

BAB I

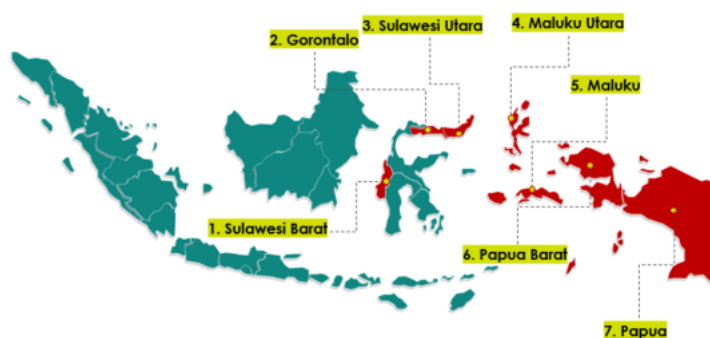
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Lepra atau penyakit Morbus Hansen adalah penyakit infeksi kronis yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium leprae* (basil tahan asam) yang menular melalui droplet pernapasan atau kontak kulit langsung, dan meskipun dapat disembuhkan, pemberantasannya masih menghadapi tantangan berupa keterbatasan alat diagnostik, strategi pencegahan dan pengobatan, serta upaya pengendalian dan pemantauan pada populasi berisiko tinggi (Farah et al., 2017).

Meskipun telah terjadi kemajuan signifikan dalam diagnosis, pengobatan dan upaya pengendalian, lepra tetap menjadi masalah Kesehatan masyarakat di beberapa wilayah di dunia, terutama di negara-negara berkembang dengan akses terbatas terhadap layanan Kesehatan dan sanitasi. Menurut WHO, sekitar 200.000 kasus lepra baru dilaporkan setiap tahun (Maymone et al., 2020)

Penyakit ini terutama endemik di wilayah tropis dan subtropis, dengan jumlah kasus yang signifikan di India, Brasil dan Indonesia (Makhakhe, 2021). Meskipun lepra dapat disembuhkan dengan terapi Multi Drug Terapi (MDT), deteksi dan pengobatan dini lepra sangat penting untuk mencegah kecacatan permanen, mengurangi penularan, dan meningkatkan hasil pengobatan pasien di dalam komunitas (Dharmawan, Y. et al. (2023)



Sebaran Endemisitas Lepra di Indonesia tahun 2021
Sumber: Kemenkes 21 Januari 2022

Gambar 1.1. Peta eliminasi lepra di Indonesia tahun 2021

Sumber: (Kemenkes RI, 2022)

Bakteri *Mycobacterium leprae* menunjukkan invasi dan patogenisitas minimal. Biasanya masuk ke dalam tubuh melalui saluran pernapasan. Bakteri bermigrasi ke jaringan saraf, menembus sel Schwann, dan juga dapat ditemukan di makrofag, sel otot, dan sel endotel. Keadaan bakteri di dalam sel Schwann atau makrofag bergantung pada daya tahan individu (Jadhav et al., 2005). Infeksi merangsang sistem imun, yang melibatkan limfosit dan histiosit, untuk menyerang jaringan yang terinfeksi. Manifestasi klinis dapat mencakup keterlibatan saraf dengan penurunan kepekaan. Kekuatan respons imun pasien menentukan perkembangan kondisi lebih lanjut jika tidak terdeteksi dan ditangani dengan segera. Sistem Imun Seluler (CIS) memberikan perlindungan, mengatasi lesi atau berkembang menjadi kusta Pausibasiler (PB) atau Multibasiler (MB). Fase kronis dapat menunjukkan peningkatan respons imun secara tiba-tiba, yang mengakibatkan peradangan—reaksi lepra (tipe 1 dan 2) (Nath et al., 2015). Tantangan diagnostik muncul karena manifestasi klinisnya menyerupai penyakit kulit lainnya, sehingga memerlukan tindakan tambahan (Alferdi, 2022). Di RSUD Dr. M. Djamil Padang, diagnosis lepra bergantung pada tiga tanda kardinal: bakteri tahan asam pada apusan kulit, penebalan saraf, dan bercak eritematosa atau hipopigmentasi anestesi atau hipoestetik (RI, 2018). Meskipun sensitivitas bakteri tahan asam pada apusan kulit rendah, terutama pada kasus pausibasiler. Metode imunologi alternatif, seperti kuantifikasi respons imun sel T melalui produksi Interferon-gamma (IFN γ), telah terbukti konsisten pada berbagai pasien kusta. Namun, tantangan muncul karena pola sekresi IFN γ yang serupa pada kontak rumah tangga dan kasus PB. Uji serologis dan berbasis Cell Mediated Immunity (CMI) saat ini untuk deteksi lepra dini tidak memuaskan, sehingga memerlukan metode alternatif seperti PCR (Jiang et al., 2022). PCR, teknik molekuler yang tepat, digunakan untuk mengidentifikasi dan mengamplifikasi asam nukleat (Reis et al., 2014).

Menurut dari laporan World Health Organization (WHO) di tahun 2022 secara global berjumlah sebanyak 127.558 kasus lepra baru dengan angka cacat derajat 2 sebesar 7.198 kasus dengan angka cacat derajat dua kasus kusta baru tercatat 2 0,9 per 1000.000 penduduk yang sudah termasuk anak di bawah 15 tahun sebanyak 8.629 kasus. Angka ini didapat dari 139 negara dari 6 wilayah WHO. Indonesia berada di peringkat ketiga dengan 11. 173 kasus setelah Brazil dengan 17.979 kasus dan India 65.147 kasus. Indonesia berada di peringkat ketiga di dunia setelah India dan Brazil. (WHO.2023) .

Target Eliminasi Lepra untuk tingkat provinsi yaitu pada tahun 2019, dan untuk kabupaten/ kota pada tahun 2024. Indikator pencapaian target Eliminasi Lepra berupa angka prevalensi <1/10.000 (kurang dari satu per sepuluh ribu) penduduk. Untuk mewujudkan target Eliminasi Lepra dilakukan penetapan dan pelaksanaan strategi Eliminasi Lepra, dan

intensifikasi kegiatan Penanggulangan Lepra. (WHO.2023, Kemenkes.2019)

Penyakit lepra ini dapat ditandai dengan adanya gejala awal yakni kelainan kulit yang merupakan seperti bercak berwarna putih atau yang berwarna merah. Gejala berlanjut dengan adanya kehilangan rasa karena adanya kerusakan saraf pada area kulit. Kehilangan sensasi rasa pada area bercak kulit dapat berupa hilangnya sensasi rasa terhadap perubahan suhu, sentuhan, ataupun rasa sakit. Gangguan fungsi saraf ini disertai penebalan saraf tepi. Gangguan fungsi saraf juga dapat terjadi pada mata sehingga menjadi kering dan jarang berkedip yang dapat menimbulkan kebutaan. Selain itu, dapat terjadi kelemahan pada otot hingga terjadi kelumpuhan terutama pada otot tangan dan kaki (Siswanto, 2020)

Pada tahun 2020 dilaporkan, Indonesia memiliki angka kecacatan lepra baru derajat dua dengan jumlah 2,32 per 1000.000 penduduk, angka tersebut yakni lebih cenderung mengalami penurunan jika dibandingkan dengan tahun sebelumnya yaitu 4,18 per 1000.000 penduduk. (Kemenkes RI, 2020).

Mekanisme transmisi *M.leprae* belum dapat dijelaskan sepenuhnya. Namun, beberapa studi menunjukkan bahwa kontak erat dalam jangka waktu yang lama, terus menerus dan kepadatan penduduk menjadi faktor risiko dari penularan bakteri ini. Saluran respirasi diduga kuat memegang peranan penting dalam transmisi *M.leprae* karena studi menunjukkan adanya bakteri dalam jumlah yang besar (100 juta sel/hari) teridentifikasi pada mukosa hidung. (RM Bhat and C Prakash.2012, Wirayasa A.2022)

Dalam penegakan diagnosis penyakit lepra, selain dilihat dari gejala klinis yang muncul, dibutuhkan juga beberapa penunjang diagnosis, diantaranya ada pemeriksaan bakteriologis secara mikroskopik dan histopatologi, pemeriksaan serologi dan pemeriksaan molekuler seperti PCR (Leonardo Lopes-Luz, 2023)

Metode qRT-PCR, menargetkan urutan gen RLEP di lepra genom, sangat penting untuk mengidentifikasi DNA lepra karena RLEP memiliki 19-37 gen yang disalin yang dapat membuat gen ini spesifik untuk lepra. (Goldsmith dkk., 2019) (Wirayasa, 2022). Upaya untuk mendeteksi DNA lepra dalam berbagai spesimen klinis menunjukkan sensitivitas berkisar antara 50-70% (Morgado de Abreu et al., 2014). Dalam satu penelitian, PCR berbasis RLEP mendeteksi 73% pasien dengan indeks bakteri nol (Adhin, 2020)

Kurangnya penelitian mengenai *Mycobacterium leprae* yang diidentifikasi secara molekuler pada kontak erat keluarga ini yang serumah dengan penderita lepra khususnya di Kabupaten Barru menjadi perhatian peneliti untuk mengetahui lebih lanjut mengenai hal ini. Oleh karena itu penelitian ini bisa menjadi data awal mengenai kuman *Mycobacterium leprae* pada kontak erat keluarga ini yang serumah dengan penderita lepra di Kabupaten Barru. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *Mycobacterium leprae* pada kontak erat serumah dengan penderita lepra yang sementara terapi MDT dan kontak erat serumah dengan penderita lepra yang selesai terapi MDT (RFT) setahun terakhir.

1.2. Rumusan Masalah

Penyakit lepra adalah penyakit infeksi kronis yang terabaikan yang bisa menyebabkan kecacatan permanen dan hambatan social, stigma dan diskriminasi. Indonesia merupakan peringkat ketiga terbanyak setelah India dan Brazil, *Myacobacterium leprae* tidak bisa didiagnosis dengan cara kultur, sehingga dibutuhkan pemeriksaan yang lebih cepat dan tepat seperti metode molekuler PCR sehingga diagnosis penderita lepra lebih cepat dan menurunkan angka kecacatan.

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka masalah penelitian ini adalah: “Apakah bisa diidentifikasi *Mycobacterium leprae* pada kontak erat serumah penderita lepra yang sementara terapi MDT dan selesai terapi MDT (RFT) setahun yang lalu di Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla,

Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru dengan menggunakan metode molekuler?”

1.3 Pertanyaan Penelitian

1. Bagaimanakah distribusi penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan riwayat terapi MDT?
2. Bagaimanakah distribusi penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan jenis kelamin?
3. Bagaimanakah distribusi penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan kelompok usia?
4. Bagaimanakah distribusi kontak erat serumah penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan riwayat terapi MDT penderita serumah?
5. Bagaimanakah distribusi distribusi kontak erat serumah penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan jenis kelamin?
6. Bagaimanakah distribusi kontak erat serumah penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan kelompok usia?

7. Bagaimanakah distribusi *Mycobacterium leprae* yang teridentifikasi dengan metode PCR pada kontak erat serumah penderita lepra yang sementara terapi MDT dan selesai terapi MDT (RFT) setahun yang lalu di wilayah puskesmas di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru?
8. Bagaimanakah distribusi *Mycobacterium leprae* yang teridentifikasi dengan metode PCR pada kontak erat serumah penderita lepra di wilayah 12 puskesmas di kabupaten Barru, berdasarkan riwayat terapi MDT?

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Untuk mempelajari tentang identifikasi *Mycobacterium leprae* dengan metode PCR pada swab nasal kontak erat serumah penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru

1.4.2 Tujuan khusus

1. Untuk mempelajari distribusi penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan riwayat terapi MDT.
2. Untuk mempelajari distribusi penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan jenis kelamin.
3. Untuk mempelajari distribusi penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan kelompok usia.
4. Untuk mempelajari distribusi kontak erat serumah penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu,

- Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan riwayat terapi MDT penderita serumah.
5. Untuk mempelajari distribusi kontak erat serumah penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan jenis kelamin.
 6. Untuk mempelajari distribusi kontak erat serumah penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, berdasarkan kelompok usia
 7. Untuk mempelajari distribusi *Mycobacterium leprae* yang teridentifikasi dengan metode PCR pada kontak erat serumah penderita lepra yang sementara terapi MDT dan selesai terapi MDT (RFT) setahun yang lalu di wilayah puskesmas di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru.
 8. Untuk mempelajari distribusi *Mycobacterium leprae* yang teridentifikasi dengan metode PCR pada kontak erat serumah penderita lepra di wilayah 12 puskesmas di Kabupaten Barru, berdasarkan riwayat terapi MDT.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat untuk Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan acuan untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan penelitian selanjutnya tentang penyakit lepra.

1.5.2 Manfaat untuk Pelayanan Kesehatan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan masukan bagi sistem pelayanan kesehatan tentang pentingnya surveilans kontak serumah dengan pemeriksaan PCR swab nasal kontak serumah penderita lepra untuk mengendalikan kejadian infeksi lepra.

1.5.3 Manfaat untuk Peneliti

1. Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan ilmiah tentang penyakit lepra dan pengalaman meneliti serta menulis bagi peneliti.
2. Hasil penelitian ini dapat menjadi rujukan untuk penelitian selanjutnya, baik untuk penulis maupun untuk peneliti lain.

1.6 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah survei adanya *Mycobacterium leprae* pada kontak serumah penderita lepra dalam usaha pengendalian terjadinya infeksi lepra

1.7 Keterbaruan Penelitian

Kebaruan penelitian ini terletak pada kajian molekuler *Mycobacterium leprae* pada kontak erat penderita lepra, baik yang masih menjalani terapi maupun yang telah selesai terapi (RFT) satu tahun sebelumnya, di seluruh puskesmas yang ada di Kabupaten Barru, yaitu Puskesmas Mangkoso, Palanro, Bojo Baru, Madello, Padongko, Pancana, Pekkae, Ralla, Lisu, Palakka, Pujananting, dan Doi-Doi, sehingga memberikan gambaran terkini mengenai status infeksi laten maupun potensi penularan di wilayah endemis.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode deskriptif observasional dengan pendekatan *cross sectional*, yang bertujuan untuk mengidentifikasi *Mycobacterium leprae* pada kontak erat penderita lepra dengan metode molekuler di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru.

2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

2.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 6 bulan yaitu bulan Juli 2024 sampai Desember 2024, yang dimulai setelah mendapat rekomendasi etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan izin penelitian dari Dinas Kesehatan Kabupaten Barru, penelitian dilakukan

2.2.2 Tempat Penelitian

1. Pengambilan swab nasal data sekunder pada kontak erat penderita lepra yang sementara terapi MDT dan selesai terapi MDT (RFT) setahun yang lalu dilakukan di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru.
2. Identifikasi molekuler *Mycobacterium leprae* dari swab nasal dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar.

2.3 Populasi dan Subyek Penelitian

2.3.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah semua kontak erat serumah penderita lepra yang sementara terapi MDT dan selesai terapi MDT (RFT) setahun yang lalu di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru.

2.3.2 Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah semua kontak erat yang serumah dengan penderita lepra yang sementara terapi MDT dan selesai terapi MDT (RFT) setahun terakhir di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, yang memenuhi kriteria subyek penelitian.

2.4 Kriteria Subyek Penelitian

2.4.1 Kriteria Inklusi Subyek Penelitian

1. Kontak erat yang serumah dengan penderita lepra yang sementara terapi MDT dan selesai terapi MDT(RFT) setahun yang lalu di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru.
2. Kontak erat serumah berjenis kelamin laki-laki dan Perempuan
3. Kontak erat serumah berusia antara 6 tahun sampai 75 tahun
4. Kontak erat serumah atau walinya setuju atau setuju atau menyetujui diikutkan pada penelitian ini dengan bertanda tangan setelah mendapat penjelasan tentang penelitian ini.
5. Penggunaan kontak erat serumah dengan penderita mendapat rekomendasi etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan izin penelitian dari Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Barru,

Terkait kontak erat, menurut WHO 2020, kontak erat dapat dibedakan menjadi 3, yaitu kontak erat serumah (household contact), kontak tetangga (neighbour contact), dan kontak social (social contact). Kontak erat serumah adalah orang yang tinggal dalam satu rumah dengan penderita lepra, tinggal bersama dan/atau berinteraksi dalam rumah sehingga total paparan ≥ 20 jam/minggu selama ≥ 3 bulan (dalam 1 tahun terakhir), contohnya suami/istri, anak, orang tua, saudara, ART yang tinggal menetap. Kontak tetangga adalah orang yang tidak tinggal serumah, tetapi tinggal dekat dan sering berinteraksi. Paparan dekat dan berulang dengan penderita lepra (misalnya di rumah tetanggasehingga total paparan ≥ 20 jam/minggu selama ≥ 3 bulan (dalam 1 tahun terakhir), contohnya tetangga depan/samping rumah yang sering berkunjung lama, bermain/beraktivitas harian. Sedangkan kontak social adalah orang yang sering kontak dalam aktivitas social rutin (di luar rumah), kontak dekat berulang (sekolah/tempat kerja/komunitas) sehingga total paparan ≥ 20 jam/minggu selama ≥ 3 bulan (dalam 1 tahun terakhir), contohnya teman kerja 1 ruangan, teman sekolah 1 kelas, teman komunitas yang sering berkegiatan lama.

2.4.2 Kriteria Eksklusi

1. Kontak erat penderita lepra yang sementara terapi MDT di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, yang menderita infeksi atau reaksi hipersensitif pada nasal dan saluran pernapasan bagian atas.
2. Kontak serumah penderita lepra yang swab nasalnya tidak bisa digunakan karena etiket hilang, tabungnya pecah atau retak.

2.5. Jumlah Subyek Penelitian

Besar subyek penelitian ditentukan menggunakan rumus besar subyek untuk penelitian dengan rumus Slovin

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

$$n = \frac{45 \times 7}{1 + 45 \times 5\%^2}$$

$$= 315 / 1 + 0,7875 = 315/1,7875 = \mathbf{176}$$

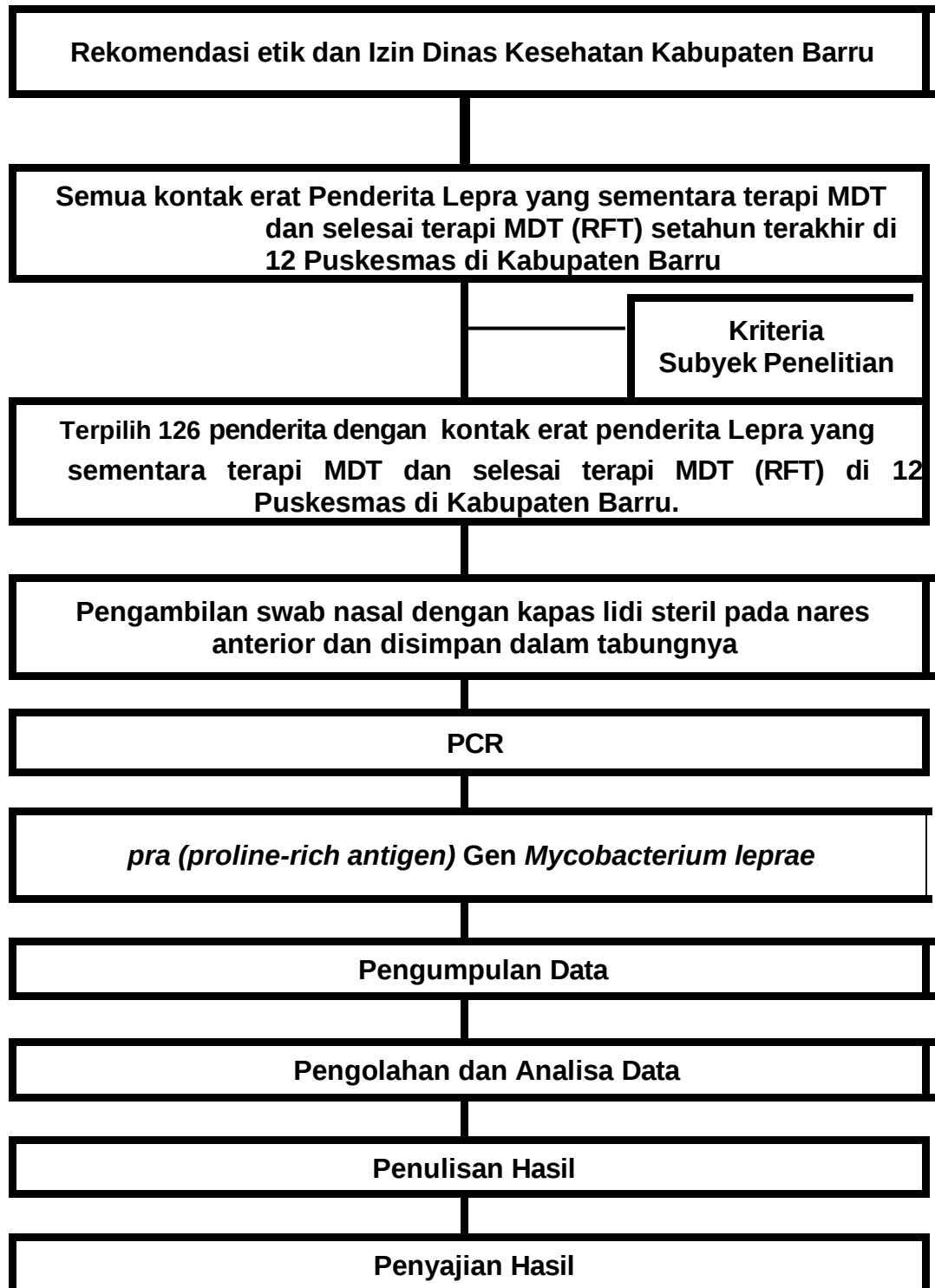
n adalah jumlah subyek yang dicari. N adalah jumlah populasi.

e adalah margin eror yang ditoleransi. Sehingga jumlah subyek dibulatkan menjadi 176.

2.6. Memilih Subyek Penelitian

Pemilihan subyek penelitian dilakukan secara consecutive sampling yaitu semua kontak erat yang memenuhi syarat dan bersedia diperiksa diikutsertakan setelah menandatangani informed consent, dan bagi anak-anak, orang tua atau wali sudah melakukan persetujuan / tanda tangan informed consent.

2.7. Alur Penelitian



Gambar 2.1 Alur Penelitian

2.8. Alat dan Bahan Penelitian

2.8.1. Alat Penelitian

Tabel 2.1. Daftar Alat yang Digunakan pada Pengambilan Swab Nasal, dan Mengerjakan Pemeriksaan PCR

No	Alat	Merek/Spesifikasi	Jumlah
1	Mesin PCR	Biorad	1 unit
2	Gel DOC	Biorad	1 unit
3	Mesin Elektroforesis	Biorad	1 unit
4	Sentrifuge	Biofuge	1 unit
5	Inkubator Shaker	Heidolph	1 unit
6	Bottle	Scott	1 buah
7	Gelas Ukur	Pyrex	1 buah
8	Cetakan Agarose	Biorad	1 unit
9	Laminar Flow	Esco	1 unit
10	BSC Tipe II	Esco	1 unit
11	Mikropipet	10µl	1 buah
12	Mikropipet	20 µl	1 buah
13	Mikropipet	100µl	1 buah
14	Mikropipet	1000µl	1 buah

2.8.2. Bahan Penelitian

Tabel 2.2. Daftar Bahan yang Digunakan pada Pengambilan Swab Nasal, dan Mengerjakan Pemeriksaan PCR

No	Bahan	Merek/Spesifikasi	Jumlah
1	Masker bedah	Evo	4 box
2	Handsoen	Otoro	4 box
3	Tabung Eppendorf	BRAND	2 box
4	Tabung PCR 0.2 mL	Corning	2 pk
5	Yellow tip	Corning	3 pk
6	Blue Tip	Axygen	2 pk
7	Water One 1 L	One Med	1 botol
8	Primer	Integrated DNS technologies	1 set
9	Enzim PCR	Go Taq Master Mix	2 set
10	Agarose	Merck	1 botol
11	Ethidium Bromida		1 botol
12	TBE 0,5	Merck	2 botol

2.9. Prosedur Penelitian

2.9.1. Melakukan Persiapan

1. Melakukan persiapan bahan dan alat penelitian penelitian sambil menunggu persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan izin dari Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Barru.
2. Mengumpulkan dan memilih kontak erat serumah penderita lepra di wilayah Puskesmas Mangkoso, Puskesmas Palanro, Puskesmas Bojo Baru, Puskesmas Madello, Puskesmas Padongko, Puskesmas Pancana, Puskesmas Pekkae, Puskesmas Ralla, Puskesmas Lisu, Puskesmas Palakka, Puskesmas Pujananting, Puskesmas Doi-Doi di Kabupaten Barru, setelah mendapat persetujuan etik dan izin penelitian.
3. Memberikan penjelasan tentang tujuan dan cara pengambilan swab nasal pada penderita lepra dan kontak erat serumah penderita lepra serta wali penderita dan kontak erat serumahnya di 12 puskesmas di Kabupaten Barru.
4. Meminta persetujuan tertulis bertanda tangan kepada kontak erat serumah penderita lepra atau walinya. setelah mereka mengerti apa yang telah dijelaskan.

2.9.2. Melakukan Pengambilan, Transportasi dan Penyimpanan Swab Nares

1. Mengambil Swab Nares

- a. Meminta kontak erat serumah duduk tegak dan sedikit menengadahkan kepala.
- b. Memasukkan swab secara perlahan ke dalam salah satu lubang hidung sedalam sekitar 2-3 cm, dengan arah sejajar pada langit-langit hidung (bukan ke atas)
- c. Memutar swab perlahan pada dinding rongga hidung selama 5-1- detik untuk menyerap mukosa dan secret nasal.
- d. Menarik keluar swab dengan hati-hati
- e. Memasukkan swab ke dalam tabung steril dan menutupnya apat.
- f. Memberi labeli pada tabung tempat swab nares dengan identitas pasien dan tanggal pengambilan sampel.

2. Melakukan Transportasi Swab Nasal

Membawa tabung swab nasal ke Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSPTN Universitas Hasanuddn.

3. Melakukan Penyimpanan Swab Nasal

Menyimpan tabung swab nasal dalam freezer dengan suhu -80°C sampai dilakukan pemeriksaan PCR.

2.9.3. Melakukan Pemeriksaan PCR

1. Melakukan ekstraksi DNA
 - a. Melakukan Preparasi Sampel
 - 1) Memasukkan sampel swab kedalam tabung ependorf,

- 2) Menambahkan 200 ul GST Buffer dan 20 ul Proteinase K. lalu melakukan vortex selama 10-15 detik
- 3) Melakukan inkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit.
- 4) Memasukkan kedalam filter colum dan tabung ependorf kemudian sentrifuge dengan kecepatan 14.000-16.000 rpm selama 2 menit, kemudian buang swab dan filter colum.

b. Melakukan Cell Lysis

- 1) Menambahkan 200 ul GSB Buffer lalu melakukan vortex selama 10-15 detik
- 2) Kemudian melakukan inkubasi pada suhu 60 °C selama 20 menit dimana dilakukan vortex setiap 5 menit.

c. Melakukan DNA Binding

- 1) Menambahkan 200 ul Ethanol, kemudian melakukan vortex selama 10 detik
- 2) Memasukkan kedalam GS Column dalam 2 ml collection Tube.
- 3) Kemudian melakukan sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 1 menit.
- 4) Lalu membuang cairan cairan supernatant

d. Melakukan Washing

- 1) Menambahkan 400 ul W1 Buffer ke dalam spin column
- 2) Melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik.
- 3) Membuang cairan supernatant
- 4) Menambahkan 600 ul Wash Buffer, lalu melakukan sentrifugasi 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik.
- 5) Mengganti collection tube dengan yang baru, kemudian melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 3 menit.

e. Melakukan Elution

- 1) Memindahkan pelet dari GS Column ke tabung ependorf steril, kemudian menambahkan 100 ul Elution Buffer yang sebelumnya telah dipanaskan. Membuang GS Column.
- 2) Melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik
- 3) Cairan di bawah (eluate) sudah berisi DNA murni, dapat langsung digunakan sebagai template PCR

2. Membuat *Mix PCR*

Go Taq Master Mix	: 12,5 µl
Forward 10 UM	: 0,5 µl
Reverse 10 UM	: 0,5 µl
Nuclesa Free Water	: 6,5 µl
DNA Sampel	: 5,0 µl
Total	: 25 µl

3. Melakukan *Running PCR*

- a. Cycle 1 sebanyak 1x Suhu 94 °C selama 10 menit (Pre-Denaturasi)
- b. Cycle 2 sebanyak x 30 Siklus
 - 1) Step 1 Suhu 94 °C selama 20 detik (Proses Denaturasi)
 - 2) Step 2 Suhu 52 °C selama 40 detik (Proses Annealing)
 - 3) Step 3 Suhu 72 °C selama 30 detik (Proses extension)
- c. Cycle 3 sebanyak 1x suhu 72 °C selama 5 menit (Final extension)

2.9.4. Melakukan Gel Elektroforesis

1. Membuat gel

- a. Menimbang 2gr agarose dan dilarutkan dalam 100 ml TBE Buffer 0,5x untuk mendapatkan larutan agarose 2 %
- b. Mencampur agarose dan TBE *buffer* 0,5x, lalu memanaskan hingga larut, menunggu hingga agak dingin, kemudian menambahkan 5µl *Ethidium Bromida*
- c. Menuang larutan agarose kedalam cetakan dan menunggu hingga beku.

2. Membuat *DNA Marker*

- a. Memasukan sebanyak 25 µl DNA 100 bp *ladder* kedalam tube berisi 1 ml Blue Juice Loading Dye, kemudian mencampurnya untuk *marker*
- b. Mencopot "*labe tube*" dan mengantinya menjadi "*marker*".

3. Menyiapkan *Running Elektroforesis*

- a. Memasukkan gel yang telah beku kedalam elektroforesis dan merendamnya dalam larutan TBE 0,5x
- b. Sebanyak 8 µl *amplicon* hasil PCR (Kontrol Positif,Kontrol negative,sampel) ditambah dengan 2 µl Blue Juice Loading Dye (tanpa *marker*), dicampur dan dimasukkan kedalam sumur-sumur gel sebanyak 10 µl.
- c. Pada Lubang pertama menambahkan 10 ul DNA *leader* 100 bp dimasukkan kedalam sumur di dekat kontrol positif.

4. Melakukan *Running Elektroforesis*

- a. Elektroforesis dihidupkan dan dijalankan dari muatan negative (katode) ke muatan positif (anode) pada 100 A dan 60 menit
- b. Setelah elektroforesis, dilihat pita yang terbentuk. Apabila pita sejajar dengan kontrol positif berarti hasil positif.

2.9.5. Melakukan Prosedur Gel Doc

Menggunakan alat Gel Doc dibagi menjadi 4 tahap, yaitu :

- a. Menyalakan Alat Gel Doc
- b. Mengatur posisi gel
- c. Mengatur gambar
- d. Menyimpan dan mencetak gambar

2.10. Mengumpulan Data

Data klasifikasi kontak serumah penderita lepra dan hasil pemeriksaan PCR dari swab nasal kontak erat serumah penderita lepra yang sementara terapi dan kontak serumahnya dicatat dalam tabel data (lampiran) menggunakan program excel

2.11. Mengolah dan Menganalisa Data

2.11.1. Mengolah Data

2.11.2. Menganalisa Data

Analisis deskriptif digunakan untuk mengkarakterisasi karakteristik penderita dan kontak erat penderita lepra dalam penelitian ini. Analisis statistic menggunakan microsoft excel

2.12. Aspek Etika Penelitian

Penelitian ini tidak mempunyai masalah pelanggaran etika penelitian, karena:

1. Mendapat rekomendasi etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Unhas.
2. Penelitian ini mendapat izin dari Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Barru
3. Subyek atau wali subyek setuju ikut atau menyetujui ikut penelitian dengan bertanda tangan, setelah mendapat penjelasan lengkap tentang penelitian ini.
4. Semua informasi yang dirujuk disertai sitasi penulis dan tahun terbit referensi
5. Semua data disajikan secara anonim.