

DISERTASI

**ANALISIS POLA PENGULANGAN SEKUENS NUKLEOTIDA TTC
TARGET GEN RLEP3 X17153 *Mycobacterium leprae* PENDERITA
KUSTA DAN KONTAK SERUMAH PENDERITA KUSTA DI
PROVINSI SULAWESI TENGGARA**

**ANALYSIS OF REPEATING TTC NUCLEOTIDE SEQUENCES WITH
TARGET GENE RLEP3 X17153 *Mycobacterium leprae* OBTAINED
FROM PATIENTS & HOUSEHOLD CONTACTS IN SOUTHEAST
SULAWESI PROVINCE**



**AMIRUDDIN ESO
C0132182002**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

DISERTASI

**ANALISIS POLA PENGULANGAN SEKUENS NUKLEOTIDA TTC
TARGET GEN RLEP3 X17153 *Mycobacterium leprae* PENDERITA KUSTA
DAN KONTAK SERUMAH PENDERITA KUSTA
DI PROVINSI SULAWESI TENGGARA**

Disusun dan diajukan oleh

AMIRUDDIN ESO
C013182002

*Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Ujian Promosi Doktor dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal 23 Oktober 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 196711031998021001

Co Promotor

Prof. Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.DVE(K), FISDV, FAADV
NIP. 196602131996031001

Co Promotor

dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, PhD, Sp.MK(K)
NIP. 196909181996032001

Ketua Program Studi Doktor
Ilmu Kedokteran,

Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 196711031998021001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,

Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, SpPD-KGH, SpGK, FINASIM
NIP. 196805301996032001

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Amiruddin Eso

Nomor Pokok : C013182001

Program Studi : Doktor (S3) Ilmu Kedokteran FK Unhas

Menyatakan dengan ini karya tulis (disertasi) saya yang berjudul :

ANALISIS POLA PENGULANGAN SEKUENS NUKLEOTIDA TTC TARGET GEN RLEP3 X17153 *Mycobacterium leprae* PENDERITA KUSTA & KONTAK SERUMAH PENDERITA KUSTA DI PROVINSI SULAWESI TENGGARA.

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 22 Oktober 2024

Yang Membuat Pernyataan,



Amiruddin Eso

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah, Tuhan yang maha kuasa atas berkat dan karuniaNya penulis dapat menyelesaikan disertasi dengan judul “ANALISIS POLA PENGULANGAN SEKUENS NUKLEOTIDA TTC TARGET GEN RLEP3 X17153 Mycobacterium leprae PENDERITA KUSTA DAN KONTAK SERUMAH PENDERITA KUSTA DI PROVINSI SULAWESI TENGGARA” Disertasi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor di Universitas Hasanuddin, Program Studi Ilmu Kedokteran.

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada yang terhormat Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes sebagai promotor, Prof. Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.DVE(K), FINSDV, FAADV dan dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, PhD, Sp.MK(K) masing-masing sebagai ko-promotor yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis mulai dari pengembangan konsep permasalahan yang akan dikaji didalam penelitian, pelaksanaan penelitian sampai penyelesaian disertasi ini.

Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada penguji eksternal Takao Fujimura, PhD dari Jepang, penguji internal Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, PhD, Sp.MK(K), Prof. dr. Agussalim Bukhari, M.Med, PhD, Sp.GK(K), dr. Isra Wahid, PhD yang senantiasa memberikan masukan, saran dan motivasi.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih sebagai wujud penghargaan yang tulus kepada orang tua,

yang sudah mendoakan dan memberikan perhatian untuk keberhasilan dalam pendidikan S3 penulis.

Kepada istri dan anak yang selalu mendoakan, membantu, mendorong, pemberi motivasi dan semangat selama penulis menjalani pendidikan S3, penulis mengucapkan terima kasih dan rasa cinta yang dalam.

Penulis juga menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc
2. Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.GK, Sp.PD-KGH, FINASIM
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
3. Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran
Universitas Hasanuddin.
4. Staf Dosen S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin

atas kesempatan yang telah diberikan untuk mengikuti program Pendidikan S3 di Universitas Hasanuddin.

5. Staf administrasi sekretariat Prodi S3 Ilmu Kedokteran Universitas
Hasanuddin, Abdul Muin Amd.FT dan Rahmat. atas bantuan dan
dukungan administratif yang diberikan selama menjalani pendidikan
S3.
6. Teman-teman seperjuangan Arie Polim, Bayu Indra Sukmana,
Charles Hutasoit, Edyson, Evi Arifin, Fadli, Ferra Olivia, Herlina
Uinarni, Huldani, Iwan Effendi, Thomas Tommy, Yustinus Charles

Aristiyanto, untuk kebersamaan dan dukungan selama menjalani Pendidikan S3.

Kepada semua pihak yang telah ikut membantu, penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan disertasi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan disertasi. Akhir kata, semoga disertasi ini dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam dunia kedokteran.

Makassar, November 2024

Penulis

Amiruddin Eso

ABSTRAK

AMIRUDDIN ESO. *Analisis Pola Pengulangan Sekuens Nukleotida TTC Target Gen RLEP-3 X-17153 Mycobacterium Leprae Penderita Kusta & Kontak Serumah Penderita Kusta di Provinsi Sulawesi Tenggara* (dibimbing oleh Irfan Idris, Khairuddin Djawad, dan Rizalinda Sjahril).

Penelitian ini bertujuan mendeteksi keberadaan *Mycobacterium leprae* dan menganalisis pola pengulangan TTC pada pasien dan kontak serumah pasien kusta di Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia. Penelitian dilakukan pada 54 subjek yang terdiri atas 21 subjek pasien kusta (*index case*) dan 33 subjek kontak serumah pasien kusta (*household contact*). Sebanyak 25 sampel kulit yang diperoleh dari kerokan cuping telinga dan 54 sampel darah segar (*whole blood*) masing-masing 3 ml diperoleh dengan cara *antecubital venipuncture*. Sampel kulit pasien dan kontak serumah dilakukan pemeriksaan Ziehl Nelson untuk menentukan indeks bakteri dan indeks morfologi. Identifikasi DNA *Mycobacterium leprae* sampel darah dan kulit dilakukan melalui amplifikasi PCR dengan Nested 1 (primer Lp-1 dan Lp-2) dan Nested 2 (primer Lp-3 dan Lp-4) target gen RLEP-3 X-17153 *Mycobacterium leprae*. Hasil penelitian menunjukkan 18/25 (75%) sampel kulit menunjukkan PCR positif dan 42/54 (77.7%) pada sampel darah. Sejumlah tujuh sampel yang menunjukkan hasil sekuensing positif dengan pola pengulangan TTC bervariasi dari TTC-12, TTC-13, TTC-14, TTC-15 dan TTC-22. Mayoritas terdiri atas TTC-13 yang terdiri atas 2 sampel kulit dan 1 sampel darah. Seluruh hasil PCR positif dilakukan pemeriksaan analisis genotipe pada lokus TTC *Variable Number Tandem Repeat* dengan primer TTC-A dan TTC-B melalui metode Sanger Sequencing.

Kata kunci: *Mycobacterium leprae*, pengulangan TTC, target gen RLFP-3 X-17153



ABSTRACT

AMIRUDDIN ESO. *Analysis of Repetition Patterns of TTC Nucleotide Sequences Target Gene RLEP3 Mycobacterium Leprae of Leprosy Sufferers & Household Contacts of Leprosy Sufferers in Southeast Sulawesi Province* (Supervised by Irfan Idris, Kairuddin Djawad, and Rizalinda Sjahri)

This study aims to detect *Mycobacterium leprae*'s presence and analyze the TTC recurrence pattern in patients and household contacts of leprosy patients in Southeast Sulawesi Province, Indonesia. The research was conducted on 54 subjects consisting of 21 leprosy patient subjects (Index Case) and 34 leprosy patient household contact subjects (Household Contact). A total of 25 skin samples were obtained from ear lobe scrapings, and 54 fresh blood samples (whole blood) of 3 ml each were obtained by antecubital venipuncture. The examination of Ziehl Nelson of skin samples from patients and household contacts was carried out to determine the Bacterial Index and Morphological Index. Identification of *Mycobacterium leprae* DNA in blood and skin samples was carried out through PCR amplification with Nested 1 (primers Lp1 and Lp2) and Nested 2 (primers Lp3 and Lp4) targeting the RLEP3 X17153 *Mycobacterium Leprae* gene. Results showed that 18/25 (75%) of the skin samples showed positive PCR and 42/54 (77.7%) of the blood samples. A total of 7 samples showed positive sequencing results with varying TTC repeat patterns from TTC-12, TTC-13, TTC-14, TTC-15, and TTC-22. The majority consists of TTC-13, consisting of 2 skin samples and 1 (one) blood sample. All positive PCR results were examined for genotype analysis at the TTC Variable Number Tandem Repeat locus with primers TTC-A and TTC-B using the Sanger Sequencing method.

Keywords: *Mycobacterium Leprae*, TTC Repeat, RLEP3 Gene Target X17153



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI.....	iii
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SIMBOL/SINGKATAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	13
1.3. Tujuan Penelitian	14
1.4. Manfaat Penelitian	15
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tinjauan Mengenai Mycobacterium leprae	17
2.2. Tinjauan Mengenai Penyakit Kusta	21
2.3. Tinjauan Mengenai Teknik PCR pada DNA Mycobacterium leprae..	39
2.4. Tinjauan Mengenai Analisis Genotipe Mycobacterium Leprae dengan Pola Pengulangan Nukleotida TTC.....	45
2.5. Kerangka Teori.....	47
2.6. Kerangka Konsep.....	48
2.7. Hipotesis Penelitian	48
2.8. Definisi Operasional	48
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Desain Penelitian	51
3.2. Lokasi dan Waktu	51
3.3. Poupulasi dan Teknik Sampling	51
3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	51
3.5. Instrumen Pengumpulan Data	52
3.6. Pengumpulan Data	64
3.7. Alur penelitian dan Study site Sampel.....	66
BAB IV HASIL & PEMBAHASAN	
4.1. Hasil Penelitian.....	71
4.2. Pembahasan.....	98
4.3. Keterbatasan Penelitian.....	125
BAB V PENUTUP	
5.1. Kesimpulan.....	126
5.2. Saran.....	128
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Regimen pengobatan kusta menurut WHO	39
Tabel 2	Karakteristik Subjek Penelitian berdasar Usia, Jenis Kelamin, Status Subjek, Tempat Domisili dan Status Pengobatan Pasien	75
Tabel 3	Jenis dan Jumlah Sampel yang dianalisis menurut Lokasi Pengambilan Sampel	76
Tabel 4	Hasil Pemeriksaan Indeks Bakteriologis dan Indeks Morfologi Pasien Kusta Tipe MB	77
Tabel 5	Persentase PCR LP Positif berdasarkan Jenis Sampel	79
Tabel 6	Persentase PCR TTC Positif berdasarkan Jenis Sampel	79
Tabel 7	Persentase PCR LP Positif berdasarkan Status Subjek Penelitian	79
Tabel 8	Persentase PCR TTC Positif berdasarkan Status Subjek Penelitian	80
Tabel 9	Hasil Positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 pada Sampel Skin Smear, Nasal Swab dan Darah dengan menggunakan Primer Lp menurut Indeks Bakteri Pasien Kusta Tipe MB	81
Tabel 10	Hasil Positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 pada Sampel Skin Smear, Nasal Swab dan Darah dengan menggunakan Primer TTC menurut Indeks Bakteri Pasien Kusta Tipe MB	81
Tabel 11	Hasil Positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 pada Sampel Skin Smear, Nasal Swab dan Darah dengan menggunakan Primer Lp menurut Status Pengobatan Pasien Kusta Tipe MB	82
Tabel 12	Hasil Positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 pada Sampel Skin Smear, Nasal Swab dan Darah dengan menggunakan Primer TTC menurut Status Pengobatan Pasien Kusta Tipe MB	82
Tabel 13	Hasil Positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 pada Sampel Skin Smear, Nasal Swab dan Darah dengan menggunakan Primer Lp menurut Status Pengobatan Pasien Kusta Tipe MB pada Lokasi Kota Kendari	83
Tabel 14	Hasil Positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 pada Sampel Skin Smear, Nasal Swab dan Darah dengan menggunakan Primer Lp menurut Status Pengobatan Pasien Kusta Tipe MB pada Lokasi Kabupaten Muna	84
Tabel 15	Variasi Pengulangan TTC pada sampel Kulit, Nasal Swab dan darah	84
Tabel 16	Pola Pengulangan TTC menurut Rumah pasien di Lokasi Kota Kendari	85
Tabel 17	Pola Pengulangan TTC menurut Rumah pasien di Lokasi Kabupaten Muna	86

Tabel 18	Jumlah rumah dengan Jumlah Rumah dengan Kontak mendapatkan Transmisi dari Luar Rumah pada lokasi Kota Kendari	87
Tabel 19	Ada Tidaknya Perbedaan Strain Nasal-Skin Individu Pasien pada lokasi Kota Kendari	88
Tabel 20	Sumber transmisi Kontak Kota Kendari	89
Tabel 21	Jumlah rumah dengan Jumlah Rumah dengan Kontak mendapatkan Transmisi dari Luar Rumah pada lokasi Kabupaten Muna Kendari	90
Tabel 22	Ada Tidaknya Perbedaan Strain Nasal-Skin Individu Pasien pada lokasi Kabupaten Muna	90
Tabel 23	Sumber transmisi Kontak dalam Populasi di Kabupaten Muna	91
Tabel 24	Hasil Analisis Keragaman Haplotype dan struktur Populasi (Fst) antar Populasi di Sulawesi Tenggara	97

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Morfologi Mycobacterium leprae pada pewarnaan Ziehl Neelsen	18
Gambar 2	Beberapa jalur transmisi Mycobacterium leprae yang menunjukkan interaksi antara manusia, binatang, vektor dan lingkungan	21
Gambar 3	Ikatan antara PGL-1 dan LBP-21 dengan LAMA2 dan α Dystroglican pada lamina basalis sel Schwan	27
Gambar 1	Kusta tipe pausibasiler (PB)	35
Gambar 2	Kusta tipe multibasiler	35
Gambar 6	Summary Pengelompokan sequens RLEP	42
Gambar 7	Variasi Untaian element RLEP	42
Gambar 8	Susunan Untaian gen RLEP3	44
Gambar 9	Kerangka Teori	47
Gambar 10	Flow Chart Penelitian	66
Gambar 11	Flowchart study site dan hasil Positifitas TTC Kota Kendari	67
Gambar 12	Flowchart study site dan hasil Positifitas TTC Kabupaten Muna	68
Gambar 13	Flowchart study site dan hasil Positifitas Lp3-Lp4 Kota Kendari	69
Gambar 14	Flowchart study site dan hasil Positifitas Lp3-Lp4 Kabupaten Muna	70
Gambar 15	Peta Sulawesi Tenggara	71
Gambar 16	Penemuan Kasus baru Kusta per 100.000 penduduk menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Sulawesi Tenggara Tahun 2022	73
Gambar 17	Sebaran Sampel dalam Populasi Kabupaten Muna	74
Gambar 18	Sebaran Sampel dalam Populasi Kota Kendari	74
Gambar 19	Morfologi Mycobacterium leprae pada pewarnaan ZN	77
Gambar 20	Pohon Filogeni sampel dalam populasi dari Kedua Kabupaten dan Kota di Sulawesi Tenggara	93
Gambar 21	Haplotype yang ditemukan pada Lokasi Kabupaten Muna, Kota Kendari dan beberapa daerah dan negara lainnya di dunia.	94
Gambar 22	Gambaran Network Pemetaan Haplotype Dalam Populasi	96

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang dan Singkatan	Arti
°C	Derajat celcius
µm	mikrometer
%	Persentase
BB	Mid-Borderline
BL	Borderline Lepromatosa
BTA	Basil tahan Asam
BT	Borderline Tuberkuloid
CD4	Cluster of Differentiation 4
CD8	Cluster of Differentiation 8
dNTP	Deoksiribonukleotida trifosfat
dATP,	deoksiadenin trifosfat
dCTP	deoksisitosin trifosfat
dTTP	deoksitimidin trifosfat
DNA	deoxyribonucleic acid
IFN γ	Interferon gamma
IL-12	Interleukin-12
KCL	Kalium Klorida
kDa	protein size
Kemenkes	Kementerian Kesehatan
LL	Lepromatosa Lepromatosa
MB	Multibasiller
MDT	Multi drugs therapy
MHC	Major Histocompatibility Complex
M. Leprae	Mycobacterium leprae
NK Cell	Natural killer
NLR	NOD like receptors
PB	Pausibasiller
PBST	Physiologic Bufferd Saline- tween 20
PCR	Polymerase Chain Reaction
pH	Power of Hydrogen
PRR	Patern Recognition receptor
RI	Republik Indonesia
SIS	Sistem imunitas seluler
SM	Sebelum masehi
TBE	Tris Boric EDTA
Th-1	T-Helper 1
TLR	Toll-like receptor
tris-HCl	Tris Hydrochloride
TT	Tuberkuloid Tuberkuloid
WHO	World health organization
ZN	Ziehl-Neelsen

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kusta adalah penyakit infeksi kronis yang terutama mengenai kulit dan saraf perifer. (Chou & Poobalan, 2018) Penyakit kusta disebabkan oleh kuman *Mycobacterium leprae*, suatu bakteri obligat intraseluler. (Hajar, 2016) Penyakit ini masih endemik pada beberapa negara terutama pada negara berkembang dengan tingkat sosial ekonomi yang rendah. (Gama et al., 2018)

Menurut laporan *World Health Organization* (WHO) jumlah kasus kusta di dunia pada tahun 2018 sebanyak 17.017 kasus, tahun 2019 sejumlah 17.439 kasus, tahun 2020 sejumlah 11.173 kasus dan tahun 2021 sebanyak 10.976 kasus (WHO, 2022). Walaupun data jumlah kasus cenderung menurun, akan tetapi terdapat lonjakan jumlah kasus pada tahun 2019 dan 2020. Angka prevalensi kusta di Indonesia cenderung menurun pada tahun 2017 dan tahun 2018 sebesar 0,70 kasus/10.000 penduduk, akan tetapi terdapat peningkatan pada tahun 2019 yakni sebesar 0,74 kasus/10.000 penduduk. (Kemenkes RI, 2020) dan kembali menurun pada angka 0,45 kasus/10.000 penduduk pada tahun 2021. Namun demikian, masih ada beberapa propinsi di Indonesia yang belum eliminasi kusta seperti Sulawesi Utara, Gorontalo, Maluku, Maluku Utara, Papua Barat dan Papua. Berdasarkan data ini, status Sulawesi Tenggara sudah eliminasi kusta dengan angka prevalensi 0,86/10.000

penduduk dan jumlah kasus Kusta tipe PB dan MB sebanyak 232 kasus pada tahun 2021. (Kemenkes RI., 2022)

Penyakit kusta tidak hanya berdampak secara fisik berupa deformitas, disabilitas (Chou & Poobalan, 2018) dan nyeri neuropati (Toh et al., 2018), akan tetapi juga berkaitan dengan psikis berupa stigma masyarakat tentang penyakit ini (Kemenkes RI, 2018) dan dampak sosial berupa penurunan kualitas hidup yang ditimbulkan (Govindharaj et al., 2018). Meningkatnya pengetahuan masyarakat tentang penyebab, gejala, transmisi, pencegahan dan penanganan penyakit kusta dapat meningkatkan sikap positif masyarakat serta mengurangi stigma terhadap penyakit kusta. (Singh et al., 2019)

Transmisi penyakit kusta sampai saat ini masih belum dimengerti betul. (Chou & Poobalan, 2018). Saluran pernapasan atas diduga sebagai pintu masuk dan keluarnya kuman *Mycobacterium leprae*. (Patrocínio et al., 2005) Job, dkk menyatakan bahwa pasien kusta tipe MB yang tidak terobati dapat berkontribusi terhadap penyebaran *Mycobacterium leprae* ke lingkungan dan berisiko menular terhadap narakontak serumah melalui droplet dan bersentuhan dengan kulit penderita. (Job et al., 2008) Meskipun demikian, 95% yang terpapar *Mycobacterium leprae* tidak menderita penyakit kusta. (Chou & Poobalan, 2018).

Penularan melalui droplet yang berasal dari batuk atau bersin dari seseorang yang menderita kusta akan masuk ke sistem pernapasan seseorang yang melakukan kontak erat dengan pasien tersebut. Dalam suatu

rumah atau dalam komunitas, pasien kusta akan berinteraksi dengan orang serumah, tetangga atau hubungan sosial lainnya. (Turankar et al., 2014)

Menurut World Health Organization (WHO) yang dikatakan kontak adalah seseorang yang memiliki hubungan erat dengan pasien kusta yang belum diobati dalam jangka waktu 20 jam perminggu selama paling kurang 3 bulan dalam setahun. Kontak penderita kusta diklasifikasikan menjadi kontak serumah, kontak tetangga dan kontak sosial. (WHO, 2020)

Narakontak serumah (Household contacts) dianggap sebagai kelompok individu yang sangat rentan dengan penyakit karena mereka tinggal dekat dengan sumber infeksi. (Gama et al., 2018) Risiko tertular penyakit kusta 9 kali lebih tinggi pada narakontak serumah pasien kusta dan 4 kali lebih tinggi pada kontak tetangga dibandingkan dengan orang yang tidak ada kontak dengan pasien kusta. (Turankar et al., 2014) Narakontak serumah dianggap menjadi fokus epidemi dan cluster infeksi dalam transmisi kusta di masyarakat terutama jika jumlah anggota keluarganya banyak dan tinggal dalam serumah dengan pasien kusta. (Lavania et al., 2015) Akan tetapi, narakontak serumah dan bukan narakontak serumah memiliki risiko yang sama untuk menderita penyakit kusta. (Arsyad et al., 2012)

Penelitian yang dilakukan oleh (Romero-Montoya et al., 2017) menemukan 16% narakontak serumah dengan sampel nasal swab memiliki RLEP PCR positif dan 2 kasus baru kusta yang setelah dilakukan analisis genotipe mengkonfirmasi pendapat bahwa individu dapat terinfeksi oleh strain

yang sama dalam suatu keluarga. Narakontak serumah penderita kusta bukan hanya merupakan populasi dengan risiko tinggi untuk terinfeksi *M. Leprae*, akan tetapi juga sebagai carrier dan oleh karenanya berperan sebagai sumber transmisi dan infeksi. (Romero-Montoya et al., 2017)

Penelitian yang lain yang dilakukan oleh (Gama et al., 2018) ditemukan 23,89% basil DNA *Mycobacterium leprae* dengan qPCR pada sampel Slit Skin Smear (SSS) dan darah dari narakontak serumah pasien kusta yang sedang menjalani pengobatan. Hal ini mempertegas pendapat bahwa narakontak serumah berisiko tinggi terpapar *Mycobacterium leprae* karena hidup di sekitar sumber infeksi (Gama et al., 2018). Gunawan et al. (2019) melaporkan suatu kasus kusta tipe BL pada seorang anak laki-laki yang berusia 13 tahun yang memiliki kesamaan genotipe dengan ayahnya yang menderita kusta 12 tahun sebelumnya, sehingga dengan demikian penyebaran kusta diduga ditularkan dari ayah ke anak laki-lakinya. (Gunawan et al., 2019). Akan tetapi, belum dapat dipastikan bahwa anak laki-lakinya tersebut terinfeksi oleh ayahnya dan olehnya itu mungkin saja berperan sebagai carrier disebabkan pengobatan yang tidak adekuat dari orang-tuanya.

Beberapa penelitian menunjukkan hubungan kontak tetangga dan kontak sosial dengan penyakit kusta. Penelitian yang dilakukan oleh Feenstra, dkk menemukan hubungan bermakna kontak tetangga dengan penyebaran kusta sama pentingnya dengan narakontak serumah. (Feenstra et al., 2013)

Kontak sosial juga sangat berpengaruh pada penyebaran kusta di masyarakat. Kontak bisa dilakukan dengan teman sejawat, teman sekelas di sekolah termasuk guru, teman kelompok, teman kerja di perusahaan dan sebagainya, selain yang masuk dalam kategori kontak serumah dan kontak tetangga. (WHO, 2020) Penelitian yang dilakukan oleh Calado, dkk pada petugas kesehatan yang bekerja di Fasilitas Kesehatan di Brazil ditemukan 16% memiliki tes serologi positif (MLF positif) lebih tinggi pada daerah yang memiliki tingkat endemisitas yang rendah dibandingkan di tempat dimana pasien kusta dirawat secara langsung. (Calado et al., 2013) Penelitian lain terkait kontak sosial dilakukan oleh Sato, dkk (2022) pada anak sekolah yang mana didapatkan angka prevalensi 14% dan dari 63,6% sekolah yang disurvei 5,1 sampai 50% kontak sosial didapatkan PCR positif. (Sato et al., 2022)

Faktor lainnya yang berkaitan dengan transmisi penyakit kusta adalah kemampuan *Mycobacterium leprae* hidup di luar tubuh manusia. Matsuoka et al (2004) melaporkan bahwa lingkungan dianggap menjadi sumber infeksi penularan penyakit kusta di suatu daerah endemis kusta. Begitupula halnya kondisi geografis (Fontes et al., 2012) dan tempat kerja berkaitan dengan genotype *Mycobacterium Leprae* dan sebagai sumber infeksi terutama melalui air borne infection. (Fontes et al., 2017)

Kuman *Mycobacterium leprae* dapat ditemukan di lingkungan sekitar rumah penderita kusta.(Turankar et al., 2012). Kuman *Mycobacterium leprae* dapat dijumpai pada sampel tanah (Turankar et al., 2016), sampel air

(Wahyuni et al., 2010) dan pada armadillos (Oliveira Medeiros et al., 2019). Dengan demikian, armadillos dan lingkungan sekitar pasien kusta patut diduga sebagai reservoir dan sumber infeksi transmisi penyakit kusta selain manusia. (Ploemacher et al., 2020)

Pemeriksaan Slit skin Smear merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium yang direkomendasikan oleh WHO dalam penegakan diagnosis penyakit kusta. (Chou & Poobalan, 2018) Pemeriksaan Skin smear secara mikroskopis digunakan untuk mendeteksi Basil Tahan Asam pada spesimen skin smear yang diperoleh dari lokasi standar yakni lesi kulit, kuping telinga dan siku yang dilakukan dengan teknik pewarnaan Ziehl Neelsen. Hasilnya memungkinkan untuk dilakukan penentuan indeks morfologi dan indeks bakteriologis. Indeks Morfologi (IM) menentukan apakah basil *Mycobacterium leprae* viable atau tidak direpresentasikan dengan presentasi basil yang intak terhadap seluruh basil yang diperiksa. Basil yang intak dapat diamati pada kasus kusta sebelum pengobatan atau pada pasien kusta yang relaps. Basil yang fragmented akan teramati pada pasien kusta yang sedang menjalani pengobatan. Indeks Bakteri merepresentasikan jumlah basil yang didapatkan pada pemeriksaan mikroskopik dengan skala logaritma dari 0 sampai 6+ dan positif pada tipe Multibasiler dan Sensitifitas yang rendah pada tipe PB. (Lastoria & de Abreu, 2014) Kombinasi antara pemeriksaan klinis, histopatologis dan indeks bakteriologis sangat membantu dalam penegakan diagnosis kusta. (Naik et al., 2022)

Pemeriksaan molekuler dengan uji amplifikasi asam nukleat (NAAT) melalui Polymerase Chain Reaction (PCR) sangat penting dalam manajemen klinik penyakit infeksi. Uji ini rutin digunakan secara klinis pada kasus tuberculosis, akan tetapi belum dilakukan secara luas pada kasus kusta. (Tatipally et al., 2018). Beberapa pemeriksaan gen dalam mendeteksi *Mycobacterium leprae* yang sering dipakai adalah gen RLEP, 16S rRNA, SodA, dan rpoT. (Turankar et al., 2015)

Pemetaan genom *Mycobacterium leprae* telah selesai dilakukan pada tahun 2000 dengan DNA sepanjang 3.268.203 basepair (bp) dan diketahui bahwa genom *Mycobacterium leprae* memiliki 3 pengulangan utama yakni RLEP, REPLEP dan LEPREP yang mana pengulangan menunjukkan mozaik genom *M. leprae* yang mencerminkan beberapa peristiwa rekombinasi antara urutan berulang yang terkait. (Cole et al., 2001)

Genome *Mycobacterium leprae* mengandung 28 salinan untai berulang yang tersebar, Repetitive Element (RLEP). Salinan urutan spesifik berulang diketahui berada pada fragment distal gen groE-L. RLEP terdiri dari 545 bp di bagian tengah dan diapit oleh 100 bp pada ujung kiri dan 44 bp ujung kanan, kadang-kadang memanjang sampai 47 bp. Terdapat beberapa lokus RLEP1, RLEP2/3, RLEP4, RLEP5 sampai RLEP15. RLEP2 dengan akses nomor lokus X17151, RLEP4 dengan akses nomor lokus X17152 dan RLEP3 dengan akses nomor lokus X17153. *Mycobacterium leprae* RLEP3 dengan lokus X17153 merupakan salah satu strain *Mycobacterium leprae* dengan

untaian DNA terbentang dari 1-1120 bp sebagaimana dilaporkan oleh Woods dan Cole (1990).

Pemetaan genom regio RLEP masih terus dilakukan dengan pemeriksaan genom secara lengkap dari *Mycobacterium leprae* dan pemberian nama strain sesuai dengan lokus. Lokus APO14567.1 dengan koordinat 1.009.263-3.247.838 bp untuk strain *Mycobacterium leprae* Kyoto-2, lokus FM211192.1 dengan koordinat 1.009.366-3.247.787 bp untuk strain *Mycobacterium leprae* Br432 dan lokus CPO29543.1 dengan koordinat 1.373.651-2.085.813 bp untuk strain *Mycobacterium leprae* MRHRU.

Pemeriksaan target gen RLEP (*M. leprae* Repetitive element) terbukti sangat sensitif dalam mendeteksi adanya *Mycobacterium leprae* dibandingkan dengan gen 16S rRNA, SodA, dan rpoT pada spesimen slit skin smear (SSS), sampel darah, dan sampel tanah dari sekitar rumah pasien kusta. (Turankar et al., 2015). Bahkan, pemeriksaan gen RLEP dengan spesimen Slit Skin Smear ini dianggap sebagai uji diagnostik yang definitif untuk pasien kusta dewasa dan anak-anak. (Kamal et al., 2016) Selain itu, kombinasi RLEP/16S rRNA Real Time qPCR dengan menggunakan nasal swab, sensitif dan spesifik untuk menentukan viabilitas bakteri *Mycobacterium leprae*. (Beissner et al., 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni, dkk. pada sampel air menggunakan gen RLEP3 dengan primer Lp1, Lp2, Lp3 dan Lp4 membuktikan keberadaan *M. leprae* pada sumber air minum pasien kusta, akan tetapi tidak berkorelasi secara statistik dengan adanya kasus kusta.

(Wahyuni et al., 2010). Pemeriksaan dengan menggunakan gen RLEP3 juga dilakukan oleh Tio Coma dkk yang mana ditemukan DNA *M. leprae* pada sampel tanah di sekitar tempat tinggal pasien kusta untuk memastikan bahwa lingkungan sebagai reservoir untuk *M. leprae*. (Tió-coma et al., 2019) Pemeriksaan gen RLEP3 target X17153 dengan primer Lp1, Lp2, Lp3 dan Lp4 yang dilakukan oleh Adriaty et al. (2020) menggunakan sampel nasal swab menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil PCR positif antara siswa daerah Lamongan dan Pacitan. Hal yang serupa dilakukan oleh (Prakoewa et al., 2019) yang membandingkan antara sampel penderita kusta di Bandung dan Surabaya tetapi dengan menggunakan sampel slit skin smear didapatkan profil yang identik.

Berdasarkan penjelasan tersebut di atas, maka target gen RLEP3 X17153 tampaknya dapat digunakan untuk memastikan keberadaan *Mycobacterium leprae* pada sampel pasien kusta dan lingkungan di sekitar pasien kusta. Namun demikian, belum diketahui pasti mengenai transmisi penyakit kusta terhadap narakontak serumah; apakah narakontak serumah terinfeksi oleh pasien kusta ataukah narakontak serumah menjadi carrier ataukah lingkungan sekitar pasien kusta menjadi sumber infeksi pada pasien kusta dan narakontak serumah. Untuk menjawab itu semua diperlukan suatu analisis genotype dari *Mycobacterium leprae*.

Analisis genotype *Mycobacterium leprae* bertujuan untuk mengidentifikasi strain dan sumber transmisi *Mycobacterium leprae*.

(Matsuoka et al., 2004a) Selain itu, analisis ini dilakukan untuk mengetahui apakah pasien-pasien yang terinfeksi memiliki strain dan pola transmisi yang sama. (Gunawan et al., 2019) Analisis genotipe kuman ini dapat dilakukan dengan menggunakan teknik Multiple locus variable number of tandem repeat analysis (MLVA) dan single nucleotide polymorphism (SNP) terutama pada daerah endemik. (Lavania et al., 2013)

Analisis genotipe dengan menggunakan teknik MLVA telah banyak dilakukan dan dengan menggunakan beberapa marker seperti TTC, AC8a, AC9 dan 6-7. (Prakoewa et al., 2019). Regio pengulangan TTC menjadi menarik untuk dilakukan penelitian ini mengingat fenomena pengulangan TTC ini spesifik hanya ditemukan pada *Mycobacterium leprae* dan tidak ditemukan pada spesies *Mycobacterium* lainnya. Variasi pengulangan TTC tergantung strain *Mycobacterium leprae* di daerah tersebut.

Analisis pengulangan nukleotida TTC diperkenalkan pertama kali oleh Shin, dkk yang dilakukan untuk membedakan strain *Mycobacterium leprae*. (Shin et al., 2000) Pada penelitian ini ditemukan sekitar 10-37 kali pengulangan TTC dengan menggunakan spesimen biopsi kulit pada pasien kusta tipe MB di Filipina. Hal ini mengindikasikan bahwa VNTR dari TTC dapat digunakan untuk membedakan strain pada penelitian epidemiologik dari penyakit Kusta. Pengulangan TTC ini spesifik untuk *Mycobacterium leprae* dan tidak didapatkan pada genus *Mycobacterium* lainnya. (Shin et al., 2000)

Penelitian selanjutnya yang menggunakan marker genetik TTC yang dilakukan oleh (Matsuoka et al., 2004a) pada pasangan ayah dan anak laki-laki penderita kusta Tipe MB ditemukan adanya perbedaan genotipe pada penderita tersebut dengan kedua saudara laki-lakinya. Hal ini mengungkapkan bahwa selain terpapar oleh adanya pasien kusta tipe MB dari anggota keluarganya yang tinggal serumah dengannya, ada kemungkinan adanya beberapa sumber infeksi yang berasal dari luar tempat tinggal mereka. (Matsuoka et al., 2004a)

Penelitian yang dilakukan oleh Adriaty (2012) pada sampel kerangka tulang mandibula dan pada biopsi kulit pasien kusta MB di Nusa Tenggara Timur menemukan perbedaan jumlah pengulangan TTC pada kedua sampel sehingga lebih lanjut diperlukan verifikasi tentang perbedaan genom. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Prakoeswa, dkk (2019) menggunakan spesimen sayatan kulit dengan marker gen TTC, AC8a, AC9 dan 6-7 menemukan adanya profil yang identik antara sampel dari Bandung dan Surabaya. Hal ini memperkuat argumen untuk penggunaan Variable Number Tandem Repeat (VNTR) dalam mengetahui pola transmisi penyakit kusta di masyarakat. (Sigit Prakoeswa et al., 2019).

Penelitian ini dimaksudkan untuk menjawab pertanyaan tentang transmisi kuman *Mycobacterium leprae* akibat kontak dari manusia ke manusia lainnya dan antara manusia dan lingkungan. Oleh karena itu, maka jika ditemukan kuman *Mycobacterium leprae* pada narakontak serumah, maka ada

dua kemungkinan proses transmisi atau penularannya. Pertama, Jika strain *Mycobacterium leprae* yang ditemukan pada narakontak serumah pasien kusta sama dengan strain yang diperoleh pada penderita kusta, maka kemungkinan besar sumber penularannya berasal dari pasien kusta. Kedua, apabila strain *Mycobacterium leprae* yang ditemukan pada narakontak serumah pasien kusta berbeda dengan strain yang diperoleh pada penderita kusta, maka kemungkinan besar sumber penularannya berasal dari luar lingkungan sekitar rumah pasien kusta.

Apabila ditemukan kuman *Mycobacterium leprae* pada lingkungan sekitar manusia, maka ada dua kemungkinan. Pertama, jika basil kuman *Mycobacterium leprae* yang ditemukan menunjukkan genotipe yang sama dengan kuman yang diperoleh dari pasien kusta, maka kemungkinan besar kuman tersebut berasal dari penderita kusta mengingat sifat kuman *Mycobacterium leprae* obligat intraseluler dan bisa bertahan selama maksimal 40 hari di lingkungan. Kedua, apabila genotipe basil *Mycobacterium leprae* berbeda dengan pasien kusta, maka kemungkinan kuman tersebut berasal dari sumber lain selain manusia.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah:

- a. Bagaimana pola pengulangan nukleotida TTC Target gen RLEP3 X17153 *Mycobacterium leprae* dari isolat spesimen nasal swab, skin smear dan darah pada pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta?
- b. Apakah kontak serumah terpapar oleh strain bakteri *Mycobacterium leprae* yang sama dengan pasien kusta?
- c. Apakah pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta terpapar oleh strain yang berasal dari tempat yang lain?
- d. Bagaimana gambaran hasil positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 dengan menggunakan primer LP1,2-Lp3,4 dan Primer TTCA-TTCB pada sampel kulit pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta?
- e. Bagaimana gambaran hasil positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 dengan menggunakan primer LP1,2-Lp3,4 dan Primer TTCA-TTCB pada sampel nasal swab pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta?
- f. Bagaimana gambaran hasil positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 dengan menggunakan Primer LP1,2-Lp3,4 dan primer TTCA-TTCB pada sampel darah pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui sumber transmisi kuman *Mycobacterium leprae* pada pasien kusta dan kontak serumah dengan menganalisis perbedaan genotipe *Mycobacterium leprae* yang ditemukan pada pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

- a. Untuk mengetahui gambaran pola pengulangan nukleotida TTC Target gen RLEP3 X17153 *Mycobacterium leprae* dari isolat skin smear, nasal swab dan darah pada pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta
- b. Untuk mengetahui strain bakteri *Mycobacterium leprae* pada pasien kusta apakah memiliki kemiripan dengan kontak serumah pasien kusta
- c. Untuk mengetahui apakah pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta terpapar oleh strain yang berasal dari tempat yang lain
- d. Untuk mengetahui gambaran hasil Positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 dengan menggunakan Primer LP1,2-Lp3,4 dan Primer TTCA-TTC B pada sampel skin smear pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta
- e. Untuk mengetahui gambaran hasil Positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 dengan menggunakan Primer LP1,2-Lp3,4 dan Primer TTCA-

TTCB pada sampel nasal swab pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta

- f. Untuk mengetahui gambaran hasil Positifitas PCR Target Gen RLEP3 X17153 pada Sampel Darah dengan menggunakan Primer LP1,2-Lp3,4 dan Primer TTCA-TTCB pada sampel whole blood pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoretis

Manfaat teoretis penelitian ini adalah Memberikan masukan terhadap pengembangan ilmu pengetahuan terutama bidang kedokteran tentang pola transmisi penyakit kusta di masyarakat.

1.4.2. Manfaat Aplikatif

Manfaat aplikatif penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Sebagai sumber informasi kepustakaan berkaitan dengan transmisi penyakit kusta dengan menganalisis keterkaitan genotipe strain *Mycobacterium leprae* antara pasien kusta dan narakontak pasien kusta.
- b. Menambah pengetahuan dan informasi keluarga dan penderita tentang penyakit kusta untuk dapat menghindari resiko kejadian kusta.
- c. Menambah wawasan bagi para praktisi kesehatan tentang pentingnya deteksi dini penyakit kusta dengan pendekatan laboratorium biologi

molekuler tanpa terlepas dari anamnesis dan pemeriksaan fisis serta laboratorium konvensional

- d. Memberikan edukasi kepada masyarakat tentang pola penularan penyakit dan dinamika transmisi yang bisa dijelaskan secara genetika populasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Mengenai *Mycobacterium leprae*

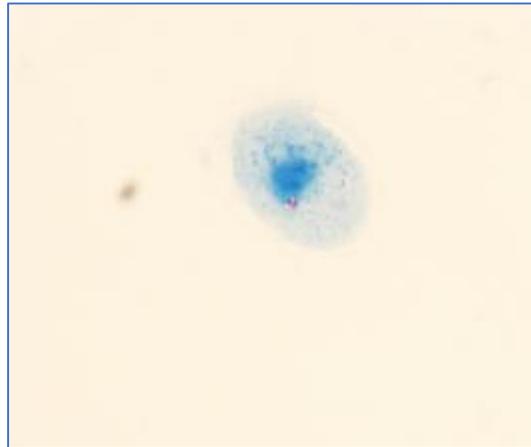
2.1.1. Taksonomi *Mycobacterium leprae*

Menurut (Lastória & de Abreu, 2014), taksonomi *Mycobacterium leprae* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Actinobacteria
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Ectinomycetales
Famili	: Mycobacteriaceae
Genus	: Mycobacterium
Spesies	: <i>Mycobacterium leprae</i>

2.1.2. Morfologi *Mycobacterium leprae*

Mycobacterium leprae merupakan bakteri obligat intraseluler. (Hajar, 2016) Bakteri ini berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung dengan ujung bulat berukuran 1,5-8 mikron dan diameter 0,2-0,5 mikron. (Lastória & de Abreu, 2014) Pada jaringan yang terinfeksi, basil lepra tersusun bersama-sama membentuk globi. (Eichelmann & González, 2013)



Gambar 1. Morfologi *Mycobacterium leprae* pada pewarnaan Ziehl Neelsen dikutip dari (Wahyuni et al., 2010)

Gambaran mikroskopis dari basil *Mycobacterium leprae* terdiri dari sitoplasma, membran plasma, dinding sel dan kapsul. (Lastória & de Abreu, 2014) Sitoplasma ; memiliki struktur seperti mikroorganisme gram positif lainnya. Kandungan bagian dalam dari sel terdiri dari timbunan granul, materi genetik asam deoksiribonukleat (DNA), dan ribosom yang merupakan protein yang mengalami translasi dan multiplikasi. (Hajar, 2016) Membran plasma; hanya melekat dibawah dinding sel, merupakan membran untuk transpor molekul ke dalam dan keluar dari mikroorganisme. Membran terdiri dari lipid dan protein, suatu 'protein permukaan antigen'. (Lastória & de Abreu, 2014) Dinding sel; melekat pada membran plasma, terdiri dari dua lapisan : Lapisan luar dan lapisan dalam. (Hajar, 2016) Lapisan luar berupa lipoarabinomanan, suatu lipopolisakarida yang berperan sebagai antigen untuk makrofag dan lapisan dalam yang terdiri dari peptidoglikan. (Eichelmann & González, 2013)

Kapsul; terdiri dari dua jenis lipid: phthioceroldimycoferosate yang dianggap berperan pada perlindungan pasif, phenolic glycolipid-1, yang terdiri dari tiga molekul gula sebagai antigen yang spesifik. (Brennan & Spencer, 2019)

2.1.3. Sifat Pertumbuhan

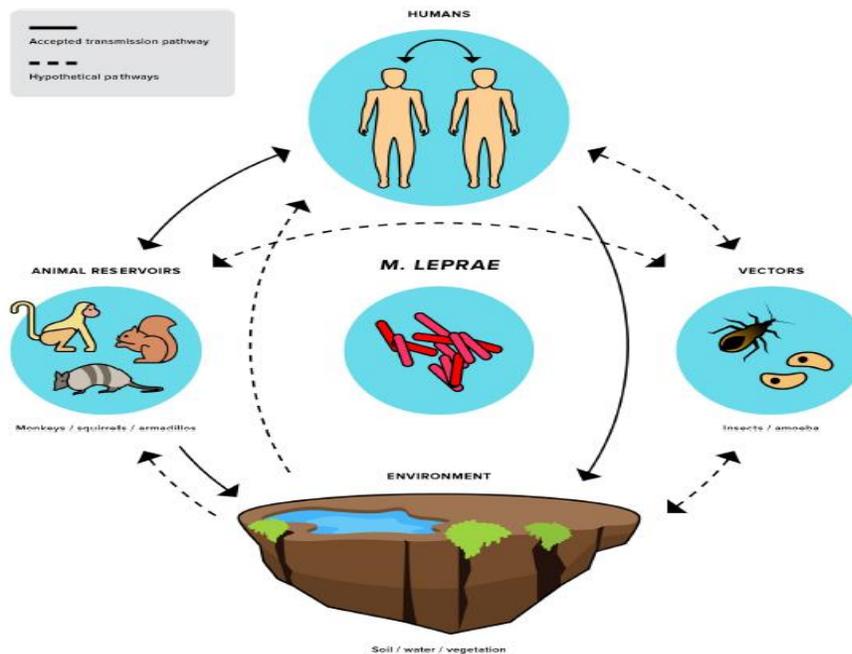
Seperti halnya *Mycobacterium* lainnya, *Mycobacterium leprae* bereplikasi dengan cara binary fission. (Eichelmann & González, 2013) Suhu yang dibutuhkan untuk berkembang biak dan bertahan hidup berkisar antara 27-30 °C. (Lastória & de Abreu, 2014) Jaringan tubuh yang sering mengalami infeksi basil ini adalah pada daerah permukaan tubuh seperti kulit, mukosa saluran napas dan saraf perifer. (Eichelmann & González, 2013) *Mycobacterium leprae* belum dapat dikultur pada laboratorium. (Chou & Poobalan, 2018) Kuman ini menular kepada manusia melalui kontak langsung yang sering dan lama dengan penderita. Bakteri kusta mampu bertahan dalam waktu 9 hari diluar tubuh manusia kemudian kuman bereplikasi dalam jangka 14-21 hari dengan masa inkubasi rata-rata 2-5 tahun bahkan lebih dari 5 tahun (Kemenkes RI, 2018)

2.1.4. Mekanisme transmisi

Pengetahuan tentang epidemiologi penyakit berupa faktor-faktor yang berpengaruh terhadap keberlangsungan penyakit sangat dibutuhkan di dalam pencegahan penyakit. (Prakoewa & Sutrisna, 2017) Timbulnya penyakit merupakan suatu interaksi antara pejamu (host), kuman (agent) dan lingkungan (Partogi et al., 2018). Hal ini terjadi melalui suatu proses yang

dikenal dengan rantai penularan (transmisi) berupa: penyebab, sumber penularan, cara keluar dari sumber penularan, cara penularan, cara masuk ke pejamu dan pejamu. (Kemenkes RI, 2019)

Mekanisme transmisi *Mycobacterium leprae* belum diketahui dengan pasti. (Chou & Poobalan, 2018) Penularan secara droplet dari pasien yang terinfeksi *Mycobacterium leprae* akibat kontak yang erat dan lama diduga kuat sebagai penyebab utama. (Pinheiro et al., 2011) Predileksi *Mycobacterium leprae* adalah sel Schwann. Hal ini dapat dijelaskan dengan ikatan spesifik dengan rantai Laminin- α 2 yang diekspresikan oleh lamina basalis saraf perifer. (Eichelmann & González, 2013) Jalur utama penularan adalah melalui mukosa hidung. Penularan juga dapat terjadi oleh erosi kulit. (Lastória & de Abreu, 2014) Manusia adalah reservoir utama *Mycobacterium leprae*, namun beberapa jenis hewan seperti armadillo, simpanse, dan jenis kera lainnya serta lingkungan berupa tanah, air, dan beberapa artropoda bisa berperan sebagai reservoir. (Ploemacher et al., 2020)



Gambar 2. Beberapa jalur transmisi *Mycobacterium leprae* yang menunjukkan interaksi antara manusia, binatang, vektor dan lingkungan, dikutip dari Ploemacher et al., 2020

2.2. Tinjauan Mengenai Penyakit Kusta

2.2.1. Sejarah Kusta

Penyakit kusta telah dikenal sejak 1300 tahun SM. Diduga penyakit ini berasal dari Asia atau Afrika. Istilah leprosy dikaitkan dengan basil *Mycobacterium leprae* sebagai penyebab penyakit ini yang pertama kali diidentifikasi secara mikroskopik oleh Gerhard Armauer Hansen pada tahun 1873. (Lastória & de Abreu, 2014) Banyak ahli percaya bahwa tulisan pertama tentang kusta muncul dalam sebuah dokumen Mesir kuno yang ditulis sekitar tahun 1550 Sebelum Masehi (SM). Sekira tahun 600 SM ditemukan sebuah tulisan berbahasa India menggambarkan penyakit yang menyerupai kusta. Di

Eropa kusta pertama kali muncul dalam catatan Yunani kuno setelah tentara Alexander Agung kembali dari India. (Kemenkes RI, 2018) Penyakit ini diduga telah dikenal di Amerika latin yakni semasa penjajahan Prancis di Amerika Serikat dan penjajahan Spanyol dan Portugis di Amerika Selatan. (Lastória & de Abreu, 2014)

2.2.2. Definisi Penyakit Kusta

Istilah kusta berasal dari bahasa Sanskerta, kusta yang berarti kumpulan gejala kulit. Kusta adalah penyakit yang terutama mengenai kulit dan jaringan perifer. (Chou & Poobalan, 2018) Penyakit ini juga dapat menyerang mata, tulang, limfonodus dan rongga hidung serta testis. (Misch et al., 2010) Kusta merupakan penyakit infeksi kronik yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, suatu bakteri yang bersifat intraseluler obligat. (Hajar, 2016)

2.2.3. Etiologi Kusta

Penyakit kusta disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, suatu bakteri yang pertama kali diidentifikasi di bawah mikroskop pada tahun 1873 oleh Gerhard Armauer Hansen. (Lastória & de Abreu, 2014). *M. Leprae* suatu bakteri berbentuk basil yang tahan asam dan bersifat patogen terutama pada manusia. Selain itu bakteri ini juga dijumpai pada nine-band armadillo dan beberapa spesies kera. (Bhat & Prakash, 2012)

2.2.4. Patogenesis

Patogenesis kusta berkaitan dengan beberapa hal, yaitu adanya *Mycobacterium leprae*, fungsi sistem fagosit mononuklear, aktivitas sel dendritik yang berhubungan dengan limfosit T dan limfosit B serta imunitas humoral dan seluler. (Hajar, 2016) *Mycobacterium leprae* mempunyai patogenesisitas dan daya invasif yang rendah. Patogenesisitas yang rendah menyebabkan hanya sebagian kecil orang yang terinfeksi timbul tanda-tanda penyakit. (Lastória & de Abreu, 2014) Untuk bisa bertahan hidup di dalam sel inang, *Mycobacterium leprae* harus dapat mengatasi mekanisme mycobacterisidal intraseluler. (Pinheiro et al., 2018). Hal ini berkaitan dengan sistem imun innate seseorang. Imunitas innate yang ada bersifat non spesifik dan ditunjang oleh status kesehatan secara umum yaitu gizi yang baik, hidup teratur, serta lingkungan yang baik. (Hajar, 2016)

Imunitas innate dapat bekerja pada bagian terluar dari tubuh yaitu pada permukaan tubuh. Sel epitel permukaan berperan sebagai barier fisik dan lapis pertama dalam menghalau mikroba patogen. Sel-sel lain yang berperanan dalam imunitas innate berupa makrofag, sel dendritik, sel mast, netrofil, sel natural killer (NK Cell) dan subset limfosit sebagai lapis kedua. (Wahid & Miskad, 2019)

Aktivasi imunitas innate dapat terjadi setelah interaksi PAMPs dari struktur mikroba dengan Pattern Recognition Receptors (PRRs) yang ada di dalam sel host. (Pinheiro et al., 2018) PRRs juga dapat mengenali molekul

endogen dari sel yang rusak, disebut sebagai Damage Associated molecular patterns (DAMPs), akibat beberapa penyakit inflamasi kronik dan autoimun. (Wahid & Miskad, 2019) PRRs berupa Reseptor Lectin Tipe C, NOD-like receptors (NLRs), RIG-1-like receptors dan Toll-Like Receptors. (Pinheiro et al., 2018)

M. leprae pertama kali dikenali oleh beberapa reseptor imun innate termasuk Toll-like receptors (TLRs) dan NOD-like receptors (NLRs). TLRs merupakan protein transmembran tipe 1 yang berperan untuk mengikat komponen patogen (PAMPs). (Pinheiro et al., 2018) NLR berfungsi mengidentifikasi patogen yang terdapat dalam sitoplasma. (Pinheiro et al., 2018) Makrofag harus memberi sinyal lewat penyajian antigen, sedangkan limfosit harus memberi sinyal dengan mengeluarkan Interleukin yang akan mengaktifkan makrofag tersebut agar menghancurkan kuman lewat mekanisme fagosom-lisosom kompleks. (Hajar, 2016)

Sel dendritik terletak pada jaringan epitel yang berbatasan dengan dunia luar misal pada kulit, saluran cerna, saluran napas, dan saluran urogenital. Sel ini memiliki PRRs yang lengkap. (Wahid & Miskad, 2019) Pada kulit, sel dendrit yang ada di epidermis sebagai sel Langerhans dan di dermis sebagai sel dendrit dermis. Sel ini secara efisien bertindak sebagai antigen presenting cell (APC) terhadap sel T dalam merespon adanya *M. leprae*. ((Pinheiro et al., 2018)

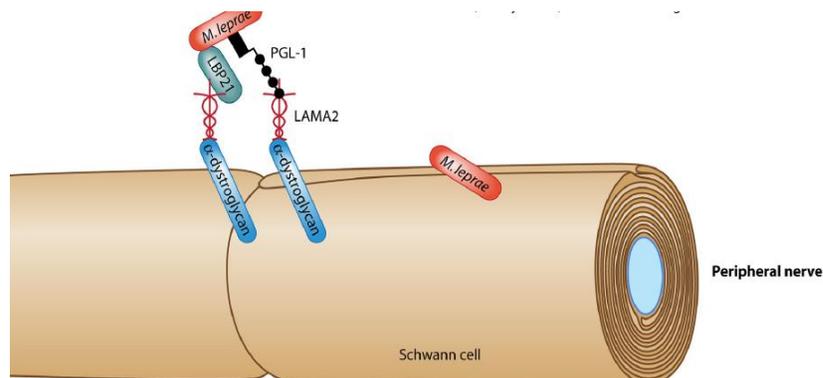
Tugas utama sel dendritik adalah mempresentasikan antigen yang ada pada mikroba patogen ke sel T Naive yang ada di limfonodus. Presentasi antigen ini bertujuan mengaktifkan sel T Naive menjadi sel T efektor. Sel dendritik bekerja seperti halnya makrofag menghancurkan mikroba dalam fagolisosom kemudian mempresentasikan ke permukaan sel dendritik dengan bantuan Human Leucocyte Antigen (HLA) dan dibawa ke limfonodus. (Wahid & Miskad, 2019)

Pada tahap proteksi awal, monosit yang berperan sebagai sel fagosit. Selain monosit, respon terhadap infeksi juga meningkatkan produksi neutrofil dari sumsum tulang yang diinduksi oleh sitokin CSF. Neutrofil memfagosit mikroba yang ada di dalam sirkulasi dan jaringan ekstravaskular, akan tetapi neutrofil hanya bertahan beberapa jam, sementara monosit dalam sirkulasi bertahan hingga lima hari. Namun, sel-sel monosit dapat bermigrasi ke jaringan ikat dan bertahan selama beberapa bulan sebagai histiosit. (Darmaputra & Ganeswari, 2018)

Sebagian *Mycobacterium leprae* yang masuk ke dalam tubuh mengendarai monosit dan bereplikasi dalam monosit (Trojan-horsephenomen) (Hajar, 2016) Monosit yang terstimulasi oleh kuman ini berdiferensiasi menjadi makrofag dengan aktifitas energetik yang tinggi, dan mampu membentuk sel-sel epiteloid pada kusta tipe TT dan sel-sel lepra (sel Virchow) pada kusta tipe LL. (Darmaputra & Ganeswari, 2018)

Bakteri yang keluar dari monosit yang mati dan pecah akan menginvasi sel-sel Schwann dan masuk ke dalam vakuola-vakuola fagositik (fagosom), sehingga dapat bermultiplikasi dan terlindungi dari antibodi maupun makrofag. Namun, *M. leprae* juga dapat masuk ke jaringan perineural, sehingga akhirnya terbentuk granuloma epiteloid. Sel-sel Schwann tidak memiliki enzim lisosomal untuk menghancurkan bakteri, sehingga basil *M. leprae* dapat bertahan untuk waktu yang lama. (Darmaputra & Ganeswari, 2018). Selain itu, Sel Schwann tidak bisa mengekspresikan MHC class II sehingga proses penyajian antigen kepada limfosit T terganggu. Oleh sebab itu, sel Schwann ini menjadi pos pertama dari basil kusta sebelum menginvasi ke kulit dan organ lain. (Hajar, 2017).

M. leprae dapat menyerang SC melalui ikatan yang spesifik dengan Laminin Binding Protein 21 kDa (LBP-21) dan PGL-1. (Bhat & Prakash, 2012) Spesifitas Sel Schwann terhadap *M. Leprae* disebabkan adanya Laminin $\alpha 2$ pada sel Schwann. *M. Leprae* mengandung PGL-1 yang tampak berikatan dengan domain G LAMA-2 dari membran sel Schwann. Masuknya *M. Leprae* ke dalam sel Schwann dapat terjadi jika kompleks PGL-1/LAMA2 berinteraksi dengan α -dystroglican, suatu reseptor LAMA-2 yang berada pada membran sel Schwann. Terikatnya *M. leprae* ke Sel Schwann akan menginduksi terjadinya demielinasi dan hilangnya konduktansi akson sel Schwann. (Misch et al., 2010)



Gambar 3. Ikatan antara PGL-1 dan LBP-21 dengan LAMA2 dan α Dystroglycan pada lamina basalis sel Schwann, dikutip dari (Misch et al., 2010)

Laminin binding protein 21 (LBP21) juga memediasi masuknya *M. leprae* ke dalam sel Schwann. Selain itu juga diperankan oleh reseptor pada monosit dan makrofag. Pada monosit, PGL-1 memediasi fagositosis *M. leprae* melalui complement receptor CR3 and serum complement-3 (C3). Pada makrofag, CR-1 dan CR-4 membantu fagositosis *M. leprae*. Selain itu, pada makrofag terdapat reseptor mannose yang mengikat mannose dengan komponen karbohidrat dari mycobacteria. (Misch et al., 2010)

Respon imun yang terjadi akibat infeksi *Mycobacterium leprae* terjadi di bawah kontrol genetika. (Hajar, 2016) Meskipun gen yang terlibat dalam terjadinya penyakit kusta belum diketahui secara pasti, akan tetapi diduga berkaitan dengan sistem human leukocyte antigen system (HLA) and non-HLA. Studi Genomic telah mengidentifikasi keterikatan penyakit kusta dengan kromosom regio 6p21, 17q22, 20p13, and 10p13 pada manusia. (Lastória & de Abreu, 2014)

Human leukocyte antigen system (HLA) adalah suatu antigen dipermukaan sel yang merupakan hasil produk yang dicetak biru oleh gen yang terletak di kromosom 6 manusia, pada suatu lokus yang disebut Major histocompatibility Complex (Hajar, 2016) Lokus Major histocompatibility Complex (MHC) terdiri atas dua jenis gen polimorfik yaitu gen MHC kelas I dan MHC kelas II yang menyandi pembentukan dua molekul yang strukturnya berbeda tapi homolog dan sejumlah gen nonpolimorfik. Tiap kelas MHC memiliki masing-masing 3 alel gen yaitu gen HLA-A, HLA-B dan HLA-C untuk MHC kelas I dan gen HLA-DP, HLA-DQ dan HLA-DR untuk MHC class II. (Wahid & Miskad, 2019). HLA D banyak dihubungkan dengan imunitas terhadap bakteri termasuk basil kusta. (Hajar, 2016) Gen HLA-DR2 dan HLA-DR3 sering dikaitkan dengan kusta tipe TT (Tuberkuloid) sementara HLA-DQ1 sering dikaitkan dengan pasien kusta tipe LL (Lepramatous). (Eichelmann & González, 2013). Antigen HLA ini berperan dalam pengenalan dan penyajian antigen dari sel penyaji (Antigen Presenting Cell) yakni sel dendritik kepada sel limfosit T (T helper) (Hajar, 2016)

Untuk penghancuran kuman yang hidupnya di dalam sel seperti *Mycobacterium leprae*, maka diperlukan kerjasama antara makrofag dan limfosit T. (Hajar, 2016) Masuknya *M. leprae* ke dalam tubuh akan ditangkap oleh APC dan melalui dua sinyal yaitu sinyal pertama dan sinyal kedua. Sinyal pertama ; bergantung pada TCR (T-cell receptor) terkait antigen yang dipresentasikan oleh molekul Human Leukocyte Antigen (HLA) pada

permukaan APC. Sinyal kedua: berupa produksi sitokin dan ekspresinya pada permukaan dari molekul kostimulator APC. (Darmaputra & Ganeswari, 2018) Sinyal tersebut akan mengaktifasi Limfosit T naive menjadi Limfosit T efektor. (Wahid & Miskad, 2019) Dalam proses penyajian antigen dari mikobakteria, antigen yang berasal dari proses pencernaan di dalam fagosom APC akan disajikan oleh MHC kelas II kepada limfosit T yang CD4+, umumnya dari jenis T-helper atau inducer. Sedangkan antigen dari kuman yang berada di dalam sitoplasma akan disajikan oleh molekul MHC kelas I kepada sel T yang CD8+, yaitu sitotoksik/supresor (Hajar, 2016)

Respon imun terhadap kuman *M. Leprae* akan terjadi dua kutub. Kusta tipe Tuberkuloid dengan aktifitas Th-1 yang menonjol dan tipe Lepromatosa dengan imunitas humoralnya yang dihasilkan oleh Th-2 yang menonjol. Tipe Borderline kemungkinan timbul dari perbedaan gradasi antara aktifitas Th-1 dan aktifitas Th-2. (Hajar, 2016) Bervariasinya gambaran klinik dan histopatologis dari penyakit lepra tergantung pada kemampuan host dalam respon imun secara humoral dan seluler terhadap *M. Leprae*. Hal ini mengarah pada konsep spektrum penyakit sebagaimana yang dikembangkan oleh Ridley and Jopling. (Scollard, 2017).

Kedua subset limfosit ini saling mempengaruhi satu sama lain (down-regulating) dan selalu berusaha mencapai keseimbangan. (Hajar, 2016) Pada kusta Tipe Pausi Basiler (PB), Limfosit Th-1 terbentuk apabila dalam proses stimulasi antigen terdapat IL-12, IFN- γ dan IL-18, yang berasal dari

sel NK dan makrofag di dalam sistem imunitas alamiah (innate immunity). Th-1 akan mengaktifkan sistem imun seluler yang akan meningkatkan fagositosis makrofag dan proliferasi sel B. PGL-1 akan berikatan dengan C3 melalui reseptor CR1, CR3, CR4 pada permukaannya lalu akan difagositosis. (Darmaputra & Ganeswari, 2018)

Makrofag-pada kusta tipe Pausi Basiler dapat menghancurkan semua basil, sehingga memberikan informasi antigen yang diekspresikan pada permukaan MHC kelas II, melibatkan sel Th-1 yang mensekresi IL-2 dan IFN- γ menginduksi imunitas selular. MHC Kelas I berupa HLA-A, B dan C terlibat dalam penyajian antigen oleh makrofag dalam diferensiasi sel T menjadi sel limfosit T sitotoksik (CD8+) untuk mengeliminasi organisme yang berada dalam sitoplasma dengan cara apoptosis (Darmaputra & Ganeswari, 2018).

Pada kusta Tipe Multi Basiler (MB), Th-2 akan mengaktifkan sistem imun humoral lewat mediator IL-4, IL-5, IL-10 dan IL-13. (Hajar, 2016) IL-5 mengaktifasi eosinofil, IL-4 dan IL-10 mengaktifasi makrofag, IL-4 mengaktifasi sel B untuk menghasilkan IgG dan IgE, sementara IL-4, IL-10, dan IL-13 mengaktifasi sel mast. (Darmaputra & Ganeswari, 2018)

Secara imunologis, kusta tipe MB dikarakteristikan dengan respon imun Th-2 berupa IL-4 and IL-1, pembentukan kompleks antibodi, tidak terbentuknya granuloma, CD4+ kurang, banyak CD8+ serta foamy macrofag. Kusta tipe PB dikarakteristikan dengan respon imun sitokin Th-1 berupa IFN-

y dan IL-2, pembentukan granuloma dengan baik, serta lebih banyak CD4+.
(Misch et al., 2010)

2.2.5. Manifestasi Klinis

Kulit

Lesi dapat mengenai saraf perifer pada kulit terutama pada posterior tibia, cubital, medial dan lateral peroneal.(Eichelmann & González, 2013)
Adanya bercak tipis seperti panu pada badan atau tubuh manusia yang pertamanya hanya sedikit, tetapi lama-lama semakin melebar dan banyak. Adanya bintil-bintil kemerahan yang tersebar pada kulit dan alis rambut rontok. Kelenjar keringat kurang bekerja sehingga kulit menjadi tipis dan mengkilat.
(Hadi & Kumalasari, 2017)

Sistem Saraf

Infeksi biasanya dapat diamati pada saraf cutaneous akan tetapi pada biopsi juga ditemukan pada cabang sensoris nervus radialis. *M leprae* dapat menginfeksi makrofag intraneural dan sel Schwann. (Scollard, 2017) Terdapat pelebaran saraf, terutama pada saraf ulnaris, medianus, auricularis magnus, serta paroneus. (Hadi & Kumalasari, 2017)Reaksi osteofibrotik perineural pada superfisial menyebabkan saraf dapat dipalpasi saat dilakukan pemeriksaan fisik. Saraf dapat menebal, nyeri, dan mengalami gangguan sensoris dan motoris. Jika mengenai serabut saraf kecil pada kulit dapat menimbulkan mati rasa (anestesi), anhidrosis dan gangguan sensoris terhadap suhu, serta

neuropati asimetrik. Pada sistem muskuloskeletal bersifat non-spesifik berupa ulkus, deformitas dan fraktur. (Eichelmann & González, 2013)

Nasofaring

Infeksi mukosa hidung, kadang-kadang muncul sebagai polip nasi yang kadang kala ada misinterpretasi sebagai bentuk histiocytosis. Saluran pernapasan atas diyakini menjadi pintu masuk *M. Leprae*. Infeksi pada jaringan kartilago bisa menyebabkan perforasi septum dan inflamasi pada pinna aurikuler sering menimbulkan nodul yang tebal pada telinga. (Scollard, 2017)

Testis

Pasien dengan tipe Lepramatosa dilaporkan mengalami gangguan pada testis, berupa atrofi testis dan orchitis akut yang dikaitkan dengan erytema nodosum leprosum. (Eichelmann & González, 2013)

Mata

Gangguan sekunder yang terjadi pada saraf fasialis dan trigeminus menyebabkan lagoptalmus, keratitis dan anestesia. (Scollard, 2017) Selain itu manifestasi okuler lainnya berupa loss of vision dan entropion. (Eichelmann & González, 2013)

2.2.6. Klasifikasi Kusta

Klasifikasi Madrid 1953

Klasifikasi Internasional menurut Madrid pada tahun 1953: (Hadi & Kumalasari, 2017)

Interdeterminate (I)

Kelainan kulit berupa makula berbentuk bulat yang berjumlah 1 atau 2, pada pemeriksaan bakteriologis jarang ditemukan hasil yang positif, lesi kulit terbentuk datar yang mana dapat berupa hipopigmentasi ataupun erythematous, dan pada reaksi lepromin dapat memberikan hasil positif ataupun negatif.

Tuberkuloid (T)

Terdapat makula atau bercak tipis bulat tidak teratur dengan jumlah lesi 1 atau beberapa. Permukaan kering, kasar sering dengan penyembuhan di tengah. Tipe Tuberculoid (T) memberikan hasil negatif pada pemeriksaan bakteriologis, banyak pada kasus erythematous skin lesion, dan positif terhadap lepromin.

Borderline (B)

Kelainan kulit bercak lebih menebal, tidak teratur dan tersebar. Beberapa kasus timbul dari bentuk tuberculoid sebagai hasil reaksi ulangan. Tipe Borderline hampir selalu memberikan hasil positif pada pemeriksaan bakteriologis dan pada reaksi lepromin umumnya negatif.

Lepromatosa (L)

Kelainan kulit berupa bercak-bercak tebal dan difus, bentuk tidak jelas, berbentuk bintil-bintil (nodule), makula tipis di seluruh badan dan simetris. Tipe Lepromatous memberikan hasil positif pada pemeriksaan bakteriologis, infiltrasi pada lesi kulit dapat dijumpai pada jumlah banyak atau sedikit, dan negatif pada pemeriksaan terhadap lepromin.

Klasifikasi Ridley-Jopling

Klasifikasi yang sering digunakan adalah klasifikasi oleh Ridley dan Jopling (1962) berdasarkan pada kriteria klinis, bakteriologis, imunologis dan histopatologis, yaitu kusta tipe Tuberkuloid Tuberkuloid (TT), Borderline Tuberkuloid (BT), Mid- Borderline (BB), Borderline Lepromatosa (BL) dan Lepromatosa Lepromatosa (LL). Secara klinis, kusta menyebabkan ketidakstabilan pada sistem imunitas pejamu yang mencerminkan spektrum penyakit. (Darmaputra & Ganeswari, 2018)

Klasifikasi Menurut WHO

Kusta atau morbus hansen menurut WHO terbagi menjadi 2 tipe yaitu multibasiler (MB) dan pausibasiler (PB). Hal ini didasarkan pada jumlah lesi pada kulit, adanya pelibatan saraf identifikasi basil lepra melalui slit skin smear. (Chou & Poobalan, 2018). Untuk kusta tipe MB jumlah bercak yang mati rasa lebih dari 5 dan penebalan saraf tepi terjadi pada lebih dari satu saraf sedangkan untuk tipe PB jumlah bercak yang mati rasa yaitu 1-5 dan penebalan saraf tepi hanya pada satu saraf. (Kemenkes RI, 2018)



Gambar 4. Kusta tipe pausibasiler (PB) (Infodatin, 2018)

Tipe multibasiler (MB) atau disebut kusta basah adalah bilamana bercak putih kemerahan yang tersebar satu-satu atau merata diseluruh kulit badan, terjadi penebalan dan pembengkakan pada bercak, bercak pada kulit lebih dari 5 tempat, kerusakan banyak saraf tepi dan hasil pemeriksaan bakteriologis positif (+), tipe seperti ini sangat mudah menular.



Gambar 5. Kusta tipe multibasiler (Infodatin, 2018)

2.2.7. Diagnosis

Menurut WHO, kriteria untuk penegakan diagnosis kusta ada tiga, yaitu: (Chou & Poobalan, 2018) lesi kulit yang berupa bercak hipopigmentasi atau lesi kulit kemerahan berbatas tegas, penebalan atau pelebaran saraf

perifer disertai hilangnya sensasi dan/atau kelemahan pada otot yang dipersarafi dan Ditemukannya BTA (+) pada Slit Skin Smear.

Diagnosis kusta ditegakkan apabila terdapat satu dari tanda-tanda utama di atas. (Chou & Poobalan, 2018) Akan tetapi, tanda-tanda ini tidak cukup untuk memastikan diagnosis penyakit kusta. Pemeriksaan serologis dan pemeriksaan laboratorium lainnya dikembangkan untuk menunjang diagnosis. Pemeriksaan enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) dan lateral flow juga dilakukan untuk memastikan diagnosis terutama tipe PB. Pemeriksaan lain berupa PCR yang memiliki akurasi yang tinggi juga diperlukan dalam diagnosis penyakit ini. (Lastoria & de Abreu, 2014)

Pemeriksaan BTA pada sampel Slit Skin Smear menjadi satu hal yang direkomendasikan oleh WHO dalam menegakkan diagnosis penyakit kusta. Pemeriksaan Slit skin Smear merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium yang direkomendasikan oleh WHO dalam penegakkan diagnosis penyakit kusta. (Chou & Poobalan, 2018) Pemeriksaan Skin smear secara makroskopis digunakan untuk mendeteksi Basil Tahan Asam pada spesimen skin smear yang diperoleh dari lokasi standar yakni lesi kulit, kuping telinga dan siku yang dilakukan dengan teknik pewarnaan Ziehl Neelsen. Hasilnya memungkinkan untuk dilakukan penentuan indeks morfologi dan indeks bakteriologis. Indeks Morfologi (IM) menentukan apakah basil *Mycobacterium leprae* viable atau tidak direpresentasikan dengan presentasi basil yang intak terhadap seluruh basil yang diperiksa. Basil yang intak dapat diamati pada kasus kusta sebelum

pengobatan atau pada pasien kusta yang relaps. Basil yang fragmented akan teramati pada pasien kusta yang sedang menjalani pengobatan. Indeks Bakteri merepresentasikan jumlah basil yang didapatkan pada pemeriksaan mikroskopik dengan skala logaritma dari 0 sampai 6+ dan positif pada tipe Multibasiler dan Sensitifitas yang rendah pada tipe PB. (Lastoria & de Abreu, 2014) Kombinasi antara pemeriksan klinis, histopatologis dan indeks bakteriologis sangat membantu dalam penegakan diagnosis kusta. (Naik et al., 2022)

Hasil Pemeriksaan BTA disebut positif bila tampak adanya basil tahan asam berwarna merah berbentuk solid-fragmented atau granular. Pembacaan hasil pemeriksaan mikroskopis dari kedua sediaan dilakukan menurut skala logaritma Ridley: (Chou & Poobalan, 2018)

tidak ditemukan BTA dalam 100 lapangan pandang

(1+) 1-10 BTA ditemukan dalam 100 lapangan pandang

(2+) 1-10 BTA ditemukan dalam 10 lapangan pandang

(3+) 1-10 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang

(4+) 10-100 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang

(5+) 100-1000 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang

(6+) lebih dari 1000 BTA atau 5 clumps dalam rata-rata 1 lapangan pandang

2.2.8. Tatalaksana

Deteksi dini dan pengobatan yang lengkap dengan multidrug therapy (MDT) penyakit kusta masih menjadi kunci strategis dalam mereduksi penyakit

ini. Selain itu, Vaksin BCG sebagai instrumen yang efektif untuk pencegahan penyakit kusta. Regimen standar MDT untuk kusta tipe PB (2 jenis obat) dan MB (3 jenis obat) sudah diperkenalkan sejak tahun 1982 dengan durasi pengobatan untuk tipe PB dan selama minimal 24 bulan untuk MB dan pada tahun 1998 dikurangi menjadi 12 bulan berdasarkan rekomendasi Tim ahli WHO. MDT tersedia dalam kemasan blister yang mana setiap blister dapat dipakai selama 4 minggu. (Chou & Poobalan, 2018)

Regimen pengobatan standar orang dewasa untuk tipe kusta MB berupa Rifampicin: 600 mg sekali sebulan, Clofazimine: 300 mg sekali/bulan dan 50 mg/hari Dapsone: 100 mg/hari selama 12 bulan (12 blister dimana setiap bulannya terhitung 28 hari). Regimen pengobatan standar orang dewasa untuk tipe kusta PB berupa Rifampicin: 600 mg sekali sebulan dan Dapsone: 100 mg/hari selama 6 bulan (6 blister dimana setiap bulannya terhitung 28 hari). (Chou & Poobalan, 2018)

Pengobatan Standard pada anak umur 10–14 tahun untuk kusta Tipe MB Rifampicin: 450 mg sekali/bulan Clofazimine: 150 mg sekali/bulan dan Dapsone 50 mg/hari selama 12 bulan (12 blister dimana setiap bulan terhitung 28 hari) Pengobatan standar untuk anak umur 10-14 tahun untuk kusta tipe PB Rifampicin: 450 mg sekali/bulan. dan Dapsone: 50 mg/hari selama 6 bulan (6 blister dimana setiap bulan terhitung 28 hari) sebagaimana terlihat pada tabel 1. (Chou & Poobalan, 2018)

Tabel 1. Regimen pengobatan kusta menurut WHO (Chou & Poobalan, 2018)

Kelompok Usia	Jenis Obat	Dosis dan Frekuensi	Lama Pemberian	
			Tipe MB	Tipe PB
Dewasa	Rifampisin	600 mg 1 kali/bulan	12 bulan	6 bulan
	Clofazimin	300 mg 1 kali/bulan dan 50 mg/hari		
	Dapson	100 mg/hari		
Anak-anak (10-14 tahun)	Rifampisin	450 mg 1 kali/bulan	12 bulan	6 bulan
	Clofazimin	150 mg 1 kali/bulan dan 50 mg/hari		
	Dapson	50 mg/hari		
(Anak-anak < 10 tahun atau Berat Badan < 40 kg)	Rifampisin	10 mg/kgBB/bulan	12 bulan	6 bulan
	Clofazimin	6 mg/kgBB/bulan dan 1 mg/kgBB/hari		
	Dapson	2 mg/kg/hari		

2.3. Tinjauan Mengenai Teknik PCR pada DNA *Mycobacterium leprae*

Pemeriksaan yang dilakukan untuk mendiagnosis penyakit kusta saat ini didasarkan pada evaluasi klinis pasien, sampel Slit Skin Smear (SSS) untuk pemeriksaan BTA dan pemeriksaan histopatologi melalui biopsi kulit. (Chou & Poobalan, 2018) Walaupun demikian, pemeriksaan yang sesuai untuk memastikan keberadaan bakteri sangat dibutuhkan untuk deteksi dini kasus dan terapi penyakit kusta. (Kamal et al., 2016)

Pemeriksaan molekuler melalui Nucleic Acid Amplification Test (NAAT) dengan menggunakan teknik Polymerase chain reaction (PCR) menjadi populer digunakan sebagai standar dalam mendeteksi penyakit infeksi. Berbagai metode PCR mulai dari Conventional PCR, Multiplex PCR, Q-PCR dan Real Time PCR yang digunakan memiliki sensitifitas yang berbeda dalam memastikan keberadaan *Mycobacterium leprae* pada sampel. Begitu pula

halnya dengan marker yang digunakan dalam pemeriksaan. (Tatipally et al., 2018)

Diagnosis molekuler dengan menggunakan nucleic acid amplification test (NAAT) merupakan ilmu yang penting dalam manajemen klinik penyakit infeksi. Polymerase chain reaction (PCR) saat ini sangat populer digunakan untuk diagnosis penyakit infeksi. Penggunaan klinik secara rutin dilakukan terutama pada kasus penyakit tuberkulosis dan mycobacterial lainnya. NAAT hampir saja menggantikan posisi laboratorium konvensional sebagai alat tes diagnostik untuk Tuberkulosis, namun penggunaan untuk deteksi penyakit kusta belum banyak digunakan. Penggunaannya hanya sebatas pengujian resistensi obat dan molecular typing dari penyakit kusta. (Tatipally et al., 2018)

PCR mampu mendeteksi mikroorganisme yang tidak dapat dikultur yang mana berdasarkan data genetik yang ada telah digunakan untuk mendeteksi *M. Leprae* sejak tahun 1989. PCR memungkinkan untuk mendeteksi, mengkuantifikasi, dan menentukan viabilitas *M. Leprae* dengan hasil yang sangat signifikan dibanding pemeriksaan mikroskopis biasa. Hal ini didasarkan pada amplifikasi untai spesifik dari genom *M. Leprae* dan dalam identifikasi fragmen DNA dan RNA yang di amplifikasi. Teknik PCR ini terbatas pada pusat penelitian, disebabkan harga reagen yang mahal dan kebutuhan peralatan khusus serta tenaga profesional. (Lastoria & de Abreu, 2014)

Penelitian dengan menggunakan PCR pertama kali dilakukan oleh Williams, dkk tahun 1990 untuk mendeteksi DNA *M. leprae* pada jaringan yang

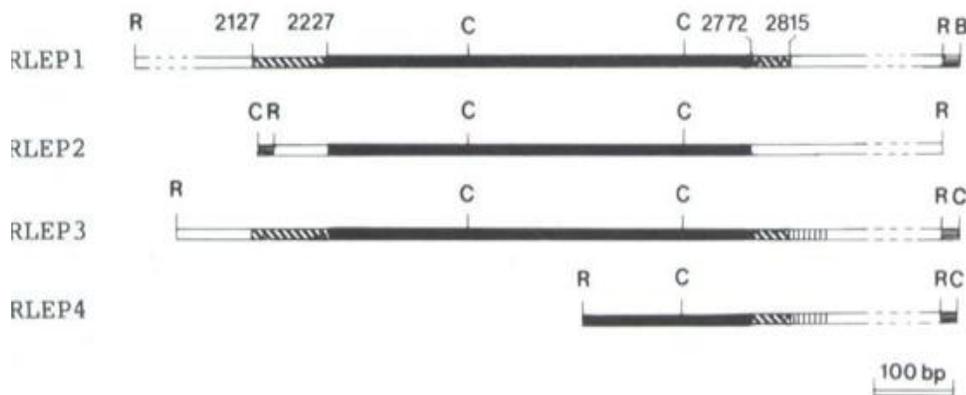
terinfeksi dengan sampel skin biopsy. Dalam perkembangan selanjutnya teknik PCR ini tidak hanya digunakan pada sampel skin biopsy akan tetapi juga pada beberapa spesimen seperti skin smear, saraf, urin, nasal swab, darah dan pada lesi okuler. Di masa mendatang penggunaan PCR diharapkan dapat dipakai sebagai alat surveillance pada narakontak serumah penderita kusta dalam mendeteksi penyakit sejak dini. (Martinez et al., 2014)

Beberapa penelitian menggunakan PCR dalam mendeteksi penyakit kusta dilakukan pada berbagai spektrum marker gen sebagai target PCR dengan beragam sampel melalui metode laboratorium yang bervariasi. RLEP dan 16S rRNA merupakan target PCR yang paling sering digunakan yang mana sensitifitas PCR berkisar 57% sampai 80% untuk RLEP dan 13% sampai 82% untuk 16S rRNA. RLEP merupakan marker yang paling sensitif dalam mendeteksi DNA *M. Leprae*. (Tatipally et al., 2018)

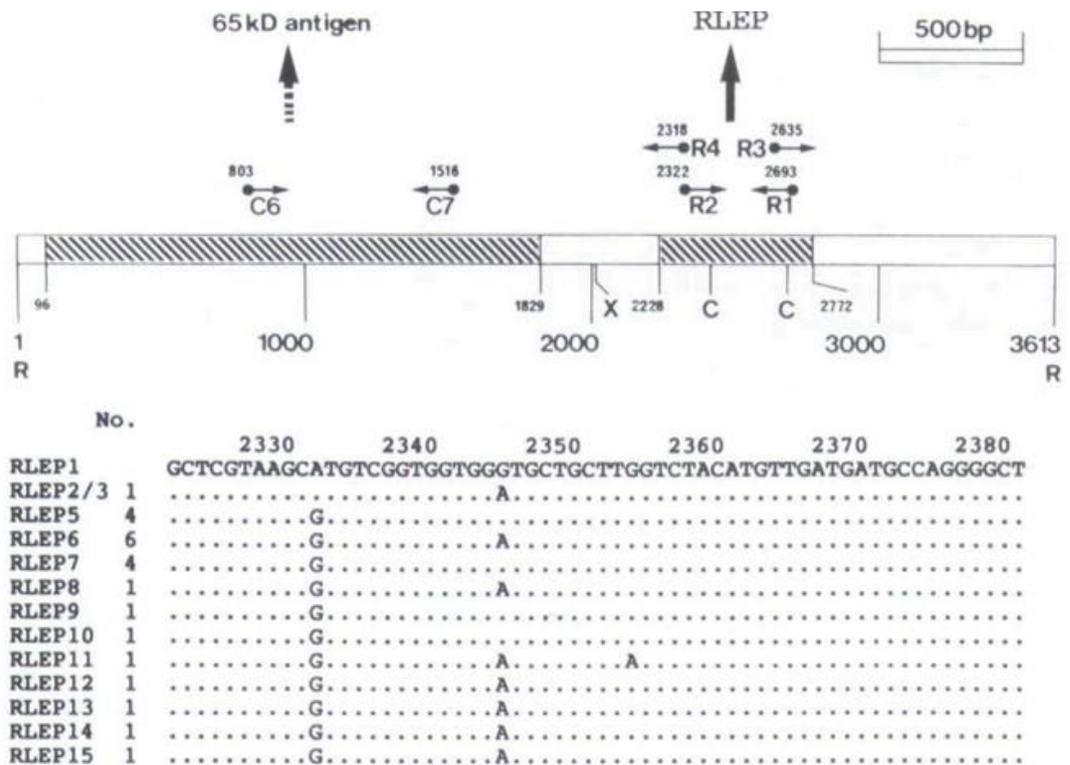
Kromosom *Mycobacterium leprae* mengandung 28 salinan untaian berulang yang tersebar, RLEP. Dari analisis untaian nukleotida jelas bahwa elemen RLEP terdiri dari 545 bp di bagian tengah dan diapit oleh 100 bp pada ujung kiri dan 44 bp ujung kanan, kadang-kadang memanjang sampai 47 bp. Keberadaan ujung kiri dan kanan bervariasi dan hal ini menunjukkan 3 konfigurasi RLEP yang berbeda sebagaimana diperlihatkan pada gambar 6 di bawah ini. Pada saat PCR digunakan untuk mempelajari variasi pada regio pusat, paling sedikit ada terdeteksi 15 kelas yang berbeda, menunjukkan tidak

adanya 2 untaian RLEP yang identik sebagaimana diperlihatkan pada gambar 7. (Woods and Cole, 1990)

RLEP1	1990	2000	2010	2020	2030	RLEP1	2640	2650	2660	2670	2680
RLEP2	CTTGGCGCTCCAGGGAGTCGGGCTTGCCCTCGAGGTCAGGAGCGTGGG					RLEP2	AGCAGGCATGCCGCCGGGTGCAGCATATCGTGTGTAACAGTGCATC				
RLEP3	TGAACACCTTTACAGGTCGAGCTCGAGGTTTCTTGAAGCATCGAGGTC					RLEP3				
RLEP1	2040	2050	2060	2070	2080	RLEP4				
RLEP2	TCGGAAACGACAGAACCGGGCACTCTCGTTCCGGGGCTCCGCTGTTG										
RLEP3	CTACCACGTGGTGGCAAATTTGGCTCGAGTGGCTCAAAAATCTGGCGT										
RLEP1	2090	2100	2110	2120	2130	RLEP1	2690	2700	2710	2720	2730
RLEP2	CGCTGGAAGAGCGCCGCCGCCGAGCCGTTCTAGGGTGTGTGGGTGTT					RLEP2	GATGATCCGGCCCTCGGGGACATACGGCAACCTCTAGCGCAGATCAA				
RLEP3	TCCCGGGCTCTGCTGTCTGTGCTGTGGCGGTGAGTGTTCGGTGG...					RLEP3				
RLEP1	2140	2150	2160	2170	2180	RLEP4				
RLEP2	TCATAGTGGTGGGTGAATGGCTGTTTTCGGCTTTATGACTGGCCGAT										
RLEP3										
RLEP1	2190	2200	2210	2220	2230	RLEP1	2740	2750	2760	2770	2780
RLEP2	ATGTTCCGTAGTCTGGGGGACGCCGGAATCCTGTTGACGTGTTTTCG					RLEP2	CCACCCACAGCCACAGCCACACACACACCACCCAAACCAACCA				
RLEP3	GAATTCCTACGGCTCGCATGTTGACAGTGTGACTAAATCGTTTG...					RLEP3				
RLEP1	EcoRI					RLEP4				
RLEP1	2240	2250	2260	2270	2280	RLEP1	2790	2800	2810	2820	2830
RLEP2	TGTGTTCCGGGTTTTTGTGGTGGTGGCTGACTGCTCTTTCGATGA					RLEP2	GCAAAAATAACCAAAATGACCAATCAGCAGCATATGGTGGGTGGC				
RLEP3					RLEP3	TCACCGGACACAGGTCGCCAGGGCTCACGCCAAAATGCAATACGTTCC				
RLEP1	2290	2300	2310	2320	2330	RLEP4				
RLEP2	GGCTCTGCTGCTTTCGCCAGTGGAGCAGATTAGCGGCGCACCTAAG										
RLEP3										
RLEP1	2340	2350	2360	2370	2380	RLEP1	2840	2850	2860	2870	2880
RLEP2	CATGTCGGTGGTGGTGTGCTGCTTGGCTACATGTTGATGATGCCAGGGC					RLEP2	TTACGGCGCAGATGCCCGCTGCGCCGCTAGCAGCAGCCGGTGGGATCA				
RLEP3					RLEP3	AGTGTGTTAGTTTAGCTCCGCTACACTAGCCGATACAGAGGTACCCAC				
RLEP1	2390	2400	2410	2420	2430	RLEP4				
RLEP2	TGGGCACTGGGCTGTGCTGAAGGCGATATCGATGACGGCGTGGGTGTA										
RLEP3										
RLEP1	2440	2450	2460	2470	2480	RLEP1	2890	2900	2910	2920	2930
RLEP2	GGGTAGTGTGTAGCGCCGGGGTAGGGCGTTTTAGTGTGATGTCATG					RLEP2	ACCGTGTGTTGGCAGTAGCAGGTTAGAGTAGGCTAGCGTAGCGCAATC				
RLEP3					RLEP3	CGAGCACAGGATCGAGGATGGTGGCCAGCGATGCTATAAACC				
RLEP1	2490	2500	2510	2520	2530	RLEP4				
RLEP2	GCCTTGAGGTGTCGGCGTGGTCAATGTGGCCGACCTGAACAGGCACGTC										
RLEP3										
RLEP1	2540	2550	2560	2570	2580	RLEP1	2940	2950	2960	2970	2980
RLEP2	CCGCTGACAGGTATAACTATTCGCACCTGATGTTATCCCTTGCACATTT					RLEP2	GCGACTGAGAGATCTGGTGCCGGATCGGTTAACCGCATGCCCTACGGT				
RLEP3					RLEP3	CCTATTTGCTGCACAAAGTGCCTCAATTCACCTCACCCAGGACACA				
RLEP4					RLEP4	GAAGCAATGATTCATGCACCGCTTGAATCCGACTCCGCCCTGGAGAT				
RLEP1	2590	2600	2610	2620	2630	RLEP1	2990	3000	3010	3020	3030
RLEP2	CTGCGCTGATCGGTGTGGCGGCTGTTGACCGGCTCACCCACCA					RLEP2	GAAAAGATAGAGTTATTGACCCGATGCTAGTTGTTGTTGTTTTTCC				
RLEP3					RLEP3	TCACCCAGCGGAGAACTGCTCAATTCACCTCACCCAGGACACA				
RLEP4					RLEP4	GAAATCATAGTCAGCTCGGTAAAGACCTCGAGTATATCTAGACCCCA				
						RLEP1	3040	3050	3060	3070	3080
						RLEP2	AGGGCGTGGTGGCTATAGCTGCCCGGGCTGTGTGATCTGTGATGA				
						RLEP3	CTTGTGAATCTTTGAGTTTGCACCGGTTGAGCTCCAGCCGACCCGAGAGGC				
						RLEP4	AACACCACAGATGTCGATCAGCAGCTGAATGGTGGGACACCAAAAATG				
						RLEP1	3090	3100	3110	3120	3130
						RLEP2	CACGGCGGGGAGCCACTAATATGGCGTTGCCAATAGCGCTGGATCTC				
						RLEP3	TAATCGTATGAAACGGAAATC				
							AGTCTCTTTCGTTAAGAAATC				
							EcoRI				



Gambar 6. Summary Pengelompokkan sequens RLEP.



Gambar 7. Variasi Untaian element RLEP

RLEP1 yang berada pada bagian distal gen *groE-L*. Penomoran didasarkan pada RLEP1. RLEP2 dengan nomor akses X17151, RLEP3 dengan akses X17153 dan RLEP4 dengan akses X17152. M. Leprae repetitive element RLEP3 merupakan satu dari paling sedikit 15 kelas RLEP yang lokusnya pada X17153.

Keberadaan untai RLEP dalam kromosom *Mycobacterium leprae* berkaitan dengan durasi tingkat pertumbuhannya. Tingkat Pertumbuhan M. leprae yang lambat sampai 2 kali lipat sampai sekira 14 hari merupakan konsekuensi dari tersebarnya RLEP sepanjang genom. Hal ini bisa saja

menyebabkan inaktivasi atau berkurangnya ekspresi penting fungsi metabolisme. (Woods and Cole, 1990)

GenBank

M. leprae repetitive element, RLEP3

GenBank: X17153.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

```

LOCUS       X17153                1120 bp    DNA     linear   BCT 08-FEB-1991
DEFINITION M. leprae repetitive element, RLEP3.
ACCESSION  X17153
VERSION    X17153.1
KEYWORDS   repetitive element.
SOURCE     Mycobacterium leprae
  ORGANISM Mycobacterium leprae
            Bacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Mycobacteriaceae;
            Mycobacterium.
REFERENCE  1 (bases 1 to 1120)
AUTHORS    Woods,S.A. and Cole,S.T.
TITLE      A family of dispersed repeats in Mycobacterium leprae
JOURNAL    Mol. Microbiol. 4 (10), 1745-1751 (1990)
PUBMED     2077358
REFERENCE  2 (bases 1 to 1120)
AUTHORS    Woods,S.
TITLE      Direct Submission
JOURNAL    Submitted (16-NOV-1989) Woods S., Institut Pasteur, 28 Rue du
            Docteur Roux, 75724 Paris, Cedex 15, France
COMMENT    The element consists of a 545bp central domain with a flanking
            100bp left end and 44bp right end. Also sometimes associated with a
            47bp extension. The left and right ends are variable thus
            permitting three different REP configurations. See
            <X17151>-<X17153>.
FEATURES   Location/Qualifiers
            source                1..1120
                                     /organism="Mycobacterium leprae"
                                     /mol_type="genomic DNA"
                                     /db_xref="taxon:1769"
                                     /clone="REP3"
                                     /clone_lib="lambda gt11"
ORIGIN
1 tgaacaaccc ttacaggtcg agctcgaggg tttcttgaag catcgaggtc ctaccacgtg
61 gttgccaact tggcctgagt ggcgtcaaaa atcgtgcggt tccccggctc tgctgtcttg
121 tgtctgtggc ggtgagtgtg tcggttggtt tcataggtgg tgggtgaaat ggctgttttt
181 gcgttttatg actggccgat atgttcggta gtcgtggggg gcagcccgga atcctgttga
241 cgtgttttgc tgtgttcggg ggtttttggt ggtgggtggc tgactgcctg ctttcgatga
301 ggccttcgtg gctttgcccg agtggacacg attagcgagg cgacgtaag catgtcggtg
361 gtggatgctg cttggtctac atgttgatga tgccaggggc tgggcacctg ggctgtgctg
421 aaggcgatat cgatgcaggc gtgagtgtga ggatagttgt tagcgcccg gggtaggggc
481 ttttttagtg gcatgtcatg gccttgaggt gtcggcgtgg tcaatgtggc cgcacctgaa
541 caggcacgtc cccgtgcacg gtataactat tgcacacctg ttttatccct tgcaccatgt
601 ctgcccgtgg tctcggtgtc ggcggcttgt tgaccggccc tcagccagca agcaggcatg
661 ccgccgggtg cagcagatc gtgttagtga acagtgcacg gatgatccgg ccgtcggcgg
721 cacatcgggc aaccttctag cgcagatcaa ccaccacac cccaccagcc caccacaaca
781 ccaccacaac caaacagca aaaaataacc accaaatgac catcaccgag acaccttgaa
841 gtctaaacgg acaagttact ggttactggc cgggcggcggc tttaccgat agcagcggac
901 ggctgtcaac gcgatacttc acgccccat ggccaagacg gctcactgag caatgatttc
961 atgcaccgcc tagaatccga cttcgcgcct ggcagatgaa atcatagtca gctcgggtaa
1021 gaacgatcga gtctatccta gaccccaaac accacacgat gtcgatcagc cactgaatgg
1081 tcggcagcac caaaagtagc tcctcttcgc ttaagaattc
//

```

Gambar 8. Susunan Untaian gen RLEP3 dikutip dari NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

2.4. Tinjauan Mengenai Analisis Genotipe *Mycobacterium leprae* Dengan Pola Pengulangan Nukleotida TTC

Perkembangan genetika molekuler saat ini cukup maju. Hal ini ditandai dengan ditemukannya metode sekuen potongan DNA secara tepat. Metode Gilbert dan Sanger diperkenalkan pertama kali pada tahun 1977. Metode Sanger lebih sering dipergunakan karena lebih mudah, praktis dan efisien. Mayoritas nukleotida dari berbagai spesies berhasil disekuens dengan metode ini. (Mudatsir, 2013)

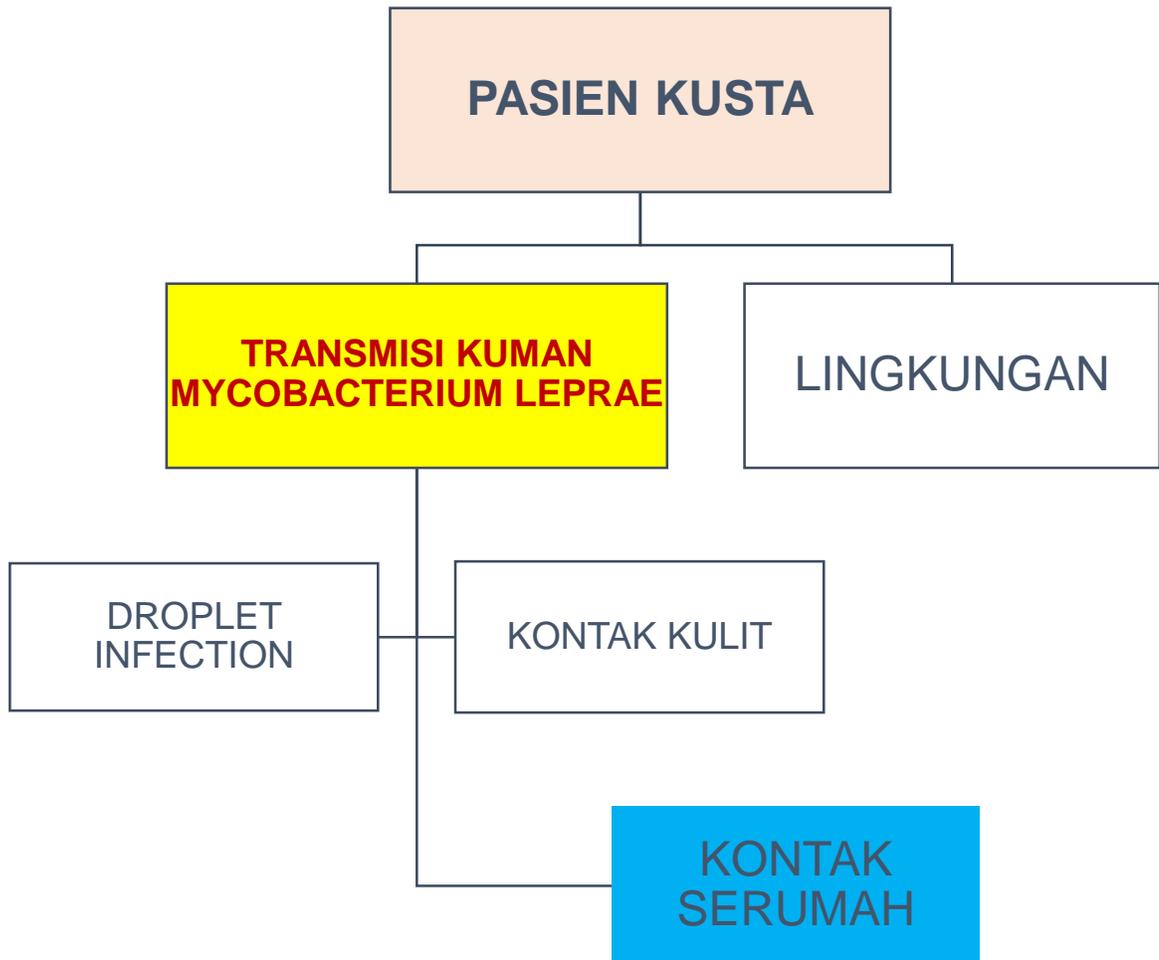
Analisa genotipe secara molekuler dengan metode variable numbers of tandem repeats (VNTR) dianggap sebagai pilihan yang lebih praktis untuk diaplikasikan secara laboratorium klinis. (Shin et al., 2000). Hal ini dilakukan untuk mengetahui penyebaran suatu organisme berdasarkan pengulangan sekuen nukleotida. Selain itu juga dapat diketahui strain yang spesifik utamanya dalam mempelajari epidemiologi kusta. (Weng et al., 2011)

Pemetaan genom *Mycobacterium leprae* yang dilakukan tahun 2000 telah diketahui regio dengan koordinat 2.785.435 pada kuman *Mycobacterium leprae* mengalami pengulangan sekuen nukleotida TTC. Regio ini belakangan banyak diteliti mengingat fenomena pengulangan TTC ini spesifik hanya ditemukan pada *Mycobacterium leprae* dan tidak ditemukan pada spesies *Mycobacterium* lainnya. Variasi pengulangan TTC tergantung strain *Mycobacterium leprae* di daerah tersebut. (Shin et al., 2000). Beberapa penelitian sebagaimana yang dilakukan oleh Kai, et al. (2014) menyatakan

bahwa regio dengan koordinat 2.785.379-2.785.450 bp (APO14567.1) untuk strain *Mycobacterium leprae* Kyoto-2 pada kromosom *Mycobacterium leprae* mengalami pengulangan sekuen nukleotida TTC. Pemetaan genom yang dilakukan oleh Mohanty, et al (2018) di India menemukan koordinat pengulangan TTC berkisar antara 2.719.360-2.719.443 bp (CPO29543.1) untuk strain *Mycobacterium leprae* strain MRHMRU. Pemetaan genom yang laain juga pernah dilakukan oleh Monot et al (2009) menemukan koordinat 2.785.358-2.785.432 bp (FM211192.1) strain *Mycobacterium leprae* Br4923 pada kromosom *Mycobacterium leprae* mengalami pengulangan sekuen nukleotida TTC.

Variasi pengulangan sekuen nukleotida TTC dari suatu strain *Mycobacterium leprae* tetap stabil walaupun isolat tersebut telah menyebar ke daerah lain sebagaimana halnya ketika setelah disekuensing dan diinokulasi pada hewan coba berupa armadilo dan tikus, pengulangan sekuen nukleotida TTC-nya tidak berubah. (Weng et al., 2011)

2.5. Kerangka Teori



Gambar 9. Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Independent Variable Variabel Antara Dependent Variable

2.7. Hipotesis Penelitian

Hipotesis Penelitian ini adalah :

1. Strain bakteri *Mycobacterium leprae* pada pasien kusta memiliki kemiripan dengan kontak serumah pasien kusta
2. Pasien kusta dan kontak serumah pasien kusta terpapar oleh strain yang berasal dari tempat yang lain
3. Strain bakteri *Mycobacterium leprae* pasien kusta berbeda antara nasal swab dan kulit

2.8. Definisi Operasional

- a. Pasien Kusta: Pasien yang telah didiagnosis secara klinis sebagai penderita kusta berdasarkan kriteria WHO yang dilaporkan dan tercatat dalam laporan Dinas Kesehatan Kabupaten atau kota, baik merupakan pasien baru, pasien kusta yang sementara menjalani pengobatan dan pasien kusta yang sudah menjalani pengobatan

Kategori Pengelompokan:

1. Pasien baru (Index Case)
2. Pasien Sementara berobat

3. Pasien RFT (Release From Treatment)

- b. Kontak Serumah: Kontak yang tinggal bersama dalam satu rumah dengan pasien kusta termasuk anggota keluarga, PRT, atau yang bekerja dan menggunakan ruangan yang sama dalam satu rumah memiliki kontak erat dalam jangka waktu 20 jam/minggu selama minimal 3 bulan dengan pasien kusta yang belum terobati.
- c. Indeks Bakteri : indeks yang merepresentasikan jumlah basil yang didapatkan pada pemeriksaan mikroskopik dengan skala logaritma dari 0 sampai 6+ Ridley:
 - (0) tidak ditemukan BTA dalam 100 lapangan pandang
 - (1+) 1-10 BTA ditemukan dalam 100 lapangan pandang
 - (2+) 1-10 BTA ditemukan dalam 10 lapangan pandang
 - (3+) 1-10 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang
 - (4+) 10-100 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang
 - (5+) 100-1000 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang
 - (6+) lebih dari 1000 BTA atau 5 clumps dalam rata-rata 1 lapangan pandang.
- d. Indeks Morfologi (IM) : indeks yang dipakai untuk menentukan apakah basil *Mycobacterium leprae* viable atau tidak direpresentasikan dengan presentasi basil yang intak terhadap seluruh basil yang diperiksa ($a/b = x\%$).

- e. DNA *M. Leprae* : Adanya DNA *M. Leprae* yang dapat dideteksi dengan pemeriksaan PCR dengan cara amplifikasi rangkaian DNA template

Pada penelitian ini digunakan 2 primer :

1. Primer Lp

Lp1 5' TGCATGTCATGGCCTTG- AGG 3'

Lp2 5' CACCGATACCAG- CGGCAGAA 3'

Lp3 5' TGAG- GTGTCGGCGTGGTC 3'

Lp4 5' CAGAAATGGTGCAAGGGA 3'

2. primer TTC

Terdiri dari TTC-A dan TTC-B

yang mengamplifikasi gen RLEP3 X17153 yang merupakan rangkaian nukleotida spesifik *M. Leprae*. Hasil pemeriksaan PCR dikatakan positif jika pada marker dengan ketinggian 260 bp terdapat pita dan sejajar dengan kontrol positif yang berisikan DNA dari kuman *M. Leprae*.

- e. Pola Pengulangan TTC adalah jumlah pengulangan sekuens nukleotida TTC yang didapat dari hasil sekuensing regio TTC dihitung berdasarkan kemunculan secara berurutan urutan basa TTC.