

KARYA AKHIR

**KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED
MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) PADA SERUM
PENDERITA KUSTA TIPE MULTIBASILER (MB), ENL, DAN
ORANG NORMAL**

***LEVELS OF PROTEIN NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED
MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) IN SERUM OF
PATIENTS WITH MULTIBACILLARY LEPROSY,
ERYTHEMA NODOSUM LEPROSUM (ENL),
AND NORMAL PEOPLE***

**RIZKI AMELIA NOVIYANTHI
C115191005**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
PROGRAM STUDI DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**



**KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED
MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) PADA SERUM
PENDERITA KUSTA TIPE MULTIBASILER (MB), ENL,
DAN ORANG NORMAL**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis

Disusun dan diajukan oleh

RIZKI AMELIA NOVIYANTHI

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
PROGRAM STUDI DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

MAKASSAR

2023



LEMBAR PENGESAHAN

**KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED MACROPHAGE
PROTEIN-1 (NRAMP-1) PADA SERUM PENDERITA KUSTA TIPE
MULTIBASILER (MB), ENL, DAN ORANG NORMAL**

Disusun dan diajukan oleh:

RIZKI AMELIA NOVIYANTHI

Nomor Pokok: C115191005

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Spesialis Program Studi Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 12 Januari 2023 dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

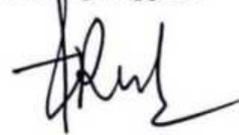
Komisi Penasehat,

Pembimbing Utama



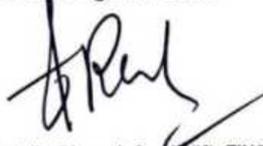
dr. Safruddin Amin, Sp.KK(K), MARS, FINSDV, FAADV
NIP: 19591109 19861011003

Pembimbing Anggota



Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV
NIP: 19660213 1996031001

Ketua Program Studi



Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV
NIP: 19660213 1996031001

Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. dr. Haerani Basyid, Sp.PD, KGH, Sp-GK, FINASIM, M.Kes
NIP: 19680530 1996032001



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rizki Amelia Noviyanthi

No. Stambuk : C115191005

Program Studi : Dermatologi dan Venereologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 12 Januari 2023

Yang menyatakan,



Rizki Amelia Noviyanthi



KATA PENGANTAR

Segala hormat, puji, dan syukur ke hadirat Allah SWT atas seluruh berkat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat selesai. Saya mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah berperan sehingga saya dapat menempuh Pendidikan Dokter Spesialis I sampai tersusunnya tesis ini.

Kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis I Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, saya mengucapkan banyak terima kasih atas izin dan kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan dokter spesialis di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Kepada yang saya hormati dr. Safruddin Amin, Sp.KK(K), MARS, FINS DV, FAADV sebagai pembimbing utama pada penelitian saya, saya ucapkan terima kasih banyak atas semua arahan, bantuan, dukungan, bimbingan, doa dan kasih sayang yang telah diberikan. Saya mengucapkan terima kasih kepada Dr. dr. Siswanto Wahab, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV selaku Kepala Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, juga kepada yang terhormat Ketua Program Studi Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang juga pembimbing II tesis saya Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV atas segala curahan perhatian, bimbingan, arahan, didikan, kebaikan, nasehat serta masukan selama saya menempuh pendidikan sampai tersusunnya tesis ini.

Kepada yang terhormat Dr. dr. Burhanuddin Bahar, M.Si sebagai pembimbing statistik / metode penelitian saya, atas segala ajaran, kebaikan, serta masukannya sehingga tesis ini dapat selesai. Kepada yang terhormat pembimbing 1 dan 2 saya, Dr. dr. Faridha Ilyas, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV



dan Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK atas segala masukan, kebaikan, didikan, arahan, inspirasi, dan umpan balik yang disampaikan selama penyusunan tesis ini. Semoga segala kebaikan pembimbing dan penguji tesis ini dibalas dengan kebaikan dan keberkahan berlimpah dari Allah SWT.

Kepada yang terhormat seluruh staf pengajar dan guru-guru saya di Departemen Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala bimbingan dan kesabaran dalam mendidik sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini dengan lancar, semoga ilmu yang telah diberikan dapat menjadi bekal bagi saya dan bermanfaat bagi masyarakat luas.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada suami saya tercinta dr. Azhar, MARS dan anak - anak saya tersayang Muhammad Fatih Kautsarrazky dan Myesha Freya Khumairah, kedua orang tua saya; ayah saya Prof. Dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) dan ibu saya dr. Ratnawati, dan kedua mertua saya; ayah mertua H. Muh. Arsyad AS dan ibu mertua Hj. Halija Kinni atas segala cinta, kasih sayang, doa, dukungan baik moril maupun materil, semangat, pengorbanan, dan nasehat sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini. Kepada seluruh keluarga besar saya yang telah mendampingi saya serta memberikan semangat dan dukungan doa serta ketulusan, kesabaran dan kasih sayang yang begitu berarti dalam menyelesaikan pendidikan ini. Kupanjatkan doa kepada Allah SWT agar mereka senantiasa dilimpahkan keberkahan, kesehatan, rezeki, dan kebahagiaan yang berlimpah.

Kepada seluruh teman-teman Peserta Program Pendidikan Spesialisasi logi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, sahabat - sahabat terbaik saya dr. Nurul Rezki Fitriani Azis, Sp. DV, dr. ovauli Hutabarat, Sp. DV, dr. Rika Yulizah Gobel, Sp. DV, dr. Sheila



Hustadi Budiawan, terima kasih atas segala bantuan, dorongan dan pengertian teman-teman selama bersama-sama menjalani pendidikan ini. Terima kasih atas segala perhatian, dukungan, semangat, persahabatan, dan masukan sehingga memudahkan saya menyelesaikan tesis ini.

Terima kasih kepada semua pihak yang namanya tidak tercantum namun telah banyak membantu dalam proses pendidikan penulis dan telah menjadi inspirasi dan peajaran berharga bagi penulis. Doa terbaik terpanjatkan agar kiranya Allah SWT memberi balasan berkali-kali lipat untuk setiap amalan dan masukan dalam proses pendidikan ini.

Makassar, 12 Januari 2023

RIZKI AMELIA NOVIYANTHI



ABSTRAK

RIZKI AMELIA NOVIYANTHI. *Kadar Protein Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) pada Serum Penderita Kusta Tipe Multibasiler (Mb), ENL, dan Orang Normal (dibimbing oleh Safruddin Amin dan Khairuddin Djawad).*

Erythema nodosum leprosum (ENL) adalah komplikasi kusta berupa reaksi kekebalan tubuh yang berlebihan terhadap *Mycobacterium leprae* (Mleprae) yang disertai peradangan akut. ENL dapat menyebabkan kecacatan dan disabilitas sehingga menurunkan kualitas hidup penderita. Penanganan yang baik pada ENL akan menurunkan angka kecacatan. Patogenesis molekuler dari ENL sangat kompleks dan peran mekanisme kerentanan inang (*host susceptibility*) seperti Natural Resistance Associated Macrophages Protein-1 (NRAMP-1) masih belum jelas. Diperlukan cara yang efektif dan efisien untuk mempelajari kejadian ENL dan bagaimana cara memprediksi timbulnya ENL. ENL didiagnosis berdasarkan anamnesis, gejala klinis, dan pemeriksaan mikroskopis basil tahan asam (BTA). Penelitian ini menilai profil kadar protein NRAMP-1 dalam serum penderita ENL dan dibandingkan dengan penderita kusta tipe Multibasiler (MB) dan orang normal. Dua belas sampel penderita ENL dan dua belas sampel penderita kusta tipe MB dikumpulkan dari beberapa puskesmas dan rumah sakit di daerah endemis Indonesia. Diagnosis ENL dan kusta MB didasarkan gejala klinis dan dikonfirmasi dengan pemeriksaan BTA dari lesi pada kulit dan cuping telinga. Sebagai pembandingan diperiksa serum orang sehat sebanyak dua belas orang yang diambil dari Dinas Transfusi Darah (UTD Makassar). Semua serum sampel berasal dari bank sampel pada Laboratorium Molekular Biologi dan Imunologi FK Unhas yang dikumpulkan dari tahun 2004-2014 dan disimpan dalam *deep freezer* pada suhu -80°C . Kadar protein NRAMP-1 ditentukan dengan menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar protein NRAMP-1 pada kelompok ENL ialah 834,37 ng/ml, sedangkan rerata kadar protein NRAMP-1 pada kelompok kusta MB dan orang sehat masing-masing 1.434,0 ng/ml. dan 2.198,79 ng/ml. Rerata BI dan MI pada kelompok penderita ENL ialah 3,33 dan 59,62%. Sementara rerata BI dan MI pada kelompok kusta MB ialah 2,67 dan 81,90%. Disimpulkan bahwa rerata kadar protein NRAMP-1 pada kelompok ENL lebih rendah secara bermakna dibandingkan rerata kadar protein NRAMP-1 kelompok kusta MB dan orang sehat. Demikian pula rerata kadar protein NRAMP-1 pada kelompok kusta MB lebih rendah secara bermakna dibandingkan rerata kadar protein NRAMP-1 kelompok orang sehat. Rerata BI pada kelompok ENL lebih rendah secara bermakna dibandingkan rerata BI pada kelompok kusta MB, Sebaliknya, rerata MI pada kelompok ENL lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kusta MB.

Kata kunci: *erythema nodosum leprosum*, NRAMP-1, ELISA



ABSTRACT

RIZKI AMELIA NOVIYANTHI. *Levels of Natural Resistance Associated with Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) in Sera of Multibacillary (MB), ENL, and Normal Leprosy Patients* (supervised by Safruddin Amin^{1,3}, Khairuddin Djawad)

The Erythema Nodosum Leprosum (ENL) is a leprosy complication in the form of an excessive immune reaction on the *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) accompanied by an acute inflammation. ENL can cause disablement and disabilities thereby it reduces the patients' life quality. Good management of ENL will reduce the disability rate. The molecular pathogenesis of ENL is very complex and the role of the host susceptibility mechanisms such as Natural Resistance Associated Macrophages Protein-1 (NRAMP-1) is still unclear. An effective and efficient way to study the incident of ENL and how to predict the onset of ENL is needed. The Erythema Nodosum Leprosum (ENL) is diagnosed based on the anamnesis, clinical symptom and microscopic examination of the acid-resistant bacilli (BTA). The research aims to assess the profile of NRAMP-1 protein level in the serum of ENL patients and compared it with the Multibacillary (MB) leprosy patients and normal people. Twelve samples of ENL patients and 12 samples of MB leprosy patients were collected from several health centers and hospitals in the endemic areas of Indonesia. The diagnosis of ENL and MB leprosy was based on the clinical symptoms and confirmed by acid-resistant bacilli (BTA) examination of the skin and ear lobe lesions. The sera from 12 healthy individuals taken from the Blood Transfusion Service (UTD Makassar) were used as the comparison. All serum samples came from the sample bank in the Laboratory of Molecular Biology and Immunology Faculty of Medicine UNHAS, which were collected from 2004-2014 and stored in the deep freezer at -80°C . NRAMP-1 protein levels were determined using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). The research result indicates that the mean of NRAMP-1 protein level in the ENL group is 834.37 ng/mL while the means of NRAMP-1 protein levels in the MB leprosy group and healthy people are 1434.0 ng/mL and 2198.79 ng/mL, respectively. The means of BI and MI in the ENL group are 3.33 and 59.62%. While the means of BI and MI in the MB leprosy group are 2.67 and 81.90%. It can be concluded that the mean of NRAMP-1 protein level in the ENL group is significantly lower than the mean of NRAMP-1 protein level in the MB leprosy group and healthy people. Similarly, the mean of NRAMP-1 protein level in the MB leprosy group is significantly lower than the mean of NRAMP-1 protein level in the healthy group. The mean of BI in the ENL group is significantly lower than the mean of BI in the MB leprosy group. Conversely, the mean of MI in the ENL group is significantly higher than the MB leprosy group.

Key words: ELISA, Erythema Nodosum Leprosum, NRAMP-1



DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUNG.....	i
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	x
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.3.1. Tujuan Umum	5
1.3.2. Tujuan Khusus	5
1.4. Hipotesis Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	5
1.5.1. Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu	5
1.5.2. Manfaat Aplikasi Untuk Masyarakat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tinjauan Umum Penyakit Kusta	7
2.1.1. Definisi	7
2.1.2. Epidemiologi	7
2.1.3. Etiologi dan Penularan	8
2.1.4. Patogenesis	9
2.1.5. Faktor Risiko	10
2.1.6. Klasifikasi	10
2.1.7. Diagnosis	11
2.1.8. Pengobatan	12
2.2. Erythema Nodosum Leprosum (ENL)	12
2.2.1. Definisi Erythema Nodosum Leprosum (ENL)	12
2.2.2. Epidemiologi.....	12
2.2.3. Patogenesis	13
2.2.4. Faktor Risiko	15



2.2.5. Gambaran Klinis	15
2.2.6. Tatalaksana	15
2.3. Gen Host Susceptibility	17
2.3.1. Natural Resistance Associate Macrophage Protein-1 (NRAMP-1)	17
2.4. Kerangka Teori	22
2.5. Kerangka Konsep	22
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1. Rancangan Penelitian	23
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.3. Populasi Penelitian	23
3.4. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	23
3.5. Perkiraan Besar Sampel	24
3.6. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	24
3.6.1. Kriteria Inklusi Subjek Penelitian	24
3.6.2. Kriteria Eksklusi Subjek Penelitian	25
3.7. Definisi Operasional	25
3.8. Ijin Penelitian dan Kelayakan Etik (Ethical Clearance)	26
3.9. Prosedur Penelitian	26
3.9.1. Pencatatan Data Subjek Penelitian	26
3.9.2. Alat.....	27
3.9.3. Bahan.....	27
3.9.4. Cara Kerja	27
3.10. Pengolahan dan Analisis Data	28
3.11. Alur Penelitian	29
BAB VI HASIL PENELITIAN	30
4.1 Karakteristik Subjek	30
4.2 Analisis Perbandingan protein NRAMP-1 antara ENL, Kusta MB, dan Orang Sehat	31
PEMBAHASAN.....	36
KESIMPULAN DAN SARAN	42



5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi <i>Mycobacterium leprae</i> (<i>M. leprae</i>) dengan pewarnaan Basil Tahan Asam dan di bawah elektron mikroskop	8
Gambar 2. Mencit nude mice dan Armadillo	8
Gambar 3 . Mekanisme respon imun pada ENL	14
Gambar 4. Molekular mekanisme gen NRAMP-1 dalam menghambat multiplikasi mikroorganisme didalam sitoplasma sel makrofag dari host	20
Gambar 5. Lokasi gen NRAMP-1 pada kromosom 2q35	21
Gambar 6. Kerangka Teori.....	22
Gambar 7. Kerangka Konsep	22
Gambar 8. Alur penelitian	29
Gambar 9. Perbandingan Kadar Protein NRAMP-1 antara ENL, Kusta MB dan Orang Sehat.....	35



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kruskal Wallis.....	24
Tabel 2. Karakteristik Subjek Penelitian.....	30
Tabel 3. Perbandingan Kadar Protein NRAMP-1 antara ENL, Kusta MB dan Orang Sehat.....	31
Tabel 4. Perbandingan BI dan MI Antara Penderita ENL dan Kusta MB.....	32
Tabel 5. Perbandingan Kadar Protein NRAMP-1 Berdasarkan Jenis Kelamin pada Penderita ENL, dan Kusta MB.....	33
Tabel 6. Perbandingan Kadar BI Berdasarkan Jenis Kelamin pada Penderita ENL, dan Kusta MB.....	34
Tabel 7. Perbandingan Kadar MI Berdasarkan Jenis Kelamin pada Penderita ENL, dan Kusta MB.....	34



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kusta merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae* yang tergolong dalam basil tahan asam. Penyakit ini terutama menyerang kulit, saraf tepi, mukosa saluran pernapasan atas, dan mata (Pinheiro *et al.*, 2018). Jumlah kasus baru kusta yang terdeteksi di Indonesia belum mengalami penurunan yang signifikan sehingga masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat di Indonesia (Delfina *et al.*, 2017). Bakteri penyebab kusta berkembang dengan sangat lambat. Penyakit ini memiliki masa inkubasi rerata selama lima tahun dan gejala mungkin tidak muncul selama 20 tahun (Hatta M, 2003; Hatta dkk,1995, Bakker, dkk, 2005).

Berdasarkan kriteria WHO, penyakit Kusta mempunyai 2 spektrum berdasarkan jumlah bakteri yang ditemukan pada penderita yaitu tuberkuloid atau tipe paucibasiler (PB) dan lepromatosa atau tipe multibasiler (MB). Dari 264 penderita kusta baru, ditemukan 38-51% penderita kusta tipe MB (Fe Eleanor, dkk, 2007). Deteksi kasus kusta untuk tujuan pengobatan disederhanakan berdasarkan jumlah lesi kulit meliputi kusta tipe PB memiliki satu hingga lima lesi kulit, dan kusta tipe MB yang memiliki enam atau lebih lesi kulit (Nobre *et al.*, 2017; Serra *et al.*, 2019). Kusta tipe MB terjadi pada orang yang tidak memiliki kekebalan seluler yang kuat terhadap *M. leprae*, sehingga jumlah basiler tinggi dan menjadi sumber utama infeksi. Strategi untuk menghentikan penularan berkaitan dengan cara mendiagnosis dan mengobati kasus tipe MB (Nobre *et al.*, 2017).

Kusta dapat menimbulkan komplikasi yaitu reaksi kusta yaitu reaksi Reversal dan Eritema Nodosum Leprosum (ENL). Reaksi reversal adalah peningkatan aktivitas sistem kekebalan tubuh dalam melawan basil lepra atau sisa basil yang mati Eritema Nodosum Leprosum (ENL) adalah reaksi kusta berupa reaksi hipersensitivitas tipe II dengan peradangan yang berlebihan tubuh terhadap *M. leprae* (Semwal *et al.*, 2018).



Faktor risiko ENL diantaranya adalah menurut penelitian Brigitte, et.al (2007), menyimpulkan bahwa tipe kusta MB berisiko 4 kali lebih besar untuk mengalami reaksi ENL dan umur saat didiagnosis kusta lebih dari 15 tahun berisiko 2 kali lebih besar mengalami ENL (Brigitte, et.al,2007). ENL umumnya terjadi pada wanita dan pria usia muda. (Scollard et.al.,2015).

Berdasarkan data WHO banyaknya pasien yang terkena reaksi kusta tipe ENL hingga timbul deformitas, didominasi oleh tipe MB sebanyak 67.160 kasus (WHO, 2017). Erythema Nodosum Leprosum (ENL) pada umumnya terjadi pada pasien kusta tipe lepromatous seperti BL (10%) dan LL (50%) (Van Veen et al., 2009). Secara umum, proporsi kasus ENL dengan berbagai jenis desain penelitian di studi lapangan sebesar 4,5% (Voorend dan Post, 2013). Lockwood pada tahun 2004 melaporkan bahwa kusta tipe MB sering terjadi reaksi kusta tipe 2 yaitu ENL (Gobena, 2016).

ENL dapat menyebabkan kecacatan dan disabilitas sehingga kualitas hidup penderita menurun. Penanganan yang baik pada ENL akan menurunkan angka kecacatan. ENL dapat timbul pada sebelum dan saat pengobatan, bahkan setelah pengobatan. ENL dapat terjadi pada beberapa episode baik akut maupun kronik. ENL terjadi pada kusta tipe multibasiler (MB). Reaksi ENL ditemukan terjadi antara 19- 26 % dari kasus kusta tipe MB di Nepal, India dan Thailand (Pocatera,2006 ; Kahawita,2008) Di Indonesia di RSUD Dr. Sutomo Surabaya ditemukan 24% penderita kusta MB mengalami reaksi ENL. (Listiawan, 2011).

Indonesia merupakan negara dengan insiden terbanyak ketiga di dunia penderita kusta setelah India dan Brazil. Pada tahun 2012 jumlah kasus baru tercatat 18.994 orang dan jumlah kasus terdaftar 22.390 orang dengan angka prevalensi 0,86 per 10.000 penduduk, dan 80,96 % diantaranya merupakan kusta tipe multibasiler (MB) (WHO, 2013).

Kejadian reaksi kusta ENL, berhubungan dengan perubahan aktivitas sitokin pada penderita (Iyer, 2007). Profil sekresi IFN- γ , IL-4 pada kulit kusta pada sel T bergeser polarisasi ke fenotipe tipe-1 (Verhageen, Kehadiran sejumlah basil dalam kusta tipe MB menunjukkan kemampuan makrofag untuk mengolah mikroorganisme. Hal ini dapat



dijelaskan oleh kehadiran sitokin yang menghambat aktivitas anti mikroba dari makrofag.

Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) diketahui berperan penting dalam pertahanan terhadap bakteri intraseluler. Fungsi pompa NRAMP-1 dapat mengurangi ketersediaan besi di dalam fagosom dengan cara memompa besi keluar ke sitoplasma. Akibatnya, pertumbuhan mikroba menjadi terhambat karena besi diperlukan dalam replikasi dan pertahanan mikroba di dalam makrofag. Aktivitas NRAMP-1 telah diketahui dapat mempengaruhi kerentanan terhadap berbagai penyakit infeksi, salah satunya adalah MB leprosis

Telah dilakukan penelitian terhadap kandidat gen untuk kepekaan terhadap infeksi *S. typhi* dan *M. leprae* yang berpengaruh terhadap kejadian infeksi pada manusia diantaranya adanya polimorfisme dari gen NRAMP-1. Penelitian tersebut menghubungkan polimorfisme gen NRAMP-1 pada lokus atau urutan nukleotida tertentu dengan kejadian infeksi yang disebabkan *S. typhi*, dengan melihat polimorfisme gen NRAMP-1 pada lokus 3'Untranslated Region (3'UTR), Intron 4 (INT4) dan D543N pada penderita demam tifoid (Dwiyanti dkk, 2017).

NRAMP-1 merupakan kandidat gen yang berperan dalam regulasi resistensi dan susceptibility terhadap *Salmonella typhimurium*, *Leishmania donovani*, *Mycobacterium bovis*BCG, dan pertama kali diisolasi dari tikus (Ellen, et al, 2001; Jenefer, et al, 2003). Homolog gen NRAMP-1 ditemukan pada manusia berlokasi pada kromosom 2q35, terdapat 3 lokus gen NRAMP-1 yaitu D543N, 3' UTR, dan INT4. Kaitan antara gen NRAMP-1 dengan penyakit tuberkulosis telah banyak diteliti, namun informasi mengenai peranan NRAMP-1 terhadap susceptibility penyakit kusta masih terbatas. NRAMP-1 berkaitan dengan resistensi alami terhadap infeksi patogen intraseluler.

Protein NRAMP-1 terlokalisasi pada late endosom atau lisosom dari makrofag dan mengantarkan kation divalent pada fagosom yang bergantung pada pH, yang kemudian mengarah kepada penurunan proses replikasi DNA dan respirasi mikroorganisme. Namun mekanisme yang akurat dari fungsi NRAMP-1 belum diketahui jelas (Samantha dan Philippe, 2000; Bryan dan



Matthias, 2004; Yaniv dan Nathan, 2006; Courville, et al, 2006). Beberapa bukti menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara polimorfisme NRAMP-1 bagian 3' UTR (*Un-translated Region*) dengan resistensi atau susceptibility pada penderita kusta.

Penelitian lain mengemukakan bahwa polimorfisme lokus D543N dari gen NRAMP-1 dengan genotyping mutan 274 T/T ditemukan dominan pada ENL dan polimorfisme dengan genotyping 274 C/T dari gen NRAMP-1 dapat membantu dalam menentukan kerentanan terjadinya Reversal Reaction (RR) penderita kusta. Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa polimorfisme gen NRAMP-1 mempunyai korelasi dengan kejadian reaksi kusta baik Erythema Nodosum Leprosum (ENL) maupun Reversal Reaction (RR) (Teixeira, dkk, 2010).

Disamping itu menurut Blackwell (2001), kemungkinan adanya pengaruh langsung gen NRAMP-1 pada beberapa mikroorganisme patogen yang terdapat dalam sel makrofag. Gen NRAMP-1 dapat pula bersifat pleiotropik yang mana berfungsi dalam keseimbangan antara fungsi T helper 1 (Th1) dan T helper 2 (Th2) terhadap respon imun adaptif dalam keadaan infeksi.

Makrofag menggunakan banyak jalur untuk menghambat perkembangan bakteri intraseluler yang menggunakan zat besi sebagai faktor pertumbuhannya. Jalur pertama ialah melalui sitokin seperti IFN-gamma yang menghambat ekspresi transkripsi reseptor transferin (TfR). Mekanisme lain ialah menstimulasi ekspresi hepcidin di hati, yang merupakan salah satu mekanisme untuk pembatasan zat besi untuk mencegah pertumbuhan bakteri patogen. (Wessling RM, 2015).

Fungsi gen NRAMP-1 dalam aktifitas makrofag sebagai pengangkut divalen kation (Fe^{2+} , Zn^{2+} , dan Mn^{2+}) Ion Fe^{2+} menghasilkan antimikrobal hidroksil yang radikal pada reaksi Fenton. Ion Zn^{2+} dan Mn^{2+} dapat juga mempengaruhi aktivitas endosomal menghasilkan metaloprotease dan penghancuran fagolisosom. Kebanyakan seluler berfungsi pada dependen ion logam sebagai kofaktor dapat menjelaskan efek pleiotropik NRAMP-1 dan pada infeksi penyakit autoimun. (Wessling RM, 2015; Yang dkk, 2000).



Berdasarkan penjelasan diatas maka akan dilakukan penelitian mengenai kadar protein NRAMP-1 pada penderita kusta tipe MB, ENL dan orang normal sebagai pembanding (kontrol negatif).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kadar protein NRAMP-1 pada penderita ENL lebih rendah dibandingkan dengan penderita kusta tipe MB?
2. Apakah kadar protein NRAMP-1 pada penderita ENL lebih rendah dibandingkan dengan orang normal?
3. Apakah kadar protein NRAMP-1 pada penderita kusta tipe MB lebih rendah dibandingkan orang normal?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui kadar protein NRAMP-1 pada penderita kusta tipe MB dan ENL

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui nilai/kadar protein NRAMP-1 pada penderita ENL dibandingkan dengan penderita kusta tipe MB
2. Mengetahui nilai/kadar protein NRAMP-1 pada penderita ENL dibandingkan dengan orang normal
3. Mengetahui nilai/kadar protein NRAMP-1 pada penderita kusta tipe MB dibandingkan dengan orang normal



1.4 Hipotesis Penelitian

1. Kadar protein NRAMP-1 pada penderita ENL lebih rendah dibandingkan dengan penderita kusta tipe MB
2. Kadar protein NRAMP-1 pada penderita ENL lebih rendah dibandingkan dengan orang normal
3. Kadar protein NRAMP-1 pada penderita kusta tipe MB lebih rendah dibandingkan orang normal

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu

Kadar NRAMP-1 dapat dijadikan sebagai biomarker untuk memprediksi terjadinya ENL pada penderita kusta tipe MB

1.5.2 Manfaat Aplikasi Untuk Masyarakat

Dapat menjadi referensi bagi penelitian-penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan gen *host susceptibility* (vitamin D receptor (VDR), Nucleotide Oligomerase Domain-2 (NOD-2), Parkinson-2 (PARK-2)) pada penderita kusta



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Penyakit Kusta

2.1.1 Definisi

Kusta adalah suatu penyakit infeksi menahun yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), dan mempunyai gejala klinis yang khas sehingga dapat dengan mudah untuk dibedakan dengan penyakit lain. *M. leprae* ditemukan oleh Hansen pada tahun 1874 dan mempunyai keunikan dimana sampai saat ini, kuman tersebut tidak dapat dibiakkan secara in vitro. Penderita kusta yang memiliki kekebalan yang masih tinggi akan menderita kusta tuberkuloid, dengan lesi kulit tunggal dan tidak ada basil yang terdeteksi. Sedangkan penderita kusta yang tidak memiliki *cell-mediated immunity* (CMI) akan menderita kusta lepromatosa, dengan area kulit yang disusupi oleh histiosit berbusa yang diisi dengan basil kusta. Tipe lain kusta diantaranya adalah borderline, borderline tuberculoid (BT), mid-borderline (BB), dan borderline lepromatous (BL), dengan penurunan kadar CMI dan peningkatan beban basiler. (Legua, 2018).

2.1.2 Epidemiologi

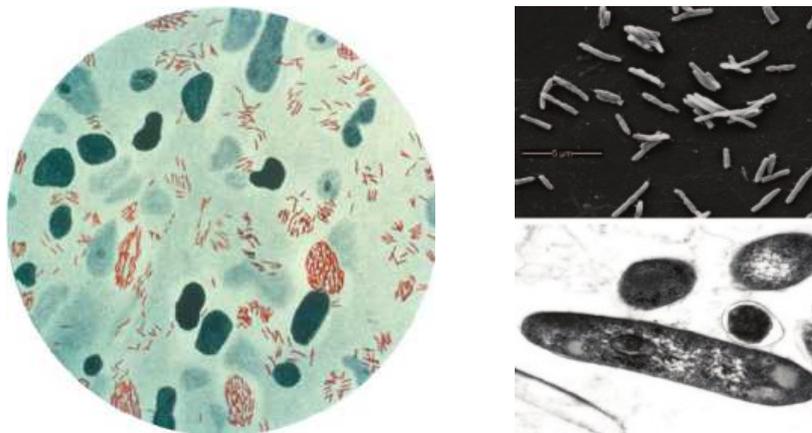
Berdasarkan data WHO (2019), tercatat berkisar 184.238 penderita kusta yang saat ini masih dalam pengobatan, dimana sebagian besar penderita berada dikawasan Asia, Afrika, Amerika Latin dan Pasifik, serta Indonesia menduduki urutan ketiga terbesar setelah Brasil dan India dalam jumlah kasus kusta. Walaupun program World Health Organization dalam masalah kesehatan masyarakat saat ini untuk bebas kusta, namun prevalensi kusta masih sebesar 0.24/10.000 populasi secara umum. Dengan demikian program menurunkan angka prevalensi kusta ini nampaknya tidak akan menyelesaikan masalah kusta sebagai masalah kesehatan, terutama pada daerah endemik kusta. Hal ini dapat dilakukan, pemberian obat *Multidrug Therapy* (MDT) dan profilaksis, sebagai sarana an penularan dan mencegah kerusakan syaraf pada penderita (Bakker, 5).



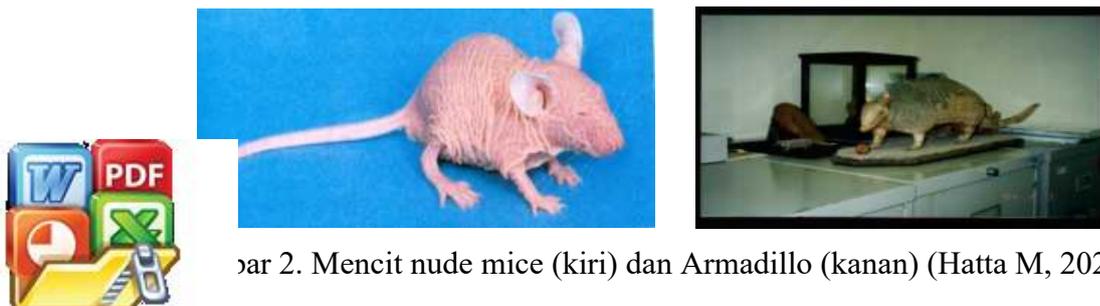
2.1.3 Etiologi dan Penularan

Mycobacterium leprae (*M. leprae*) atau sinonimnya ialah *Bacillus leprae*, *Bacillus Hansen*, *Basil lepra* dan merupakan spesies dari family *Mycobacteriaceae*, genus *Mycobacterium* (Hatta M, 2020). *M. leprae* adalah bakteri gram positif berbentuk batang (basil), lurus dengan ujung bulat, tidak berspora, dengan ukuran $0.4 \times 0.9 \mu\text{m}$ dan tahan asam bila diwarnai dengan pewarnaan gram. Ziehl Neelsen (ZN) yang merupakan pewarnaan khusus terhadap Basil Tahan Asam (BTA), dimana *M. leprae* dapat terlihat dalam bentuk tunggal, bundle parallel atau globi dalam sel makrofag atau monosit (intraselular) (de Soldenhoff, dkk, 1998).

Basil *M. leprae* tidak dapat tumbuh secara invitro. Hanya dapat hidup pada manusia dan armadillo (*Dasypus novencinctus*) atau pada foot pad mencit nude mice. Namun ada pendapat yang mengemukakan kemungkinan *M. leprae* dapat hidup pada monyet dan burung dan bertahan hidup pada suhu 4°C (Hatta M, 2020).



Gambar 1. Morfologi *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) dengan pewarnaan Basil Tahan Asam dan di bawah elektron mikroskop (Rinaldi A, 2005; Scollard dkk, 2006)



Gambar 2. Mencit nude mice (kiri) dan Armadillo (kanan) (Hatta M, 2020)



Mekanisme penularan kusta tidak sepenuhnya dipahami, tetapi diyakini melalui kontak erat yang lama dan terus-menerus antara individu yang rentan dan pasien yang terinfeksi *bacillus* melalui inhalasi basil yang terkandung dalam sekresi hidung atau tetesan Flügge. Individu yang tidak diobati dengan infeksi kusta lepromatosa biasanya mengandung banyak basil. Terdapat laporan yang menunjukkan bahwa infeksi inang berpotensi terjadi melalui kulit yang rusak (Bhandari *et al.*, 2021). Rute transmisi lainnya, seperti darah, transmisi vertikal, ASI, dan gigitan serangga (Lastória dan de Abreu, 2014).

2.1.4 Patogenesis

M. leprae adalah basil gram positif yang tahan asam yang mempunyai predileksi pada jaringan kulit dan sistem saraf perifer (terutama sel Schwann). Patogenesitas yang rendah, dimana hanya sebagian kecil orang yang terinfeksi menunjukkan gejala penyakit dengan masa inkubasi yang bervariasi dari 6 bulan sampai 40 tahun atau lebih. Setelah memasuki tubuh, basil bermigrasi menuju jaringan saraf dan memasuki sel Schwann. Toll-like Receptor (TLR) juga berperan penting dalam patogenesis kusta. TLRs, seperti TLR-1 dan TLR-2, ditemukan pada permukaan sel Schwann, terutama pada penderita kusta tuberkuloid. *M. leprae* mengaktifkan reseptor ini pada sel Schwann, yang diduga bertanggung jawab atas aktivasi gen apoptosis dan yang meningkatkan onset kerusakan saraf yang terlihat pada penyakit ringan. Bakteri juga dapat ditemukan di makrofag, sel otot, dan sel endotel pembuluh darah. Setelah memasuki sel Schwann atau makrofag, replikasi basil ini tergantung pada sistem imun individu yang terinfeksi *M. leprae*. Bacillus mulai berkembang perlahan dengan waktu replikasi sekitar 12 hingga 14 hari untuk satu bakteri membelah menjadi dua di dalam sel, yang kemudian dibebaskan dari sel yang hancur dan memasuki sel lain yang tidak terpengaruh. Hingga tahap ini seseorang bisa tetap terbebas dari tanda dan gejala kusta.



aat basil berkembang, jumlah bakteri akan meningkat dalam tubuh dan akan direspon oleh sistem imun penderita. Limfosit dan histiosit (g) menyerang jaringan yang terinfeksi. Pada tahap ini manifestasi klinis

dapat muncul sebagai keterlibatan saraf dengan gangguan sensoris atau adanya lesi pada kulit. Jika tidak didiagnosis dan diobati pada tahap awal, perkembangan penyakit lebih lanjut ditentukan oleh kekuatan respons imun pasien. Imunitas yang dimediasi CMI akan efektif memberikan perlindungan pada seseorang dari penyakit kusta. Bila CMI spesifik efektif, maka tubuh penderita akan dapat mengendalikan infeksi sehingga lesi sembuh secara spontan atau menghasilkan kusta tipe paucibacillary (PB). Sebaliknya, bila CMI kurang efektif maka penyakit ini menyebar tidak terkontrol dan menghasilkan kusta multibasiler (MB). Melalui aliran darah, maka infeksi dapat terjadi pada organ lain seperti hati, limpa, adrenal, testis dan sumsum tulang.

Kusta lepromatosa (MB) lebih menular dibandingkan jenis lain dan memiliki prognosis yang buruk. Pada semua tipe kusta baik MB maupun PB, *M. leprae* menyerang saraf sensorik dan motorik serta merusak serabut saraf. Kadang-kadang respon imun tiba-tiba berubah, baik setelah pengobatan maupun karena perbaikan status imunologi, yang mengakibatkan peradangan pada kulit dan / atau saraf bahkan jaringan lain yang disebut dengan reaksi kusta.

2.1.5 Faktor Risiko

Kerentanan seseorang terhadap penularan kusta sangat bervariasi dan multifaktorial, yaitu adanya kontak langsung dengan pasien dengan kusta secara signifikan meningkatkan kemungkinan penularan penyakit, penularan strain *M. leprae* dari armadillo ke manusia yang ditemukan di AS selatan, serta usia yang lebih tua rentan terhadap resiko menderita kusta dimana pada beberapa penelitian menunjukkan peningkatan risiko terjadi pada usia antara 5 hingga 15 tahun dan risiko lanjutan setelah 30 tahun. Faktor risiko lain yaitu adanya pengaruh genetik dan penekanan sistem kekebalan tubuh. (Bhandari, dkk., 2021)

2.1.6 Klasifikasi

Pada tahun 1982 WHO mengembangkan cara untuk diagnosa penderita kusta dilapangan, berdasarkan jumlah bakteri yang ditemukan pada penderita. ini dibagi dua grup, yaitu kusta paucibacillar (PB), dimana jika hanya lesi tunggal hingga lima lesi kulit tanpa adanya basil pada pemeriksaan



slit smear kulit, dan kusta multibasiler (MB), dimana terdapat enam atau lebih lesi kulit dengan pemeriksaan *slit smear* kulit positif (Bhandari *et al.*, 2021).

Manifestasi histopatologis kusta beragam dan tergantung pada respon imun seluler terhadap kompleks *M. leprae*. Kusta tuberkuloid (TT) dan borderline tuberkuloid (BT) ditandai dengan infiltrasi dermis dan lemak subkutan dengan granuloma epithelioid non-caseating yang terdefinisi dengan baik dan sedikit atau tidak ada AFB. Sedangkan Kusta lepromatosa (LL) dan borderline lepromatosa (BL) terdiri dari makrofag dengan sitoplasma vacuolar, sel plasma, limfosit, dan banyak AFB. Klasifikasi tersebut merupakan sistem klasifikasi Ridley-Jopling mencakup seluruh kedalaman fitur klinis. Secara keseluruhan, klasifikasi ini diterapkan menggunakan hasil kulit, biopsi, dan neurologis dari tubuh. (Bhandari *et al.*, 2021)

2.1.7 Diagnosis

Pada daerah endemik seperti Indonesia, diagnosis ditegakkan dengan menunjukkan salah satu tanda dan gejala lesi kulit dengan kehilangan sensorik yang pasti, dengan atau tanpa saraf yang menebal. Tanda dan gejala ini untuk mempermudah petugas kesehatan. Dalam prakteknya, seringkali orang yang memiliki keluhan tersebut melaporkan sendiri ke layanan kesehatan. Lesi kulit bisa tunggal atau multipel, biasanya kurang berpigmen dibandingkan kulit normal di sekitarnya. Terkadang lesi berwarna kemerahan atau berwarna tembaga. Berbagai lesi kulit dapat terlihat tetapi yang sering ditemukan makula, papul, atau nodul. Kehilangan sensorik adalah ciri khas kusta. Lesi kulit mungkin menunjukkan hilangnya sensasi pada *pin prick* dan / atau sentuhan ringan.

Saraf yang menebal, terutama saraf perifer merupakan ciri lain dari kusta. Saraf yang menebal sering kali disertai dengan tanda-tanda lain akibat kerusakan saraf. Hal ini yang memungkinkan hilangnya sensasi pada kulit dan kelemahan otot yang disuplai oleh saraf yang terkena. Dengan tidak adanya tanda-tanda ini, penebalan saraf dengan sendirinya, tanpa kehilangan sensorik dan / atau kelemahan otot kemungkinan bukan merupakan tanda kusta. Pemeriksaan *slit skin*

dapat dilakukan untuk menunjang diagnosa bila diagnosa meragukan kusta) (WHO, 2010).



2.1.8 Pengobatan

Pengobatan kusta meliputi rejimen pengobatan multiobat (MDT), yaitu dapson, rifampisin dan clofazimine berdasarkan WHO 1981. Pasien PB diobati selama enam bulan dengan dapson ditambah rifampisin; Pasien MB diobati selama 12 bulan dengan dapson, rifampisin ditambah clofazimine. Beberapa penelitian mencoba untuk mengevaluasi rejimen alternatif menggunakan kombinasi obat yang berbeda seperti rifampisin, ofloxacin, dan minocycline (Scollard, 2020)

2.2 Erythema Nodosum Leprosum (ENL)

2.2.1 Definisi Erythema Nodosum Leprosum (ENL)

Erythema Nodosum Leprosum (ENL) adalah suatu reaksi imunologi kusta dimana terjadi proses inflamasi kuat pada kulit, saraf dan organ lain. Proses awal terjadinya ENL disebabkan adanya deposit *M. leprae* pada jaringan kulit dan pembuluh darah kapiler dan reaksi imun kompleks yang ditandai adanya vasculitis. Terjadi akibat adanya ketidakseimbangan fungsi diantara sel imun yang melibatkan makrofag, *T regulation (Treg)*, sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-6 (IL6)*, *Transforming Growth Factor- β (TGF- β)* dan enzim chitotriosidase (Rusyati, dkk, 2020; Iyer, dkk, 2009).

2.2.2 Epidemiologi

ENL terjadi pada pasien dengan kusta lepromatosa dan borderline lepromatous. Angka kejadian bervariasi dari 5% sampai 40%. Angka kejadian juga bervariasi antar negara yaitu 5% di Ethiopia; 19%-26% di India, Nepal dan Thailand; dan 37% di Brasil (World Health Organization, 2019). Prevalensi ENL di Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya terus meningkat hampir setiap tahun terutama pada tahun 2017 (32% pada tahun 2015; 32% pada tahun 2016; dan 36% pada tahun 2017). ENL paling sering terjadi selama tahun pertama pemberian MDT. Kemudian diikuti setelah lepas pengobatan (RFT) dengan onset terjadi 4 tahun setelah RFT. Mayoritas pasien mengalami reaksi kronis ulang dengan reaksi terpanjang yang berlangsung hingga 4,5 tahun (a *et al.*, 2021). Pasien kusta yang telah didiagnosis ENL di RSUP Rivai



Abdullah pada tahun 2019 sebanyak 39 pasien dengan usia lebih dari 15 tahun dan sebagian besar terjadi pada laki-laki (71,8%), pekerja keras (64,1%), pendidikan Sekolah Dasar (51,3%). Sebagian besar pasien menderita kusta lebih dari 1 tahun (59,0%) dan yang memiliki riwayat pengobatan kusta adekuat (89,7%) (Hastuti *et al.*, 2019).

2.2.3 Patogenesis

ENL sering menunjukkan reaksi dari neutrofil dan sel T. Peningkatan kadar sitokin tertentu seperti *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan faktor imunologi lainnya juga telah dikaitkan dengan episode ENL. Neutrofil adalah populasi sel imun yang dominan dalam darah manusia dan memberikan perlindungan melalui fagositosis, pembentukan *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs) dan sekresi peptida antimikroba, dimana peran neutrofil dalam respon imun adaptif dan melibatkan sel limfosit dan sel penyaji antigen (APC). Sehingga neutrofil dianggap sebagai ciri histologis pada ENL. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sebanyak 30,4% biopsi kulit lesi ENL dalam 72 jam setelah onset menunjukkan dominasi neutrofil. Biopsi kulit yang dilakukan antara 9 dan 12 hari, menunjukkan neutrofil di 1,6% spesimen dan peningkatan jumlah limfosit, sel plasma dan histiosit. Neutrofil dapat mendahului kemosistesis limfosit menjadi lesi ENL, tetapi tidak jelas mengapa neutrofil tidak selalu ada pada tahap awal ENL (Mabalay, dkk, 1965).

Limfosit-T adalah bagian dari respons imun adaptif yang membantu menghambat pertumbuhan bakteri. Spesifisitas antigen sel T didasarkan pada pengenalan melalui *T-cell Receptor* (TCR) dari peptida antigenik unik yang diatur oleh molekul-molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) pada *Antigen Presenting Cell* (APC). Peran sel T dalam patofisiologi ENL terlihat dengan jumlah sel T yang lebih tinggi dalam darah perifer daripada penderita LL, meskipun LL dan ENL memiliki persentase dan jumlah absolut sel T yang lebih

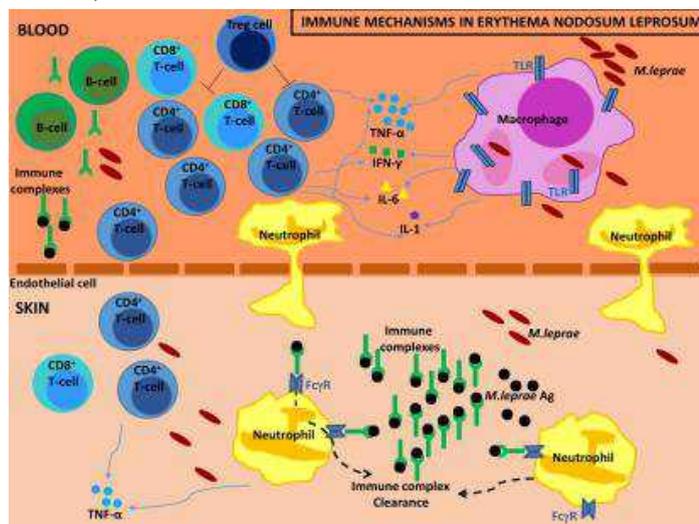
secara signifikan dibandingkan dengan kontrol yang sehat. Selain itu, sel T pada ENL akan tetap tinggi setelah pengobatan dibandingkan dengan LL (Lim, dkk, 1974).



Penelitian sebelumnya menunjukkan peningkatan ekspresi mRNA FoxP3 oleh *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC) pada pasien ENL dibandingkan dengan kontrol LL. Penelitian tersebut mengukur ekspresi Foxp3 dengan qPCR pada biopsi kulit dan PBMC dari lima pasien dengan ENL. Tren peningkatan Foxp3 di PBMC dijelaskan selama 21 hari pertama pengobatan corticosteroid (Rusyati, dkk, 2020).

Peran *Interferon-γ* (INF-γ), TNF-α dan IL6 pada ENL pertama kali diteliti pada 49 penderita ENL dengan berbagai tahap pengobatan. Kadar, IFN-γ and IL6 meningkat pada ENL dibanding non ENL dan Kadar IFN-γ, TNF-α and IL-6 menurun selama pemberian kortikosteroid, dan hal ini mungkin dapat digunakan sebagai biomarker pada masa yang akan datang (Iyer, dkk, 2007).

Mekanisme respon imun pada ENL melibatkan *Immune Complex* (ICs) dimana terjadi peningkatan pembentukan antibodi oleh sel B yang disebabkan adanya antigen *M. leprae* dan fragmentasi basil *M. leprae*. IC terjadi pada kulit dan akan menarik neutrofil dalam fungsinya untuk membantu menghilangkan IC pada permukaan *Fc-γ Receptor* (FcγRs). Peningkatan rasio subset sel T CD4+ / CD8+ dalam darah perifer dan kulit menjadi ciri gangguan ini. Di dalam makrofag yang dimana terdapat basil *M. leprae*, secara intraseluler bersama-sama dengan neutrofil dan sel T yang mengeluarkan TNF-α dan sitokin pro-inflamasi lainnya yang banyak sehingga proses terjadi ENL menjadi lebih kompleks (Polycarpou, dkk, 2017).



gambar 3 . Mekanisme respon imun pada ENL (Polycarpou, dkk, 2017)



2.2.4 Faktor Risiko

Terdapat beberapa faktor yang dianggap dapat mencetuskan ENL antara lain kusta lepromatosa, pasien yang telah mendapatkan pengobatan antikusta, indeks bakteri lebih dari +4, infeksi lain seperti Streptokokus. Faktor risiko lain meliputi usia kurang dari 40 tahun, kehamilan, trauma atau pembedahan, stres fisik dan mental (Thungady *et al.*, 2020).

2.2.5 Gambaran Klinis

ENL biasanya memiliki indeks basiler lebih dari empat dan didiagnosis secara klinis jika pasien memiliki gejala klinis berupa kulit kemerahan dan nyeri diseluruh bagian tubuh. Gejala umum lain yang terjadi yaitu adanya demam dan malaise. Keterlibatan organ dalam klinis ENL yaitu adanya kelainan pada sendi atau tulang, mata, testis, dan ginjal. Pada ENL juga dapat ditemukan kelainan saraf perifer, namun jarang. Skala keparahan ENL direkomendasikan untuk menilai tingkat keparahan ENL. Skor kurang dari delapan terjadi pada ENL ringan sementara skor lebih dari delapan terjadi pada ENL parah. Pemeriksaan laboratorium ENL tidak diperlukan untuk mengkonfirmasi diagnosis tetapi diperlukan untuk memantau komplikasi yang mungkin terjadi sebagai akibat dari obat immunosupresan yang diberikan (gula darah, jumlah darah lengkap). Pemeriksaan tinja untuk parasit, tes HIV, skrining TB (skrining gejala dan kultur dahak) ketika terdapat indikasi. Pada tingkat rujukan, nilai endapan eritrosit, fungsi ginjal, fungsi hati, pemeriksaan mata dan pemantauan kepadatan tulang harus dilakukan (World Health Organization, 2019).

2.2.6 Tatalaksana

Reaksi kusta membutuhkan penanganan segera karena dapat menyebabkan deformitas yang tidak dapat disembuhkan. MDT harus dilanjutkan dengan dosis penuh tanpa gangguan. Diagnosis dini dan pemberian anti-inflamasi yang dimulai tepat waktu sangat penting. Aspirin atau parasetamol seharusnya diberikan untuk meringankan nyeri dan demam, dan edukasi istirahat sangat penting. Pengobatan jangka panjang diperlukan untuk mencegah kekambuhan. Pengobatan jangka panjang berkali-kali berlangsung lama. Beberapa pasien mengalami satu episode ENL yang berulang. Sebagian besar akan mengalami penyakit berulang atau ENL kronis.



Terapi kortikosteroid oral dosis tinggi digunakan untuk mengendalikan peradangan namun sering kali memberikan beberapa efek samping. Terapi lain yang biasa digunakan yaitu thalidomide dan bahkan clofazimine (Walker, dkk, 2015). Disamping itu ENL menunjukkan adanya hubungan dengan status sosial ekonomi yang secara bermakna berhubungan dengan morbiditas, dan mortalitas pada pasien (Walker, dkk, 2014)

Pemberian kortikosteroid prednisolone dosis per hari tidak melebihi 1 mg/KgBB dengan total waktu 12 minggu. Pentingnya dilakukan pemeriksaan terhadap pasien setiap minggu dan penurunan dosis kortikosteroid dapat dilakukan setiap dua minggu. Dosis dan lama pemberian kortikosteroid prednisolon sebagai berikut (WHO. Management of reaction in leprosy. 2010):

1. 40 mg setiap hari selama minggu ke 1 dan 2
2. 30 mg setiap hari selama minggu ke 3 dan 4
3. 20 mg setiap hari selama minggu ke 5 dan 6
4. 15 mg setiap hari selama minggu ke 7 dan 8
5. 10 mg setiap hari selama minggu ke 9 dan 10
6. 5 mg setiap hari selama minggu ke 11 dan 12

Pemberian clofazimine diindikasikan pada kasus ENL berat yang tidak merespons secara memuaskan dengan pengobatan kortikosteroid atau dimana risiko toksisitas dengan kortikosteroid tinggi. Bila pasien sementara dalam pemberian prednisolone, maka pemberian prednisolon dilanjutkan terlebih dahulu setelah itu baru diberikan clofazimine dengan dosis lebih rendah yaitu 100 mg dua kali sehari selama 12 minggu dan kemudian 100 mg sekali sehari selama 12 hingga 24 minggu. Pemberian clofazimine tidak boleh melebihi 12 bulan dan dibutuhkan sekitar 4 hingga 6 minggu agar clofazimine berfungsi optimal dalam mengendalikan ENL. Pada kasus ini pengobatan MDT tetap dilanjutkan dan diberikan analgesik yang memadai untuk mengontrol demam dan nyeri.

Obat lain yang dapat digunakan dalam ENL adalah pentoxifylline, tunggal atau dikombinasikan dengan clofazimine maupun prednisolone. WHO tidak merekomendasikan penggunaan thalidomide untuk penanganan ENL pada kusta



karena efek samping teratogenik. (WHO, 2010 Guidelines for the management of severe erythema nodosum leprosum (ENL) reactions. 2010).

2.3 Gen Host Susceptibility

Infeksi yang disebabkan oleh berbagai macam jenis bakteri diantaranya *S. typhi*, *M. leprae*, *M. tuberculosis* sangat berhubungan dengan *host susceptibility* dari penderita itu sendiri (Mustafa, dkk, 2011), dimana telah dilakukan penelitian terhadap kandidat gen diantaranya *Singlenucleotide Polymorphism* (SNP) dari gen imunitas bawaan seperti *Nucleotide Oligomerization Domain 2* (NOD2), *Natural resistance associated macrophage protein 1* (NRAMP-1) dan *Vitamin D Receptor* (VDR) yang berpengaruh terhadap kejadian penyakit infeksi yang disebabkan bakteri intraseluler seperti *M. leprae*, *M.tuberculosis* dan *S. typhi* (Hatta, dkk, 2010; Dwiyanti, dkk, 2017). Selain itu juga telah dilakukan penelitian yang menghubungkan antara gen NRAMP-1, NOD2 dan TLR1 dengan kejadian reaksi Kusta (Teixeira, dkk, 2010)

2.3.1 Natural Resistance Associate Macrophage Protein-1 (NRAMP-1)

Gen NRAMP-1 sebelumnya dikenal dengan nama *Solute Carrier Family 11* (SLC11A1) merupakan gen spesifik penyandi proton yang berperan dalam pengaktifan kerja makrofag. Gen NRAMP-1 berfungsi sebagai aktivasi pengeluaran ion logam yang berpengaruh terhadap metabolisme mikroorganisme intraseluler, dimana dapat menghambat multiplikasi mikroorganisme patogen dan mengubah lingkungan fagolisosomal di dalam sel makrofag. Dalam melawan mikroorganisme patogen intraselular, sel makrofag mempunyai sifat integral terutama pada fase awal dimana terjadi interaksi yang signifikan antara mikroorganisme dengan sel pertahanan tubuh (makrofag). (Jeng dkk, 2005; Kissler dkk, 2006).

NRAMP-1 dapat mempengaruhi peningkatan peran *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II, apoptosis, aktivitas respirasi sel, sitokin dan kemokin (Soe Li dkk, 2009). Gen NRAMP-1 menyandi protein integral yang dilokalisir pada endosomal dan lisosomal sel. Namun cara kerja langsung dari gen NRAMP-1 belum jelas. (Dunstan,



dkk, 2001). Gen NRAMP-1 mempunyai beberapa lokus yang menunjukkan kemungkinan adanya polimorfisme urutan nukleotida, diantaranya 3' untranslated region (3'UTR, 1729+55 del 4 TGTG/del), D543N (1703 G/A) dan Intron 4 (469+14 G/C) yang mana dapat mengaktifkan peran sel makrofag dalam mengeliminasi mikroorganisme dan menghambat multiplikasi bakteri. Telah dibuktikan adanya hubungan gen NRAMP-1 sebagai gen host susceptibility dengan penyakit infeksi. Beberapa penelitian telah dilakukan tentang hubungan antara gen NRAMP-1 dan berbagai penyakit yang terkait dengan kekebalan seperti Mycobacteriosis, Salmonellosis dan Sarcoidosis. Namun hubungan tersebut belum begitu jelas (Hatta, 2010; Dwiyanti dkk, 2017).

Kerja NRAMP-1 pada infeksi mikroba yakni mengatur pengaktifan makrofag pada infeksi dan penyakit autoimun. Sedangkan NRAMP-2 mengendalikan penyakit anemia. Kedua-duanya adalah pengangkut divalen kation (Fe^{2+} , Zn^{2+} , dan Mn^{2+}), NRAMP-2 merupakan suatu simporter H^+ dan ion logam, sedangkan NRAMP-1 adalah suatu antiporter H^+ atau divalen kation. Hal ini menyediakan suatu model untuk ion logam homeostasis di dalam makrofag. NRAMP-2 dilokasi awal endosom dengan ekstraseluler memperoleh divalen kation ke dalam sitosol. NRAMP-1 dilokasi untuk memperlambat proses lisosom yang membawa divalen kation dari sitosol ke fagolisom. Gen NRAMP-1 dikode pada membran protein integral yang diekspresikan dalam leukosit makrofag/monosit dan polimorfonuklear. Dimana pada protein dilokalisasi dalam lisosomal diruangan makrofag dengan cepat dihancurkan dalam partikel membran fagosom pada proses fagositosis. Pada binatang percobaan mencit, kerentanan terhadap infeksi patogen intraseluler seperti *Salmonella typhimurium*, *Leishmania* dan *Mycobacteria* dikontrol oleh gen NRAMP-1 yang terdapat pada kromosom 1.

Gen NRAMP-1 sebagai pengangkut pH-dependen dan mempunyai efek pleiotropik terhadap berbagai efektor terkait sistem kekebalan untuk memudahkan penghancuran mikroorganisme dalam sel makrofag (Akagawa K, 2004; Jeng dkk, 2004). Daerah kromosomal NRAMP-1 pada tikus terdapat pada kromosom 1 dan pada manusia pada kromosom 2q35. Pada manusia, lokasi yang paling konservasi NRAMP-1 yaitu daerah sekeliling organ paru dan sel leukosit.

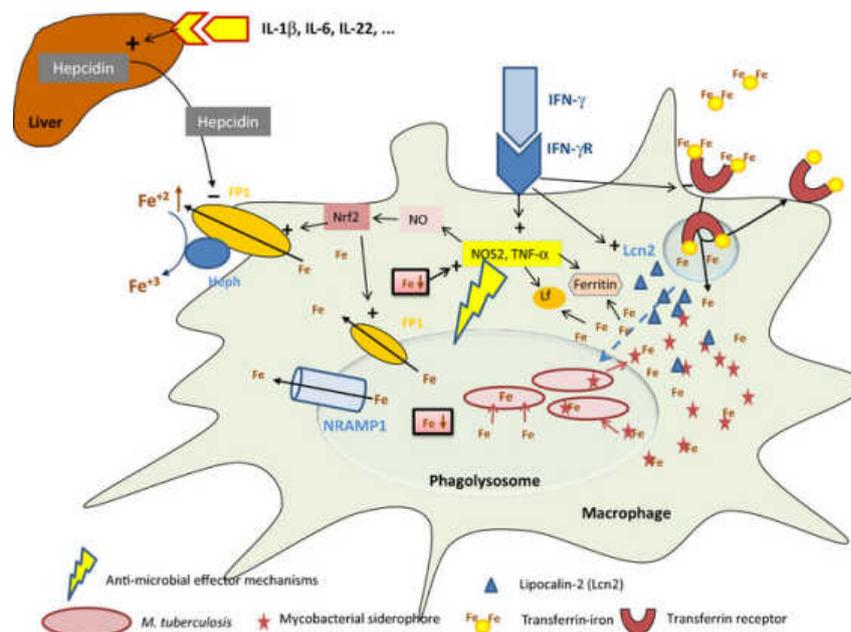


Canonne-Hergaux (2000) mengemukakan bahwa antibodi poliklonal dihasilkan gen NRAMP-1 untuk melawan kuman yang menginfeksi manusia dan menggunakan reagen untuk dilokalisasi pada protein seluler dan subseluler di dalam neutrofil manusia. Kemungkinan fungsi NRAMP-1 di dalam neutrofil yakni berhubungan dengan NRAMP-1 yang memiliki kepekaan terhadap penyakit seperti kusta dan penyakit penyebab radang seperti arthritis rheumatoid. Sejumlah varian polimorfik telah digunakan untuk mempelajari hubungan antara NRAMP-1 dan kepekaannya terhadap penyakit TB dan kusta. Studi dilakukan untuk mengukur asosiasi NRAMP-1 terhadap penyakit TB pada suatu populasi Gambia (Afrika barat) dimana dari hasil varian polimorfik menunjukkan bahwa gen NRAMP-1 mempengaruhi kepekaan terhadap beberapa penyakit (Ganz, dkk, 2017).

Ion Fe^{2+} menghasilkan antimikrobal hidroksil yang radikal pada reaksi Fenton. Ion Zn^{2+} dan Mn^{2+} dapat juga mempengaruhi aktivitas endosomal menghasilkan metaloprotease dan penghancuran fagolisosom. Kebanyakan seluler berfungsi pada dependen ion logam sebagai kofaktor dapat menjelaskan berbagai efek pleiotropik NRAMP-1 dan berperan pada infeksi penyakit autoimun (Yang dkk, 2000).

Sel makrofag yang menghasilkan sitokin seperti $TNF-\alpha$ akan menginduksi pembentukan feritin, protein pengikat zat besi dan menggabungkan zat besi ke dalam inti sehingga tidak tersedia untuk bakteri intraseluler serta *lactoferrin* (Lf), protein yang mengikat besi yang juga mengambil logam ini. Makrofag aktif mengekspresikan protein fagolisomal NRAMP-1, yang di antara efek lainnya memompa besi dari makrofag, sehingga mengurangi ketersediaan logam difagosom untuk mycobacteria. Akhirnya, pada pembentukan nitrit oksida, faktor transkripsi dari *Nuclear factor-erythroid related factor-2* (Nrf-2) akan diaktifkan dan akan merangsang ekspresi *ferroportin protein* (FP1) yang akan memompa besi keluar dari fagolisosom dan dari sitoplasma makrofag (Ganz dkk, 2017; k, 2009).





Gambar 4. Molekular mekanisme gen NRAMP-1 dalam menghambat multiplikasi mikroorganisme didalam sitoplasma sel makrofag dari host (Weiss dkk, 2009)

Makrofag menggunakan banyak jalur untuk menghambat perkembangan bakteri intraseluler yang menggunakan zat besi sebagai faktor pertumbuhannya. Jalur pertama ialah melalui sitokin seperti IFN-gamma yang menghambat ekspresi transkripsi reseptor transferin (TfR). TfR adalah sumber utama zat besi untuk mycobacteria, karena bakteri dapat memanfaatkan ligannya, besi transferin, mengikuti transfer endosomal. Makrofag menghasilkan lipocalin-2 (Lcn2), yang mengikat dan menetralkan siderophores yang dihasilkan oleh *M. tuberculosis* untuk mengumpulkan dan menggunakan kembali zat besi yang ada pada sitoplasma.

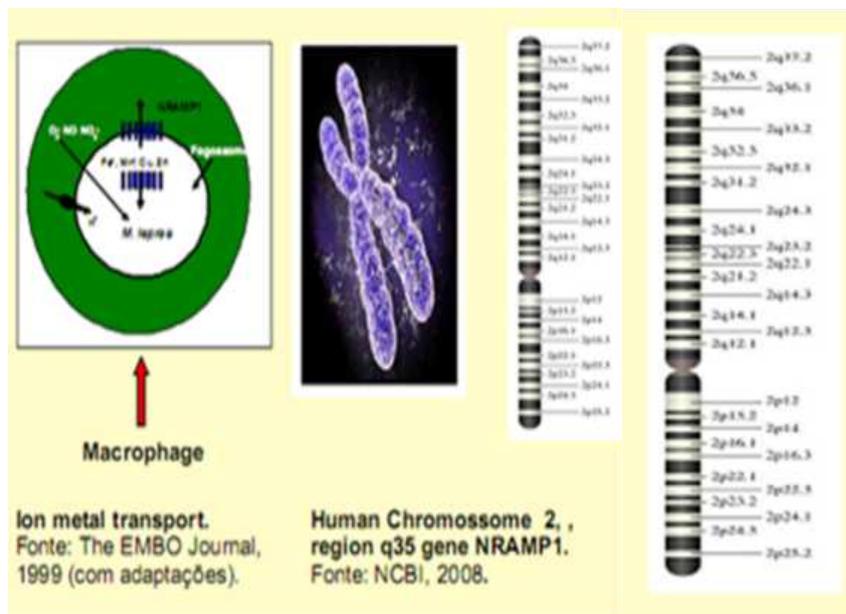
Dengan mekanisme yang tetap sulit dipahami, stimulasi ekspresi hepcidin di hati, yang merupakan mekanisme utama untuk pembatasan zat besi untuk ekstraseluler mikroorganisme patogen dapat dicegah. Semua kejadian ini menghasilkan penurunan kadar zat besi intraseluler dan terbatasnya ketersediaan

untuk dalam sel makrofag yang akan digunakan oleh mikroorganisme. Berdasarkan efek regulasi negatif dari besi pada aktivitas IFN-gamma, gangguan dalam ketersediaan logam ini menghasilkan penurunan respon imun



terhadap mikroba. Mekanisme tersebut diatas telah diteliti pada mikroorganisme intraseluler lainnya seperti *S. typhimurium*, dan *M. tuberculosis* (Weiss dkk, 2009).

Cellier MF (2013) mengemukakan bahwa gen NRAMP berisi sedikitnya 15 exon dan 1 exon disandikan oleh asam amino Ala yang ada di dalam intron 4. Menurut Blackwell dkk. (2001) bahwa gen NRAMP manusia memutar 12 kb dan mempunyai 15 exon. Pada tahap transkripsi, lokasi inisiasi memetakan 148 bp pada proses translasi di kodon inisiasi. Selanjutnya Blackwell dapat mengidentifikasi 9 urutan varian exon yang dihubungkan dengan gen NRAMP-1. Empat varian di dalam daerah persandian gen yaitu pada missin mutasi dan 2 pada substansi nukleotida pengganti. Suatu mikrosatelit terletak dalam region gen, 3 varian di dalam intron, dan 1 varian terletak di dalam 3'UTR. Hubungan 2 marker mikrosatelit ini sangat polimorfik yakni D2S104 dan D2S173 berubah menjadi NRAMP-1 pada 1.5-MB YAC. Marker molekular ini berperan pada NRAMP-1 di dalam kepekaan terhadap penyakit tuberculosis dan makrofag lain.



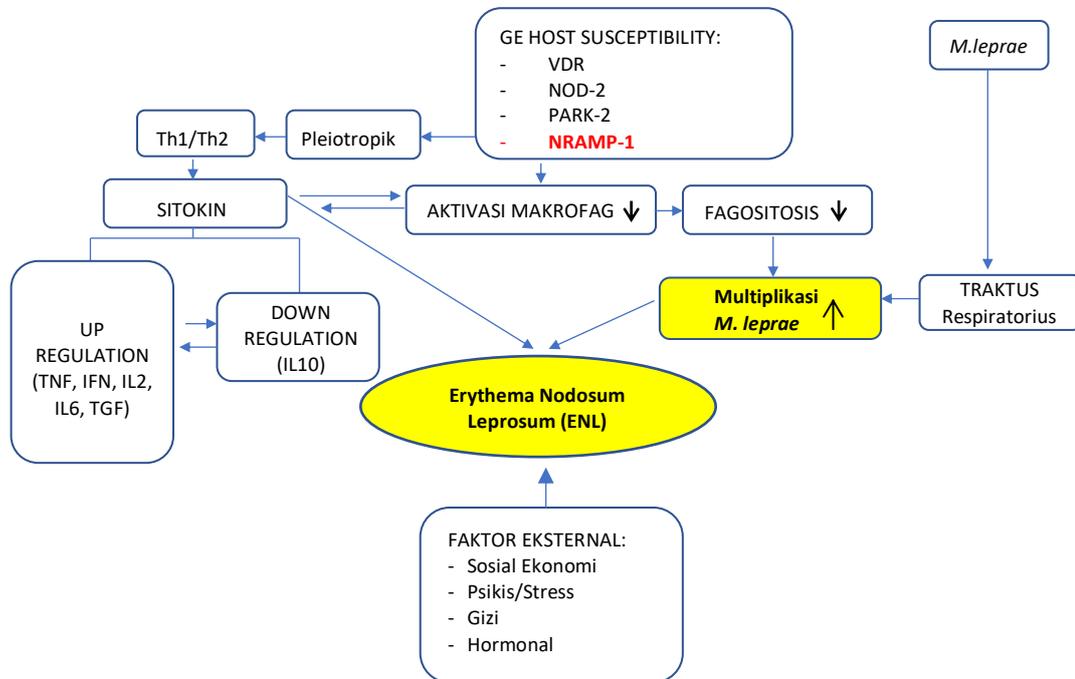
5. Lokasi gen NRAMP-1 pada kromosom 2q35 (Cunrant dan Bumman, 2019)



Penentuan polimorfisme gen NRAMP-1 menggambarkan nilai hubungan genomik untuk identifikasi dan karakterisasi pada penyakit infeksi. Dalam hal ini untuk membedakan antara host yang mudah terserang penyakit (susceptible) dengan yang resisten. Sejumlah variasi polimorfisme dapat digunakan untuk mempelajari hubungan antara gen NRAMP-1 dengan beberapa penyakit seperti leprosy dan tuberkulosis. Salah satu penelitian dasar untuk menganalisa gen NRAMP-1 pada 160 individu dari Vietnam menunjukkan bahwa gen NRAMP-1 memiliki hubungan dengan penyakit leprosy. (Abe dkk, 1998).



2.4 Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka Teori

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka konsep

