R; Parkhil. 2001. Massive Gene Decay in the Leprosy *Bacillus*. *Nature*. 409: 1007-1011.
- Cree, I.A, Smith, W.C, 1998. Leprosy Transmission and Mucosal Immunity: Towards eradication ?. *Lepr.Rev.* 69:112-121.
- Curtis, JEC; Jacobs, W; Docherty, MA; Ritchie, LR and Curtis III. R. 1985. Molecular Analysis of DNA and Construction of Genomic Libraries of *Mycobacterium leprae*. *J. Bacteriol.* 161 (3): 1093-1102.

- Curtis, JEC and Walsh GP. 1989. Conservation of Genomic Sequences among Isolates of *Mycobacterium leprae*. *J. Bacteriol.* 171 (9): 4844-4851.
- Day, R. 1999. Situasi Penyakit Kusta. Sub Direktorat Kusta. Ditjen PPM dan PPL. 1-7.
- Day, R. Program Pemberantasan Penyakit Kusta di Indonesia Hasil yang Dicapai dan Masalah. Pertemuan Ilmiah Tahunan (PIT) VI. Perhimpunan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin Indonesia dan Lokakarya Dermatopatologi Kusta. Makasar.
- Davey, R; and Young DB. 1978. Principles of Bacteriology, Virology and Immunity, Churchill-Livingstons, Edinburg pp 273
- Departemen Kesehatan RI. 1998. Materi Pelatihan Pemberantasan Penyakit Kusta Bagi Medis dan Paramedis. Direktorat Jenderal PPM dan PPLP. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1999. Pelaksanaan Program Leprosy Elimination Campaign di Indonesia. Direktorat Jenderal PPM dan PPLP. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2001. Data Subdit Kusta. Direktorat Jenderal PPM dan PPLP. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2002. Buku Pedoman Pemberantasan Penyakit Kusta. Direktorat Jenderal PPM dan PL. Jakarta.
- Desikan; Sreevatsa. 1995. Transmission *Mycobacterium leprae* in Bombay, India. *International journal of leprosy*, Vol 61, No.3, Page : 389-391.
- 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.
- Dinas Kesehatan Jawa Timur. 2004. Laporan Kusta Tahun 2004. Dinkes Jatim. Surabaya.
- Dinas Kesehatan kabupaten Sumenep. 2004. Laporan Kusta di Kecamatan Talango. UPTD Puskesmas Talango.
- Donoghue, H.D, Holton, J., Spigelman, M.. 2000., PCR primers that can detect low levels of *Mycobacterium leprae* DNA. *J.Med.Microbiol-Vol.50*, 177-182.
- Eiglmeir, K; Simon, S; Garnier, T. and Cole, ST. 2001. The Integrated Genome Map of *Mycobacterium leprae*. *Lepr. Rev.* 72: 462-469.
- Enger, H and Morel, CM. 2003 Disease Watch Focus: Leprosy. *Nat. Rev. Microbiol.* 1: 94-95.

- Estrada, B. 2001. Leprosy. *eMedicine Journal*. 2 (1): 1-13.
- Falkingham, JO. 2002. Nontuberculous Mycobacteria in the Environment. *Clin. Chest Med*. 23: 529-551.
- Fine, PM. 1982. Leprosy: The Epidemiology of A Slow Bacterium. *Epidemiol. Rev*. 4: 161-188.
- Fsihi, H and Cole, ST. 1995. The Mycobacterium leprae Genome: Systematic Sequence Analysis Identifies Key Catabolic Enzymes. ATP-dependent Transport Systems and A Novel *polA* locus associated with Genomic Variability. *Mol. Microbiol*. 16 (5): 909-919.
- Harboe, M. 1994. Overview of Host-Parasite Relation. In: Hastings, RC. *Leprosy*. Churchill Livingstone. Edinburg. p 87-112.
- Hartskeerl, RA; de Witt, Klatser, PR. 1989. Polymerase Chain Reaction for Detection of Mycobacterium leprae. *Int. J. Microbiol*. 135: 2357-2363.
- Hasibuan, B. 1994. Sosial-Budaya, Gangguan Emosi, dan Fisik Pasca Pengobatan Di Masyarakat Pedesaan Sumedang. *Medika*. 13 (27): 763-772).
- Hatta, M. 2003. Epidemiology of Leprosy: Molecular, and Biological, and Immunological Approach. *Adv. Exp. Med. Biol*. 531: 269-178.
- Helianti, I. 2003. Genom Mikroba, Proyek Masa Depan Manusia. *Hr. Kompas*, 27 April 2003.
- Hernani. 2002. Situasi Kusta di Indonesia. Simposium Kusta. Konas X PERDOSKI. Subdit P2 Kusta Depkes RI. Medan.
- Huang, C. 1980. The Transmission of Leprosy in Man. *Int. J. Lepr. and Microb. Disease*. 48 (3): 309-3191..
- Hughenoltz, P and Goebel. BM. 2001. The Polymerase Chain Reaction as a Tool to Investigate Microbial Diversity in Environmental Samples. In Rochelle, PA (eds). *Environmental Molecular Microbiology: Protocols and Application*. Horizon Scientific Press. California. 31-41.
- Iskandar, F; Amiruddin, MD; Maskur, Z; Tjahyadi, S. 1998 Hubungan Pemeriksaan Bakteriologis dan Pemeriksaan Serologis pada Penderita Kusta. *Jurnal Medika Nusantara*. 19 (1): 41-45.

- Izumi, S; Budiawan T; Matsuoka, M; Saeki, K; Kawatzu, K. 1998. Present Situation of Leprosy in Highly Endemic Area of Tropical Asia: A seroepidemiological Study of Mycobacterium leprae Infection in General Inhabitants. Nihon Hansenbyo Gakkai Zasshi. 67 (3) 401-408.
- Izumi, S; Matsuoka, M; Saeki, K; Kawatzu, K. 2002. An Epidemiological Study on Mycobacterium leprae and Prevalence of Leprosy. J. Clin. Microbiol. 32: 2430-2435.
- Izumi, S. Agusni, I. 2004. Global Situation of Leprosy and Recent Progress in Molecular Epidemiology the Disease. Nihon Hansenbyo Gakkai Zasshi. 73 (1) 37-46.
- Jadin, JB, 1975. Amibes limax vecteur possible de Mycobacteries et de *M.leprae*. Act. Lepral 59: 57-67
- Job, CK. 1981. Leprosy: The Source of Infection and Its Mode of Transmission. Lepr. Rev. (S): 69-76.
- Job, CK. 1994. Pathology of Leprosy. In: Hastings,RC. Leprosy. Churchill Livingstone. Edinburg. New York. p 193-224.
- Joklik, JK; Willet, HP; Amos, DB. 1992. Zinsser Microbiology. 20th ed. Churchill Livingstone. New York. P 516-522.
- Jones, L; Moszer, I. And Cole, ST. 2001. Leproma: A Mycobacterium leprae Genome Browser. Lepr. Rev. 72: 470-477.
- Kandouw, JM dan Amiruddin MD. 1998. Phenolic Glycolipid. Jurnal Medika Nusantara. 19 (2): 194-199.
- Kandouw, JM. 1999. Hubungan Tipe HLA dengan Kerentanan Tubuh pada Penyakit Lepra: Suatu Pendekatan Immunogenetik pada Populasi Etnik Bugis-Makasar. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Kandouw, JM. 2001. Histologi Dan Klasifikasi Lepra. Pertemuan Ilmiah Tahunan (PIT) VI. Perhimpunan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin Indonesia dan Lokakarya Dermatopatologi Kusta. Makasar.
- Kanomi, N; Lebowhl; Mowbray, K; Tattersall, I and Zhang, D. 2002. Detection of Mycobacterial DNA in Andean Mummies. J. Clin. Microbiol. 40(12): 4738-4740.
- Katoch, VM. 2000. Advances in The Diagnosis and Treatment of Leprosy. Expert Review in Molecular Medicine. 1-14.

- Katoch, VM; Sharma, VP. 2000. Recent Advances in The Microbiology of Leprosy. *Indian Journal of Leprosy*. 72 (3): 363-374.
- Katoch, VM. 2002. Mycobacterial Research in India: Successes and Challengers. *Indian J Med Microbial*. 20(4) 171-173.
- Kazda, J; Ganapati, R; Revankar, C; Buchanan, TM; Young, DB and Irgens, LM. 1986. Isolation of Environment-derived Mycobacterium leprae from Soil in Bombay. *Lepr. Rev*. 57S(3): 201-208.
- Kazda, J; Irgens, LM and Muller, K. 1980. Isolation of Non-Cultivable Acid-Fast Bacilli in Sphagnum and Moss Vegetation by Foot Pad Technique in Mice. *Int. J. Lepr. and Microb. Disease*. 48 (1): 1-6.
- Leslie, A.B, Burton, C.W, Lary, C.H, 1987. Environmental Nonhuman Sources of Leprosy. *Reviews of Infectious Disease*, Vol.9 No.3, 562-577.
- Matsuoka, M; Izumi, S; Budiawan T; Nakata, N. and Saeki, K. 1999, Mycobacterium leprae DNA in Daily Using as a Possible Source of Leprosy Infection. *Indian Journal of Leprosy*. 71 (1) 61-67.
- Matsuoka, M; Maeda, S; Kai, M; Nakata, N; Chae, GT, Gillis, TP; Kobayashi, K; Izumi, S; Kashiwabara, Y. 2000. Mycobacterium leprae Typing by Genomic Diversity and Global Distribution of Genotypes. *Int. J. Lepr*. 68(2): 122-128.
- Matsuoka, M; Zhang, L; Budiawan, T; Saeki, K and Izumi, S. 2004. Genotyping of Mycobacterium leprae on the Basis of the Polymorphism of TTC Repeats for Analysis of Transmission. *J. Clin. Microbiol*. 42(2): 741-745.
- Meyers, WM; Gormus, BJ. And Walsh, GP. 1992. Nonhuman Source of Leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 60 (3) 477-480.
- Misra, N; Ramesh. V; Misra, RS; Narayan, NPS; Coltson, MJ; Nat, I. 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.
- Noordeen, SK. 1994. The Epidemiology of Leprosy. In: Hastings.RC. *Leprosy*. Churchil Livingstone. Edinburg. p 29-43
- Nurjanti, L dan Agusni, I. 2002. Berbagai Kemungkinan Sumber Penularan M. leprae. *Berkala I.P. Kulit dan Kelamin*. 14 (3): 288-298.

- Ottenhoff .1994. The Immunology of Leprosy. In: Hastings,RC. Leprosy. Churchill Livingstone. Edinburg. p 29-43
- Peter, AR. 2003. Taxonomy and Clasification of Bacteria. In: Muray, PR; Baron,EJO; Prailler, MA; and Yolken, RH (Eds). Manual of Clinical Mycrobiology. 8th ed. ASM Washington DC.
- Pfyffer, GE; Elliot, BA. and Wallage, AR. 2003. Mycobacteria: General Charasterictics, Isolation, and Staining Prosedures. In: Muray, PR; Baron,EJO; Prailler, MA; and Yolken, RH (Eds). Manual of Clinical Mycrobiology. 8th ed. ASM Washington DC.
- 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.
- Rees, JW; Young, DB. 1994. The microbiology of Leprosy. In: Hastings,RC. Leprosy. Churchill Livingstone. Edinburg. p 47-98.
- Sangupta, U. 2000. Immunapathology of Leprosy: Current Status. Indian Journal of Leprosy. 72 (3): 381-387.
- Santos, AR; De Miranda, AB Sarno, EN; Suffys, PN; Degeave, WM. 1994. Use of PCR Mediated Amplification of Mycobacterium Leprae in Different Type of Clinical Sanples for The Diagnosis of Leprosy. J Med Microbiol. 39: 298-304.
- Sambrook,J; and Russell, DW. 2001. Molecular Cloning Volume 2. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY. P.8.1-8.96
- Smith, WC. 1996. Research Needs to Related to Disabilities and Rehabilitation. Int. J. Lepr. 64 (4): 52-64.
- Trautman, JR. 1994. The History of Leprosy. In: Hastings, RC. Leprosy. Churchill Livingstone. Edinburg.
- Vyas. GK., Dudani, IU. and 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; Kampirapap, K; Parrapakorn, S.1996. Detection of Mycobacterium leprae Infection by PCR. J. Clin. Microbiol. 33 (1): 45-49.
- World Health Organization. 1998. WHO Expert Committee on Leprosy. 7th ed. WHO Technical Report Series . No. 874.

World Health Organization. 2000. WHO Expert Committee on Leprosy. 8th ed. WHO Technical Report Series . No. 923.

Yoon, D.H., Cho, S.N., Lee, M.K.,1993. Evaluation of Polymerase Chain Reaction amplification of *Mycobacterium leprae*-specific repetitive sequence in biopsy specimens from leprosy patients. *J Clin Microbiol*; 31: 895-99.

Lampiran 1.

Penjelasan dan Informasi Penelitian

(Inform for informed consent)

Dari berbagai penelitian epidemiologi, timbul kecurigaan bahwa banyak individu yang terinfeksi basil kusta tanpa adanya sumber penularan yang jelas atau tidak ditemukannya penderita kusta yang menjadi sumber penularan, terjadi antara lain disebabkan oleh penularan secara tidak langsung yakni melalui lingkungan.

Pada penelitian ini akan dilakukan pemeriksaan terhadap seluruh air sumur yang berada di dua desa yang mewakili daerah prevalensi kusta tinggi dan daerah prevalensi kusta rendah di Kecamatan Talango Kabupaten Sumenep. Setiap sumur akan dideteksi kandungan DNA *M.leprae* dengan melakukan PCR yang sensitif dan spesifik terhadap basil kusta.

Sampel air yang telah diambil dilakukan *listing* pengguna sumur yaitu penduduk sekitar termasuk penderita kusta. Hasil deteksi PCR terhadap sampel air sumur akan diolah secara ilmiah dan hasil analisa dihubungkan dengan karakteristik penderita kusta dan penduduk di daerah tersebut.

Lampiran 2

Data Sampel Air Talango

Desa : Gapurana

No.	Nama Pemilik	Nama Penderita	Status	Dusun, Desa	PCR Lp1-Lp4	BTA
1	JUH	P.HOS MIF	PB	Bunis, GPRN	-	-
2	SAH	AS	PB	Bunis, GPRN	+	-
3	MIS			Bunis, GPRN	+	+
4	SUA	SUA	MB	Bunis, GPRN	-	-
5	MUS			Bunis, GPRN	-	-
6	ART	-		Bunis, GPRN	-	-
7	SUN	-		Bunis, GPRN	-	-
8	SUH	-		Jubluk Timur, GPRN	-	-
9	BIA	-		Jubluk Timur, GPRN	-	-
10	ARW	SWR	MB	Jubluk Barat, GPRN	-	-
11	ETK	AD	PB	Taroman, GPRN	-	-
12	NWR	SPR/AHM	PB	Taroman, GPRN	-	-
13	AMS	-		Taroman, GPRN	-	+
14	MNW	-		Bunis, GPRN	-	-
15	MAT	SLN	PB	Bunis, GPRN	-	+
16	RUH	-		Bunis, GPRN	-	-
17	ZAI	ZAI	MB	Saro'an Daja, GPRN	+	+
18	ATM			Saro'an Daja, GPRN	-	+
19	AHW	-		Saro'an Daja, GPRN	-	+
20	MSD	-		Saro'an Daja, GPRN	-	-
21	AMY	-		Saro'an Daja, GPRN	-	-
22	AMY	-		Saro'an Daja, GPRN	-	-
23	ASM	-		Saro'an Daja, GPRN	-	-
24	ANW	JUM	MB	Saro'an Daja,	+	+

				GPRN		
25	MUM			Saro'an Daja, GPRN	-	-
26	MTH	-		Saro'an Daja, GPRN	-	-
27	SUD	HAL	MB	Saro'an Daja, GPRN	+	+
28	ATR	-		Saro'an Daja, GPRN	-	-
29	MHW	-		Saro'an Daja, GPRN	-	-
30	SHW	-		Saro'an Daja, GPRN	-	-
31	ELN	IHJ	MB	Palasa, GPRN	-	-
32	BUK	BUK	PB	Palasa, GPRN	-	-
33	SHT	BID	MB	Palasa, GPRN	+	-
34	ZAI	-		Palasa, GPRN	-	-
35	AIN	FAD	PB	Palasa, GPRN	-	-

Desa : Kombang

No.	Nama Pemilik	Nama Penderita	Status	Desa	PCR Lp1-Lp4	BTA
1	ERN	MUA SBN	PB MB	Pocok, Talaga, KBG	-	+
2	HLK			Pocok, Talaga, KBG	-	-
3	MDI	MMS SWN	PB MB	Pocok, Talaga, KBG	-	-
4	P. MDI			Pocok, Talaga, KBG	-	-
5	H. SFL	H. JUP	MB	Pocok, Talaga, KBG	+	+
6	H. SWD			Pesisir, KBG	-	-
7	P. RSM			Pesisir, KBG	-	-
8	P. MAR			Pesisir, KBG	-	-
9	P. KAS			Pesisir Barat, KBG	+	+
10	P. IYS	ARL	MB	Pesisir Barat, KBG	+	-
11	H. NWW			Pesisir Barat.	+	-

				KBG		
12	MJI			Pesisir Timur, KBG	-	-
13	P. MRJ			Pesisir Timur, KBG	-	-
14	H. MHL			Pesisir Timur, KBG	+	+
15	H. MSD	DUM JMH P. AMJ	PB PB MB	Pesisir Timur	+	-
16	H. MSK			Pesisir Timur, KBG	-	-
17	HAL			Pesisir Timur, KBG	-	-
18	ETN			Lembana, KBG	+	+
19	H. MUD	P. MJK B.MYT H. FZD	MB MB PB	Lembana, KBG	+	2+
20	MSN	RUM	PB	Lembana, KBG	-	-
21	P. HDS			Lembana, KBG	-	-
22	H. SDI			Lembana, KBG	-	-
23	TUR			Talaga, KBG	-	-
24	H. MUN			Gelisek Daja, KBG	-	-
25	SYM, Sekolah MI	MOD	MB	Gelisek Daja, KBG	+	+
26	H. IBR			Gelisek Daja, KBG	-	-
27	H. SID			Gelisek Laok, KBG	+	-
28	H. IMM			Gelisek Laok, KBG	-	-
29	ZNL			Gelisek Laok, KBG	-	-
30	H. AZH			Gelisek Daja, KBG	+	-
31	MHR			Gelisek Daja, KBG	-	-
32	JED			Gelisek Daja, KBG	+	-
33	HMS			Gelisek Daja, KBG	-	-

34	BAS			Gelisek Daja, KBG	+	-
----	-----	--	--	----------------------	---	---

Lampiran 3

Hasil Uji Statistik *Chi-Square*

Kejadian PCR positif antara sampel air di daerah prevalensi kusta tinggi dan prevalensi kusta rendah

Chi-Square Test Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
SUMUR * PCR	69	100,0%	0	0%	69	100,0%

SUMUR * PCR Crosstabulation

SUMUR	kombang	Count	PCR		Total
			positif	negatif	
		Expected Count	9,4	24,6	34,0
		% within PCR	68,4%	42,0%	49,3%
	gapurana	Count	6	29	35
		Expected Count	9,6	25,4	35,0
		% within PCR	31,6%	58,0%	50,7%
Total		Count	19	50	69
		Expected Count	19,0	50,0	69,0
		% within PCR	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,845 ^a	1	,050		
Continuity Correction ^a	2,861	1	,091		
Likelihood Ratio	3,912	1	,048		
Fisher's Exact Test				,063	,045
Linear-by-Linear Association	3,790	1	,052		
N of Valid Cases	69				

- a. Computed only for a 2x2 table
- b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,36

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for SUMUR (kombang / gapurana)	2,062	0,76	6,151
For column PCR = positif	2,752	1,09	5,182
For column PCR = negatif	,745	0,60	1,011
N of Valid Cases	69		

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	,230			,050
Interval by Interval	Pearson's R	,236	,115	1,989	,051 ^c
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	,236	,115	1,989	,051 ^c
N of Valid Cases		69			

- a. Not assuming the null hypothesis
- b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.
- c. Based on normal approximation

Lampiran 4

Hasil Uji Statistik *Chi-Square*

PCR positif dengan jumlah penderita kusta yang memakai air sumur

Chi-Square Test
Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
JMLPNDRT * PCR	69	100,0%	0	,0%	69	100,0%

JMLPNDRT * PCR Crosstabulation

			PCR		Total
			positif	negatif	
JMLPNDRT	tidak ada penderita	Count	9	38	47
		Expected Count	12,9	34,1	47,0
		% within PCR	47,4%	76,0%	68,1%
	satu penderita	Count	8	9	17
		Expected Count	4,7	12,3	17,0
		% within PCR	42,1%	18,0%	24,6%
	lebih dari satu penderita	Count	2	3	5
		Expected Count	1,4	3,6	5,0
		% within PCR	10,5%	6,0%	7,2%
Total		Count	19	50	69
		Expected Count	19,0	50,0	69,0
		% within PCR	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5,293 ^a	2	,071
Likelihood Ratio	5,070	2	,079
Linear-by-Linear Association	3,894	1	,048
N of Valid Cases	69		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,38.