

LAPORAN PENELITIAN

**HUBUNGAN SPEKTRUM KUSTA, PEMERIKSAAN
BASIL TAHAN ASAM (BTA) DAN REAKSI RANTAI
POLIMERASI (RRP) DARI SPESIMEN SAYATAN
KULIT**



**dr.R.Varidianto Yudo T.,Mkes.
NIK.01259**

**PENELITIAN INI DIDANAI OLEH
UNIVERSITAS HANG TUAH SURABAYA**

**BAGIAN MIKROBIOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HANG TUAH
SURABAYA
2010**

LAPORAN PENELITIAN

**HUBUNGAN SPEKTRUM KUSTA, PEMERIKSAAN
BASIL TAHAN ASAM (BTA) DAN REAKSI RANTAI
POLIMERASI (RRP) DARI SPESIMEN SAYATAN
KULIT**



**dr.R.Varidianto Yudo T.,Mkes.
NIK.01259**

**PENELITIAN INI DIDANAI OLEH
UNIVERSITAS HANG TUAH SURABAYA**

**BAGIAN MIKROBIOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HANG TUAH
SURABAYA
2010**

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN PENELITIAN DOSEN**

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1. Judul Penelitian | : Hubungan Spektrum Kusta, Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) Dan Reaksi Rantai Polimerasi (RRP) Dari Spesimen Sayatan Kulit. |
| 2. a. Bidang Ilmu | : Mikrobiologi |
| b. Kategori Penelitian | : Deskriptif Observasional |
| 3. Ketua Peneliti | : dr.R.Varidianto Yudo T., M.Kes. |
| 4. Jumlah Anggota Peneliti | : - |
| 5. Lokasi Penelitian | : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya. |
| 6. Kerjasama dengan Instansi Lain | : Divisi Morbus Hansen URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSU Dr. Soetomo Surabaya |
| 7. Lama Penelitian | : 6 bulan |
| 8. Biaya yang Diperlukan | : - |
| a. Sumber dari Depdiknas | : Rp. 15.000.000,- |
| b. Sumber lain, LPPM FK UHT | : Rp. 15.000.000,- |
| Jumlah | : (Lima belas juta rupiah) |

Menyetujui :
Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. Janto Poernomo Hadi, Sp.P., Sp.KL.
NIK 02319

Surabaya, 10 Maret 2010
Ketua Peneliti,

Dr.R.Varidianto Yudo T., M.Kes.
NIK 01096

RINGKASAN

Masalah kusta merupakan masalah dunia. Indonesia menempati urutan ketiga dalam deteksi kasus kusta baru. WHO mengembangkan strategi baru untuk mengatasi masalah kusta terutama pada negara endemis dengan cara meningkatkan pelayanan pada masyarakat yang menderita kusta untuk menurunkan prevalensinya. Untuk penegakan diagnosis penyakit kusta biasanya diperlukan data dari anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium. Terdapat dua bentuk yang berbeda dari penyakit kusta yaitu tipe tuberkuloid (TT) dan tipe lepromatosa (LL). Diantara keduanya terdapat bentuk-bentuk pertengahan (*intermediate*). Pemeriksaan laboratorium yang paling lama adalah pemeriksaan mikroskopis untuk identifikasi basil tahan asam (BTA) yang mudah dan sederhana. Tehnik reaksi rantai polimerase (RRP) memiliki kemudahan dalam pengerjaannya dan sensitifitas identifikasi bakteri yang tinggi

Penelitian ini bertujuan untuk melihat hubungan spektrum kusta, pemeriksaan basil tahan asam (BTA) dan pemeriksaan reaksi rantai polimerase (RRP) dari spesimen sayatan kulit. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa hubungan Indeks Bakteri dengan Tipe Kusta menunjukkan hubungan yang kuat ($p = 0,000$; $p < \alpha$; $\alpha = 0,05$). Hubungan Indeks Bakteri dengan hasil RRP spesimen kulit juga menunjukkan hubungan yang cukup signifikan ($p=0,034$; $p < \alpha$; $\alpha=0,005$). Adanya gangguan pada hubungan antara Tipe Kusta dengan hasil RRP spesimen kulit kemungkinan besar disebabkan minimnya jumlah sampel. Dengan demikian diperlukan penelitian lanjutan dengan model yang sama dengan pengambilan sampel yang besar, serta pencarian penderita pada daerah konsentrasi kusta.

Salah satu hal yang dapat digaris bawahi adalah pemeriksaan BTA dan menghitung Indeks Bakteri merupakan sarana yang murah / ekonomis dan hasilnya dapat memperkirakan hasil dari RRP spesimen kulit yang memerlukan biaya yang cukup mahal.

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT, yang atas rahmat dan karuniaNya sehingga kami dapat menyelesaikan laporan akhir penelitian dosen muda yang berjudul " Hubungan Spektrum Kusta, Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) Dan Reaksi Rantai Polimerasi (RRP) Dari Spesimen Sayatan Kulit ".

Bersama ini kami juga mengucapkan terima kasih kepada Rektorat, Dekanat dan LPPM Universitas Hang Tuah atas kesempatan yang diberikan kepada kami. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium / SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan kesempatan, bimbingan dan dorongan selama kami bekerja dalam pengumpulan sampel penelitian. Dan tak lupa kami mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang *,unit andil dalam terselesaikannya penelitian ini.

Penelitian ini diharapkan memberikan sumbangan kepada ilmu pengetahuan modern untuk aplikasinya dalam kehidupan sehari-hari. Sehingga membawa manfaat kepada umat manusia pada umumnya dan masyarakat Indonesia pada khususnya.

Sebagai manusia biasa, maka kami tak luput dari kesalahan-kesalahan. Bilamana berkenan, kami mengharapkan saran-saran dan masukan bagi kesempurnaan tulisan ini.

Akhirul-kalam, kami mengucapkan Alhamdulillah. Dan semoga tulisan ini menjadi manfaat. Amin.

Surabaya, 10 Maret 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Perumusan Masalah.....	4
1.2. Kerangka Konseptual.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Definisi	6
2.2. Epidemiologi	6
2.3. Karakteristik <i>Mycobacterium leprae</i>	6
2.4. Patogenesis	7
2.5. Imunologi dan Gejala Klinis	8
2.6. Diagnosa Penyakit Kusta	9
2.7. Pemeriksaan Rantai Polimerase (RRP)	10
BAB 3 TUJUAN PENELITIAN	12
3.1. Tujuan Umum	12
3.2. Tujuan Khusus	12
3.3. Manfaat Penelitian	12
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	13
4.1. Rancangan Penelitian	13

4.2. Populasi, Sampel dan Besar Sampel	13
4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	14
4.4. Alur Penelitian.....	15
4.5. Bahan, Alat dan Cara Kerja.....	15
4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	21
4.7. Pengolahan dan Analisa Data	21
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	22
5.1. Jumlah Sampel Dan Gambaran Pasien Kusta.....	22
5.2. Hubungan Indeks Bakteri dengan Tipe Kusta.....	24
5.3. Hubungan Hasil RRP dengan Tipe Kusta.....	26
5.4. Hubungan Hasil RRP dengan Indeks Bakterial	27
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	29
6.1. Kesimpulan	29
6.2. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Analisa hubungan antara tipe kusta menurut kriteria Ridley Jopling dengan indeks bakterial menggunakan koefisien korelasi Spearman	25
Tabel 5.2. Gambaran hubungan antara tipe kusta menurut kriteria Ridley Jopling dengan hasil RRP sayatan kulit	26
Tabel 5.3. Analisa hubungan antara tipe kusta menurut kriteria Ridley Jopling dengan hasil RRP menggunakan uji koefisien kontingensi	27
Tabel 5.4. Gambaran hubungan antara Indeks Bakterial dengan hasil RRP sayatan kulit	27
Tabel 5.5. Analisa hubungan antara Indeks Bakterial dengan hasil RRP sayatan kulit dengan uji koefisien kontingensi	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar 5.1. Distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling yang diteliti berdasarkan hasil pemeriksaan Klinis di Divisi Morbus Hansen URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo pada bulan April- Juni 2009.....	22
Gambar 5.2. Distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling yang diteliti berdasarkan hasil pemeriksaan BTA di Divisi Morbus Hansen URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo pada bulan April- Juni 2009.....	23
Gambar 5.3. Distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling yang diteliti berdasarkan hasil pemeriksaan RRP di Divisi Morbus Hansen URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo pada bulan April- Juni 2009.....	23
Gambar 5.4. Distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling dan hubungannya dengan indeks bakterial dari pemeriksaan BTA	24
Gambar 5.5. Diagram pola sebar dari distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling dan hubungannya dengan indeks bakterial dari pemeriksaan BTA	25
Gambar 5.6. Diagram dari distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling dan hubungannya dengan hasil RRP.....	26

DAFTAR LAMPIRAN

INFORMED CONSENT	32
LEMBAR PENGUMPUL DATA	33
DATA SAMPEL	35
FOTO HASIL ELEKTROFORESIS RRP	36
GAMBAR MIKROSKOPIS BTA	36

BAB 1

PENDAHULUAN

Masalah kusta merupakan masalah dunia. Indonesia menempati urutan ketiga dalam deteksi kasus kusta baru dibawah India dan Brasil. Prevalensi kasus kusta baru yang dilaporkan awal 2006 oleh Indonesia adalah sebesar 2,15. Sedangkan India dan Brasil sebesar 9,51 dan 2,73. Tetapi untuk penurunan kasus baru, Indonesia termasuk lambat dibanding kedua negara tersebut. (WHO, 2006). Untuk Jawa Timur, jumlah prevalensi penderita kusta menempati urutan ke 7 (tujuh) dari propinsi lain di Indonesia dengan angka 1,39 persen per 10 ribu penduduk. Tetapi untuk keseluruhan jumlah penderita kusta, Jatim menempati urutan pertama atau populasi terbanyak penderita kusta berada di Jatim. Salah satu usaha Dinas Kesehatan untuk menurunkan prevalensi adalah pengadaan obat *Multi Drug Therapy* (MDT) bantuan dari WHO khusus bagi penderita kusta diberikan secara cuma-cuma di Puskesmas-puskesmas yang telah memiliki daftar penderita kusta. (Dinas Infokom Jatim, 2007). WHO sendiri telah mengembangkan strategi baru untuk mengatasi masalah kusta terutama pada negara endemis dengan cara meningkatkan pelayanan pada masyarakat yang menderita kusta untuk menurunkan prevalensinya. Usaha-usaha yang telah dilakukan antara lain pendirian pelayanan diagnostik kualitas tinggi dan pelayanan pengobatan dengan *multidrug therapy* dan memastikan pelayanan ini merata, sesuai dan mudah. (WHO, 2006)

Untuk penegakan diagnosis penyakit kusta biasanya diperlukan data dari anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium. Anamnesis bersifat subyektif tapi dapat berguna untuk penelusuran epidemiologis dan terapi sebelumnya. Pemeriksaan fisik meliputi pemeriksaan umum maupun khusus pasien kusta. Dari anamnesis dan pemeriksaan fisik dan ditambah pemeriksaan laboratoris minimal identifikasi basil tahan asam secara mikroskopis biasanya cukup untuk menegakkan diagnosis penyakit kusta. Bahkan di lapangan bilamana sarana pemeriksaan laboratoris tidak ada sama sekali, maka dapat langsung dilakukan diagnosis dan pengobatan (Agusni & Ilias, 1987)

Pemeriksaan laboratorium yang paling lama adalah pemeriksaan mikroskopis untuk identifikasi basil tahan asam (BTA) dan masih digunakan hingga saat ini. Pemeriksaan ini mudah dan sederhana tetapi interpretasi hasil harus dilakukan oleh orang yang ahli. Tes serologis, meskipun mudah tetapi juga jarang dilakukan. Tes pemeriksaan serologis paling sering untuk klinis dan penelitian adalah deteksi antibodi anti phenolic glycolipid 1 (PGL-1). Tes kulit (*lepromin test*) untuk mengetahui respon pembentukan jaringan granuloma juga jarang dilakukan, biasanya hanya untuk penelitian. Kuman *Mycobacterium leprae* sebagai penyebab dari penyakit kusta sendiri tidak dapat di kultur, berbeda dengan bakteri lain yang dapat dikultur. Hal ini merupakan salah satu ciri khas dari kuman *Mycobacterium leprae*. Pemeriksaan biopsi tebal kulit dan histologis dapat menentukan pola histologi, keterkaitan saraf kulit dan identifikasi basil tahan asam. Beberapa penulis mengatakan bahwa pemeriksaan ini merupakan "gold standard". Tetapi pemeriksaan ini cukup sulit dan harus dilakukan oleh seorang ahli patologi. (Scollard *et.al.*, 2006)

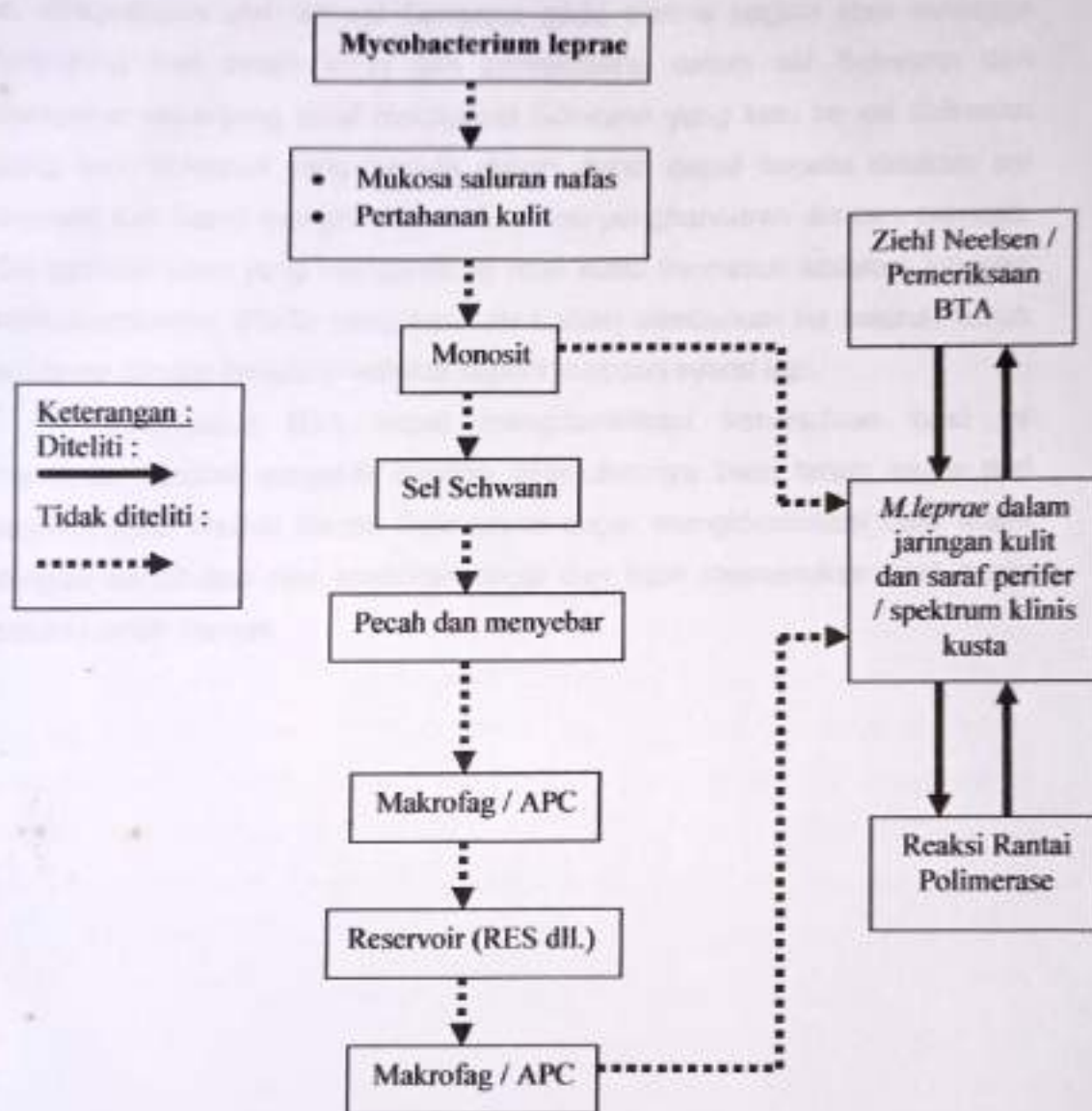
Sejak ditemukannya tehnik reaksi rantai polimerase (RRP) sejak 1980, maka perkembangan identifikasi molekuler semakin cepat. Sebelumnya dikenal tehnik pengenalan ukuran gen, komposisi basa dari gen, homologi gen hibridisasi dan lain-lain. Kesemuanya mempunyai kesulitan yang tinggi dalam pengerjaannya dan hasil yang terbatas. (WHO,1987). Tehnik reaksi rantai polimerase (RRP) memiliki kemudahan dalam pengerjaannya dan sensitifitas identifikasi bakteri yang tinggi. Tehnik ini bahkan dapat mengidentifikasi kurang dari satu basil dalam spesimennya. Kerugian dari tehnik ini adalah memerlukan biaya yang tinggi dan tidak dapat mengidentifikasi bakteri yang mati atau hidup. Tetapi dengan modifikasi maka kesulitan ini dapat dihilangkan (Amirrudin M.D., Noordin C.,1995 & Handayani S., 1997)

Berbagai macam tehnik RRP telah dikembangkan oleh para peneliti. Dalam tehnik pelaksanaannya terdapat berbagai macam tehnik antara lain RRP *Real Time*, RRP *Nested*, RRP *Reverse Transcriptase* dan lain-lain. Kesemuanya mempunyai tujuan yang berbeda dalam identifikasi molekuler. Untuk RRP *Nested* dilakukan dua kali pengkopian dari gen bakteri dimulai

1.1. Perumusan Masalah

Bagaimanakah hubungan spektrum kusta , pemeriksaan Basil tahan asam (BTA) dan pemeriksaan Reaksi Rantai Polimerase (RRP) dari spesimen sayatan kulit.

1.2. Kerangka Konseptual



Keterangan Kerangka Konseptual

M.leprae masuk kedalam tubuh melalui lesi kulit maupun mukosa hidung akibat droplet yang mengandung basil ini. Bilamana melalui lesi kulit maka basil ini melalui filamen-filamen saraf terbuka pada bagian atas dari dermis akan menyebar secara centripetal sepanjang akson. Kemudian basil ini difagositosis oleh sel-sel Schwann pada dermis bagian atas sehingga terlindung dari sistim imun dan berkembang dalam sel Schwann dan menyebar sepanjang saraf melalui sel Schwann yang satu ke sel Schwann yang lain. *M.leprae* yang berada dalam darah dapat berada didalam sel monosit dan dapat menghindari mekanisme penghancuran didalam monosit. Sel monosit yang mengandung basil kusta ini masuk kedalam jaringan retikuloendotelial (RES) yang kemudian akan disebarkan ke seluruh tubuh terutama tempat-tempat predileksi seperti kulit dan syaraf tepi.

Pemeriksaan BTA dapat mengidentifikasi keberadaan basil ini meskipun bersifat subyektif dengan ditemukannya basil tahan asam dari sayatan kulit. Reaksi Rantai Polimerase dapat mengidentifikasi basil kusta dengan sensitivitas dan spesifitas tinggi dan tidak memerlukan basil kusta dalam jumlah banyak.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Definisi

Kusta (*Lepra / Leprosy / Hansen's disease*) adalah penyakit kronis yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium leprae (M.leprae)* yang bersifat infeksius pada banyak kasus dan mengenai sistem syaraf tepi, kulit dan organ lain tertentu. (Jopling & McDougall, 1988)

2.2. Epidemiologi

Penyebaran kusta dalam masyarakat tergantung dari proporsi dari orang-orang yang rentan dalam populasi dan kemungkinan kontak dengan penderita kusta. Kenyataan bahwa orang dewasa cenderung tahan terhadap infeksi kusta dapat dilihat dari dua penelitian yaitu pertama, sukarelawan yang diberikan infeksi ini gagal menunjukkan gejala klinis kusta, dan kedua, angka kejadian manifestasi kusta dari pasangan yang menikah hanya 5%. Nampaknya anak-anak lebih rentan, terutama anak-anak yang tinggal dengan penderita kusta, dimana terjadi perkembangan penyakit kusta setelah masa inkubasi sekitar dua sampai tujuh tahun.

Penyakit kusta ini tidak dapat lagi dianggap sebagai penyakit yang khusus manusia, dimana basil kusta ini dapat ditemukan pada armadillo, simpanse dan kera Mangabey, yang menyebabkan penyakit ini masuk dalam kategori zoonosis. (Jopling & McDougall, 1988). Tetapi banyak juga yang tidak melihat adanya hubungan penyakit ini antara binatang dengan manusia dikarenakan di India tidak terdapat armadillo. Bilamana ada hubungan maka dalam hitungan yang kecil sekali. (Hasting et.al., 1988)

2.3. Karakteristik *Mycobacterium leprae*

Mycobacterium leprae adalah bakteri berbentuk batang, bersifat tahan asam pada pengecatan Ziehl Neelsen / pengecatan basil tahan asam (BTA), dan terlihat sendiri, berkelompok atau globular. Kebanyakan ditemukan dari sampel sayatan kulit atau membran mukosa (terutama dinding *nasa*) pada penderita kusta. Basil ini juga sering ditemukan pada sel endotel pembuluh darah atau didalam sel mononuklir. (Scollard et.al., 2006)

Kuman ini tidak dapat dikultur. Biasanya kuman ini diinokulasikan pada kaki tikus yang akan membentuk lesi granulomatosa dan perkembangan basil terbatas. Bila diinokulasikan pada armadillo akan terjadi perkembangan dalam jumlah banyak. *M.leprae* dari armadillo mengandung zat *O-diphenoloxidase* yang unik, yang kemungkinan merupakan enzim yang karakteristik untuk basil kusta. (Brooks *et.al.*2001)

2.4. Patogenesis

Telah lama dicurigai bahwa penularan kusta ke kulit berasal dari lalat atau artropoda yang menginfeksi kulit yang luka. Tetapi ada juga yang dengan cara implan langsung seperti pada tato atau penggunaan jarum suntik meskipun jarang sekali. Lalat sangat dicurigai sebagai agen pembawa basil dikarenakan dalam tubuh lalat mengandung banyak basil setelah hinggap pada lesi kulit maupun mukosa hidung. *M.leprae* sendiri dapat bertahan pada sekret hidung yang kering selama satu sampai tujuh hari. Basil kusta juga dapat mengkontaminasi makanan oleh lalat dan masuk dalam saluran cerna. Selain itu dalam air susu ibu penderita kusta dapat ditemukan basil ini. Dengan demikian penularan melalui saluran cerna kemungkinan dapat terjadi. Penularan basil ini juga dipercaya melalui saluran pemapasan, kemungkinan melalui droplet. Kenyataannya pada mukosa hidung penderita kusta sangat dijumpai adanya basil kusta. Dengan demikian kemungkinan penyebaran kusta pada saat berbicara, bersin atau batuk ataupun dari debu yang terbang dapat juga terjadi. Resiko inhalasi basil kusta meningkat bila pada populasi yang padat dan sanitasi yang jelek. (Jopling & McDougall, 1988)

Sekali *M.leprae* memasuki tubuh, makrofag dengan mudah akan menghancurkan basil ini dan menyebabkan tidak adanya manifestasi dari penyakit. Tetapi dalam prosentase kasus yang kecil, respon makrofag dan sel T yang lemah atau lambat akan menyebabkan patogen ini menjadi bertahan hidup dalam sel. Periode inkubasi yang umum adalah antara 2 sampai 5 tahun, dengan rentang ekstrim 3 bulan sampai 40 tahun. Pada kasus yang tidak diobati, basil kusta tumbuh lambat pada makrofag kulit dan sel Schwann dari saraf perifer, dan penyakit berkembang menjadi satu bentuk dari beberapa bentuk penyakit kusta. (Talaro *et al.*1996).

2.5. Immunologi dan Gejala Klinis

Organisme ini bereplikasi intraseluler, umumnya di sel histiosit, sel endotel dan sel Schwann dari syaraf tepi. Terdapat dua bentuk yang berbeda dari penyakit kusta yaitu tipe tuberkuloid dan tipe lepromatosa. Diantara keduanya terdapat bentuk-bentuk pertengahan (*intermediate*).

Pada kusta tuberkuloid (TT), respon imun seluler (*cell-mediated immunity* /CMI) akan menghambat pertumbuhan basil kusta. Sangat sedikit basil tahan asam yang terlihat dan sering terlihat granuloma yang mengandung sel raksasa. Respon CMI utamanya terdiri dari sel CD4+ dan sebuah bentuk sitokin Th-1 yaitu *T-interferon*, *interleukin-2*, dan *interleukin-12*.

Respon CMI bertanggung jawab terhadap kerusakan syaraf yang terlihat pada pasien kusta tipe tuberkuloid. Pada tes Lepromin di kulit akan menunjukkan hasil yang positif. Tes lepromin ini hampir sama dengan tes tuberkulit pada diagnosis penyakit tuberkulosis. Digunakan ekstrak *M.leprae* yang diinjeksikan secara intradermal, dan hasil positif menunjukkan adanya indurasi setelah 48 jam, dimana hal ini menunjukkan respon CMI pada pasien positif. (Levinson W., 2004).

Kusta tipe TT menunjukkan bentuk penyakit infeksi terlokalisasi. Berbeda dengan tipe lepromatosa (LL) yang menunjukkan proliferasi bakteri sebagai penyebab timbulnya gejala dan tanda penyakit, pada tipe TT gambaran klinis adalah akibat kombinasi dari proliferasi bakteri dan respon imun penderita terhadap basil kusta. Yang khas dari kusta tipe TT ini adalah lesi kulit yang berbentuk bulat atau hampir bulat disertai dengan anastesi. Biasanya terdapat pembesaran syaraf tepi disekitar area lesi. (Hasting et.al., 1988).

Pada kusta lepromatosa (LL), respon CMI sangat sedikit, lesi kulit dan mukosa mengandung basil kusta yang sangat banyak, terlihat banyak *foamy histiocytes* dibandingkan granuloma, dan tes lepromin biasanya negatif. Pada pasien tipe lepromatosa, respon CMI terhadap *M.leprae* mengalami gangguan (anergi), tetapi respon ini tidak berubah terhadap bakteri lain. Respon imunitas humoral juga tetap baik meskipun tidak terlalu melindungi pasien. Respon sel T utamanya terdiri dari sel-sel Th-2. (Levinson W., 2004)

Proliferasi *M.lepra* pada kulit menunjukkan tipe yang bervariasi mulai dari keterlibatan kulit secara menyeluruh sampai nodul (leproma) dengan

distribusi yang simetris. Leproma kulit ini dapat mengandung 10^{10} basil per gram jaringan pada tipe LL yang lama. Yang khas lesi kulit ini terjadi pada bagian yang dingin. Hal ini disebabkan bakteri *M. lepra* lebih menyukai daerah dengan suhu yang lebih rendah dari suhu inti tubuh. Terdapat pola karakteristik dari gangguan syaraf akibat keterlibatan serabut syaraf dermis pada kusta tipe LL stadium lanjut. (Hasting et al., 1988).

2.6. Diagnosa Penyakit Kusta

Untuk menetapkan diagnosa penyakit kusta perlu dicari tanda-tanda pokok atau "cardinal signs" pada badan yaitu : 1) kelainan kulit/lesi yang hypopigmentasi atau kemerahan dengan hilang/mati rasa yang jelas, 2) kerusakan dari syaraf tepi, yang berupa hilang/mati rasa dan kelemahan otot tangan, kaki, atau muka, dan 3) adanya kuman tahan asam di dalam korekan jaringan kulit (BTA positif).

Seseorang dinyatakan sebagai penderita kusta bilamana terdapat satu dari tanda-tanda pokok diatas. Bila ragu-ragu orang tersebut dianggap sebagai kasus dicurigai (suspek) dan diperiksa ulang setiap 3 bulan sampai diagnosis dapat ditegakkan kusta atau penyakit lain.

Untuk melakukan diagnose secara lengkap dilaksanakan hal-hal sebagai berikut : 1) anamnesis, 2) pemeriksaan klinis (pemeriksaan kulit dan syaraf tepi serta fungsinya), 3) pemeriksaan bakteriologis, 4) pemeriksaan hispatologis, 5) imunologis. Namun untuk diagnosis kusta di lapangan cukup dengan anamnesis dan pemeriksaan klinis. Bila ada keraguan dan fasilitas memungkinkan sebaiknya dilakukan pemeriksaan bakteriologis. (Depkes RI)

Pemeriksaan bakteriologis dilakukan dengan menghitung nilai indeks bakteriologis dan indeks morfologis. Indeks Bakteriologis (IB) adalah perkiraan jumlah populasi bakteri pada penderita. Indeks kuman yang banyak dipakai untuk penelitian, menggunakan skala logaritma Ridley. Angka ini berkisar antara 0 (nol) sampai (6+), yang menurut petunjuk besar kecilnya kepadatan kuman pada rata-rata lapang pandang mikroskop. Indeks Morfologis (IM) adalah persentase bakteri yang hidup (viabel), yaitu bakteri yang memiliki bentuk utuh atau solid. (Agusni, 1987)

2.7. Reaksi Rantai Polimerase (RRP)

Reaksi Rantai Polimerase (RRP) adalah tehnik baru yang dikembangkan oleh Mullis (1983) untuk mengamplifikasi / memperbanyak bagian dari DNA yang spesifik dengan menggunakan enzim polimerase DNA. Pada tehnik RRP, suatu *primer* digunakan untuk berikatan dengan sekuen DNA yang diinginkan, dan bersama dengan polimerase DNA yang termostabil dan nukleotida-nukelotida bebas akan membuat suatu reaksi yang akan membuat salinan dari sekuen DNA yang diinginkan, bahkan dapat mencapai jumlah jutaan. (Madigan *et al.*, 2003)

Salah satu keuntungan RRP adalah sensitivitas dan spesifisitasnya yang tinggi sehingga mampu mendeteksi kuman *M. leprae* secara akurat dan dalam waktu yang cepat. RRP dapat menentukan penderita yang pausibasiler, orang sehat karier dan sumber-sumber penularan lain seperti: alat-alat rumah tangga, lantai, pakaian dan sebagainya. Kelemahan utama tehnik RRP adalah biaya yang cukup mahal dan selain itu RRP tidak mampu membedakan kuman *M. leprae* yang hidup dan yang mati (Handayani, 1997)

Komponen yang terlibat pada tehnik RRP yaitu target DNA yang akan diperbanyak dan berfungsi sebagai *template* atau cetakan, dua oligenokleotida pita tunggal yang digunakan sebagai *primer*, enzim polimerase DNA (polimerase DNA Taq dari bakteri tahan panas *Thermophylus aquaticus*), nukleotida-nukleotida bebas *deoxyribonucleoside trifosfat* (dNTPs) yaitu: dATP, dGPT, dCTP, dTTP dan larutan buffer serta garam dalam hal ini MgCl. Satu tahapan *denaturation*, *annealing*, *extension* disebut satu siklus. (Savitri D., 2005)

Faktor yang paling penting dalam RRP adalah karakteristik *primer* dan ikatan spesifik *primer* dengan target. Berbagai variasi tehnik PCR telah dilaporkan, meliputi amplifikasi berbagai rangkaian DNA target yang telah digunakan untuk deteksi *M. leprae*. (Scollard *et al.*, 2006)

Pada penelitian ini digunakan primer yang secara spesifik mengamplifikasi fragmen 129 pasangan basa dari elemen *Mycobacterium leprae-specific repetitive element* (RLEP). Primer ini merupakan *nested primer* yang terdiri dari primer LP₁-LP₂ dan LP₃-LP₄.

Urutan primer tersebut adalah :

LP₁ : 5'- TGC ATG TCA TGG CCT TGA GG -3'

LP₂ : 5'-CAC CGA TAC CAG CGG CAG AA-3'

LP₃ : 5'-TGA GGT GTC GGC GTG GTC-3'

LP₄ : 5'-CAG AAA TGG TGC AAG GGA-3'

LP₁-LP₂ : 129 bp

LP₃-LP₄ : 99 bp

Jamil et.al.(1994) mendapatkan hasil sensitifitas RRP *Nested* dapat mendeteksi sedikitnya 1 fg DNA bakteri (setara kurang dari satu genom) dengan menggunakan target RLEP. Sebagai perbandingan Plikaytis et al.(1990) melakukan penelitian RRP *nested two-step* dari gen *M.leprae groEL* (65-kDa antigen) dan dapat mendeteksi sedikitnya 3 fg dari DNA, yang diperhitungkan setara dengan satu basil.

BAB 3 TUJUAN PENELITIAN

3.1. Tujuan Umum

Mempelajari hubungan spektrum kusta, pemeriksaan basil tahan asam (BTA) dan pemeriksaan Reaksi Rantai Polimerase (RRP) dari spesimen sayatan kulit

3.2. Tujuan Khusus

(1) Melakukan pemeriksaan klinis untuk penentuan spektrum kusta; (2) Melakukan pemeriksaan mikroskopis untuk menentukan adanya basil tahan asam (BTA); (3) Melakukan deteksi kuman *M. leprae* dari sayatan kulit penderita kusta dengan menggunakan teknik reaksi rantai polimerase (RRP).

3.3. Manfaat Penelitian

- Mengetahui hubungan dari ketiga pemeriksaan klinis terutama yang berkaitan dengan spektrum klinis kusta.
- Memberikan pandangan bagi kebijakan penegakan diagnosa penyakit kusta.
- Memberikan tambahan masukan mengenai manfaat dari RRP sebelum tehnik ini digunakan dalam prosedur standar laboratorium untuk pasien kusta.

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian analitik observasional secara cross-sectional untuk mengetahui hubungan spektrum kusta, pemeriksaan Basil tahan asam (BTA) dan pemeriksaan Reaksi Rantai Polimerase (RRP) dari spesimen sayatan kulit. Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan klinis untuk mengetahui spektrum klinis kusta, pengambilan sampel sayatan kulit yang selanjutnya dilakukan pengecatan Ziehl Neelsen dan diperiksa secara mikroskopis untuk penentuan basil tahan asam (BTA), serta sebagian sampel kerokan kulit dipergunakan untuk pemeriksaan RRP.

4.2. Populasi, Sampel dan Besar sampel

4.2.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah semua penderita kusta baru yang didiagnosis secara klinis di Divisi Morbus Hansen Unit Rawat Jalan Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Diagnosis kusta ditegakkan secara klinis dan bakteriologis.

4.2.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah semua penderita kusta baru yang didiagnosis secara klinis dan memenuhi kriteria penerimaan sampel penelitian.

Kriteria Penerimaan Sampel

- Penderita kusta baru yang ditetapkan secara klinis dan bakteriologis.
- Belum pernah mendapat rejimen pengobatan kusta.
- Usia penderita 15 tahun ke atas.
- Bersedia ikut dalam penelitian ini, yang dinyatakan dengan menandatangani *informed consent*.

Kriteria Penolakan Sampel

- a) Penderita dengan keadaan umum yang jelek.
- b) Sudah pernah mendapat perawatan immunosupresor.
- c) Sedang menderita reaksi kusta.
- d) Penderita wanita hamil.

4.2.3. Besar Sampel

Besar sampel adalah jumlah penderita yang memenuhi kriteria penerimaan sampel yang datang ke Divisi Morbus Hansen Unit Rawat Jalan Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Besar sampel dalam penelitian ini diambil secara total sampling selama 3 bulan.

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

a. Spektrum Klinis Kusta

Klasifikasi WHO : Termasuk kusta tipe Lepromatosa (LL), Borderline lepromatosa (BL), Mid-Borderline (BB), Borderline tuberkuloid (BT) dan Tuberkuloid (TT)

b. Indeks Bakteriologis

Penilaian menurut skala logaritma Ridley tersebut adalah

- 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+ : > 1000 BTA ditemukan dalam rata-rata 1 lapangan pandang.

c. Hasil pemeriksaan RRP dari sayatan kulit penderita kusta baru.

RRP disebut positif diidentifikasi dengan membandingkan *DNA Marker* dengan *DNA* sampel (positif menghasilkan band setinggi 99-bp).

4.4. Alur Penelitian

Alur penelitian ini dimulai dengan pemilihan penderita didasarkan pada kriteria penerimaan dan penolakan sampel dengan menanda tangani *informed consent*. Pada penderita yang memenuhi kriteria sampel penelitian dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, penentuan diagnosis klinis, pengambilan sayatan kulit untuk pemeriksaan bakteriologis dan pemeriksaan RRP. Data dan hasil yang didapat dimasukkan dalam Lembar Pengumpulan Data dan dilakukan analisa data.



4.5. Bahan, Alat dan Cara Kerja

4.5.1. Bahan dan Alat yang diperlukan

Bahan :

- a. Spesimen biopsi / kerokan lesi penderita kusta
- b. Bahan kimia yang digunakan :
 - Alkohol 70%, Reagen pengecatan Ziehl Neelsen, EDTA
 - Cairan fiksasi, reagen-reagen RRP kulit
 - *Primers* :

- LP₁ : 5'- TGC ATG TCA TGG CCT TGA GG -3'
 LP₂ : 5'-CAC CGA TAC CAG CGG CAG AA-3'
 LP₃ : 5'-TGA GGT GTC GGC GTG GTC-3'
 LP₄ : 5'-CAG AAA TGG TGC AAG GGA-3'

Alat yang diperlukan :

- a. Sarung tangan
- b. Lampu spiritus, Korek api
- c. Kaca obyek
- d. Scalpel
- e. Sruit 3 cc
- f. Kapas
- g. Minyak emersi
- h. Mikroskop
- k. Tabung + EDTA
- l. Torniquet
- m. Vortex & Flash centrifuge
- n. Pipet Pasteur & pipet mikro
- o. Mesin centrifuge
- p. Tabung Eppendorf
- q. Mesin RRP
- r. Lembar pengumpul data

4.5.2. Cara kerja

Penegakan diagnosis kusta secara klinis (Agusni , 1992)

Secara klinis, dicari tanda-tanda pokok atau *cardinal signs*, yaitu:

- a. Adanya kelainan kulit / lesi yang hipopigmentasi / kemerahan dengan hilang / mati rasa yang jelas.
 - b. Kerusakan dari syaraf tepi, yang berupa hilang /mati rasa dan kelemahan otot tangan, kaki / muka.
 - c. Adanya kuman tahan asam di dalam kerokan jaringan kulit (BTA +)
- Seseorang dinyatakan sebagai penderita kusta bilamana terdapat sekurang-kurangnya satu dari tanda-tanda pokok diatas.

Cara pengambilan sediaan hapusan sayatan kulit (Agusni , 1987 ; WHO, 1987)

1. Ditentukan lokasi lesi kulit yang akan diambil untuk hapusan sayatan kulit.
2. Pada bagian tersebut dilakukan tindakan aseptis dengan kapas alkohol.
3. Bagian tersebut dijepit diantara jari kedua dengan ibu jari tangan kiri sehingga kulit tampak pucat guna menghindari terjadinya perdarahan.
4. Dengan skalpel steril dibuat sayatan, kurang lebih 0,5 cm sampai mencapai dermis (sedalam kurang lebih 2 mm).
5. Skalpel diputar 90 derajat, sambil mengerok sisi dan dasar luka hingga didapat bubur jaringan dari epidermis dan dermis.
6. Dari bahan tersebut dibuat sediaan hapusan pada kaca obyektif secara rata
7. Luka sayatan ditekan dengan kapas steril yang kering.
8. Setelah sediaan kering, difiksasi dengan cara melewatkannya di atas nyala api spiritus.

Prosedur pewarnaan dengan metode Ziehl Neelsen

- a. Sediaan dituangi karbol fuchsin yang telah disaring sampai semua permukaan tertutup, dibiarkan selama 20-30 menit atau dipanaskan sampai keluar uap lalu dibiarkan selama 5 menit.
- b. Dicuci dengan air mengalir.
- c. Warna dibuang dengan asam alkohol atau asam klorida (HCl) pekat dalam alkohol 70% sampai tidak ada warna oleh karena dilepas oleh sediaan (3-5 detik)
- d. Dicuci dengan air mengalir
- e. Dituangi dengan biru metilen 1% selama 1-2 menit.
- f. Dicuci dengan air mengalir
- g. Dikeringkan di udara
- h. Dibaca di bawah mikroskop dengan minyak emersi dengan pembesaran 1000 kali.

Pengambilan sampel sayatan kulit untuk RRP

- a. Dari lesi yang sama untuk pemeriksaan hapusan sayatan kulit, diambil jaringan dengan blade no. 11 dengan cara yang sama.
- b. Blade dimasukkan ke dalam tube yang berisi larutan PBST.
- c. Tube dapat disimpan dalam lemari pendingin sebelum dilakukan pemeriksaan selanjutnya.

Protokol Standar untuk ekstraksi DNA dari sampel sayatan kulit dengan kit *Qiagen miniprep* (Pembuatan *Template*):

- a. Tube yang berisi blade dilakukan vortex untuk mencampur kuman sehingga akan terbentuk suatu suspensi DNA.
- b. Setelah itu keluarkan blade, suspensi dalam tube disentrifus pada suhu 4° C selama 20 menit dengan kecepatan maksimum (13.000 rpm).
- c. Supernatan yang terbentuk setelah disentrifuse dibuang, sedangkan endapan diperlakukan menurut kit *Qiagen miniprep*, dengan menambahkan larutan P1 yang berisi enzim RNAse sebanyak 250 µl.
- d. Ditambahkan Bufer P2 sebanyak 250 µl yang mengandung NaOH untuk memberi suasana Basa, lalu divortex perlahan hingga larutan berubah menjadi sedikit bening.
- e. Ditambahkan 350 µl Bufer N3 berisi guanidine-HCl dan Asam asetat untuk menetralsir suasana Basa pada saat isolasi DNA terjadi, dan digoyang perlahan hingga terbentuk endapan putih.
- f. Disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan maksimum (13.000 rpm) dalam suhu ruangan.
- g. Supernatan yang berisi DNA sampel, dipindahkan dengan cara didkantasi ke dalam tabung steril khusus yang terdapat membran silika didalamnya, kemudian disentrifus 30-60 detik pada kecepatan maksimal.
- h. Filtrat dibuang, selanjutnya DNA yang terperangkap pada membran silika dalam tabung dicuci dengan bufer PB berisi guanidine-HCl

dan isopropanol sebanyak 0,5 ml, disentrifus 30-60 detik pada kecepatan maksimal.

- i. Tabung berisi DNA dicuci kembali dengan 0.75 ml Bufer PE berisi etanol 70 % disentrifus 30-60 detik pada kecepatan maksimal. Filtrat dibuang untuk kemudian tabung disentrifus sekali lagi selama 60 detik untuk menghilangkan residu dari bufer pencuci.
- j. DNA yang telah dipresipitasi dilarutkan dengan Distilled Water Sterile sebanyak 30-50 μ l, diinkubasi selama 1 menit dan disentrifus selama 1 menit.

Pemilihan Primer

Pada penelitian ini digunakan *Primer* yang sensitif yaitu Lp1-Lp2 yang mengamplifikasi 129 pasangan basa (*base pairs, bp*) dan Lp3-Lp4 secara spesifik mengamplifikasi fragmen 99 pasangan basa (*base pairs, bp*)

PROSEDUR PELAKSANAAN RRP

RRP mixture untuk Lp1-Lp2 terdiri dari :

- <i>distilled water</i>	7,75	μ l
- 2x Premix G	12,5	μ l
- Taq	0,25	μ l
- Lp 1 (5 μ M)	1	μ l
- Lp2 (5 μ M)	1	μ l
- Subtotal	2,25	μ l
- Template	2,5	μ l
- Total Volume	25	μ l

Kondisi RRP untuk Lp1-Lp2

- *Pre-heat* : 94°C selama 4 menit
- *Denaturation 2* : 94°C selama 30 detik
- *Annealing* : 56°C selama 30 detik
- *Extension* : 72°C selama 30 detik

- *Denaturation*2, *annealing* dan *extension* dilakukan 35 kali
- *Prolong extension* : 72°C selama 5 menit
- *Hold* : 4°C dengan waktu tak terhingga

RRP mixture untuk Lp3-Lp4 terdiri dari :

- Distilled water	7,75	µl
- 2x Premix G	12,5	µl
- Taq	0,25	µl
- Lp3 (5µM)	1	µl
- Lp4 (5µM)	1	µl
- Subtotal	22,5	µl
- Template	2,5	µl
- Total volume	25	µl

Kondisi RRP untuk Lp3-Lp4

- *Pre-heat* : 94°C selama 4 menit
- *Denaturation 2* : 94°C selama 30 detik
- *Annealing* : 56°C selama 30 detik
- *Extension* : 72°C selama 30 detik
- *Denaturation*2, *annealing* dan *extension* dilakukan 30 kali
- *Prolong extension* : 72°C selama 5 menit
- *Hold* : 4°C dengan waktu tak terhingga

Elektroforesis

1. Campur 8µl produk RRP dengan 2,5 µl *loading buffer* dan dielektroforesis dalam agarose NuSieve gel 3% di dalam buffer TBE pada 100 volt selama 35 menit.
2. Setelah elektroforesis , gel agarose diwarnai dengan Ethidium Bromide selama 20 menit
3. Hasil RRP divisualisasikan di foto dengan menggunakan kamera dalam lampu UV
4. Hasil RRP positif bila didapatkan band pada 99 bp.

4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian

4.6.1. Lokasi penelitian

Penegakan diagnosis kusta secara klinis dilaksanakan di Divisi Morbus Hansen Unit Rawat Jalan Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Pemeriksaan BTA dan Reaksi Rantai Polimerase dilakukan di laboratorium klinik swasta.

4.6.2. Waktu penelitian

Waktu penelitian dimulai pada bulan April 2009 sampai Juni 2009.

4.7. Pengolahan dan Analisa Data

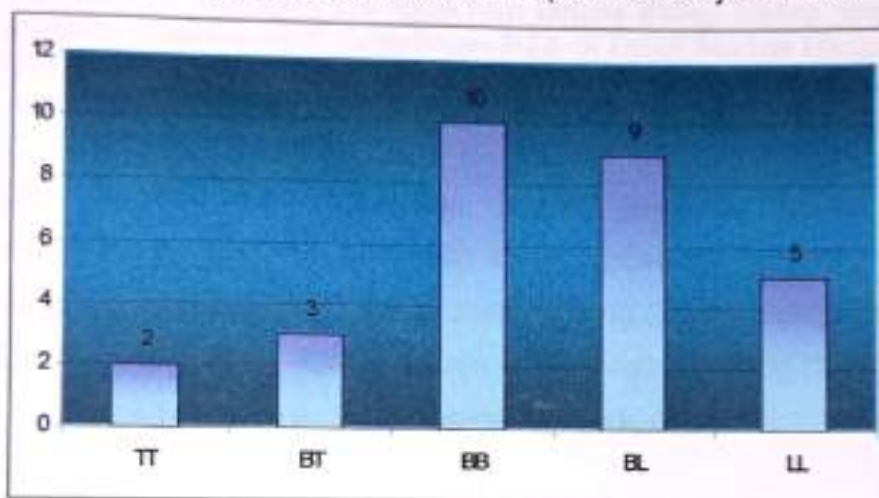
- Mengisi data pada Lembar Pengumpul Data
- Data dicatat, diolah dan dianalisa
- Dilakukan analisa data secara analitik

Kegiatan	Maret 2009	April 2009	Mei 2009	Juni 2009	Juli 2009
Perijinan					
Pengumpulan sampel					
Analisa data					
Laporan akhir					

BAB 5 HASIL PENELITIAN

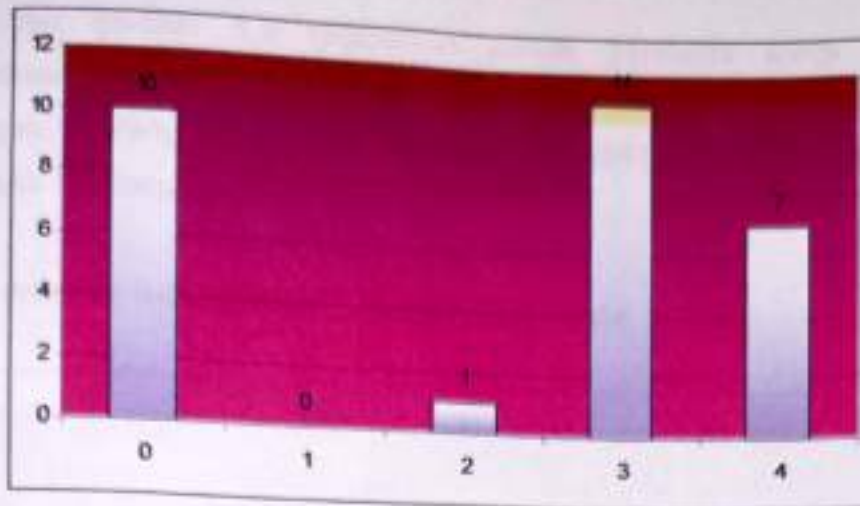
5.1. Jumlah Sampel Dan Gambaran Pasien Kusta

Telah dilakukan penelitian terhadap 29 (dua puluh sembilan) penderita kusta baru yang telah masuk dalam kriteria penerimaan sampel di Divisi Morbus Hansen URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya pada bulan April – Juni 2009. Masing-masing sampel dilakukan penentuan diagnosis klinis, kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan indeks bakteri dari pengecatan BTA serta RRP dari spesimen sayatan kulit.



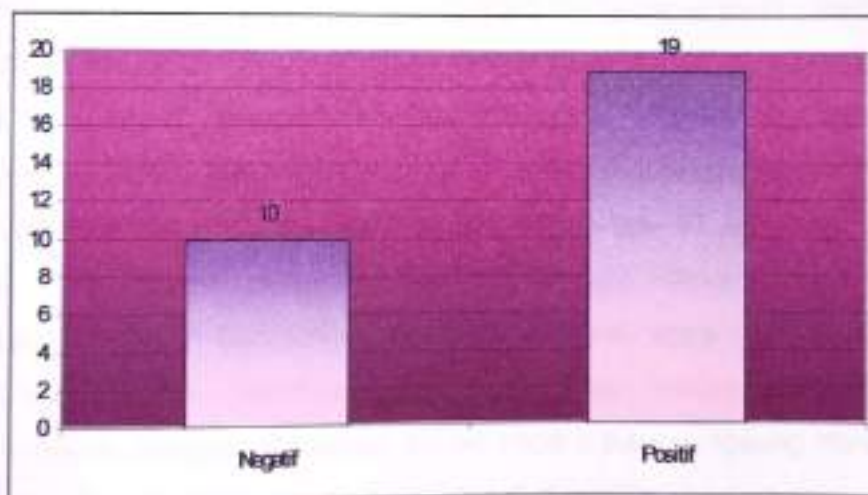
Gambar 5.1. Distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling yang diteliti berdasarkan hasil pemeriksaan Klinis di Divisi Morbus Hansen URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo pada bulan April- Juni 2009.

Dari gambar 5.1 didapatkan jumlah penderita kusta tipe TT sebanyak 2 orang (6,9%), tipe BT sebanyak 3 orang (10%), tipe BB sebanyak 10 orang (34,5%), tipe BL sebanyak 9 orang (31%) dan tipe LL sebanyak 5 orang (17%).



Gambar 5.2. Distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling yang diteliti berdasarkan hasil pemeriksaan BTA di Divisi Morbus Hansen URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSU Dr. Soetomo pada bulan April- Juni 2009.

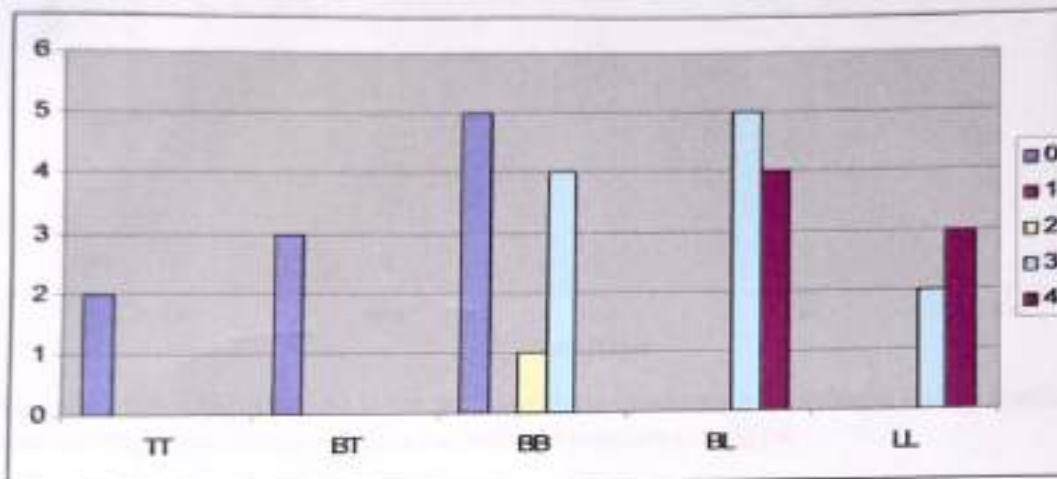
Dari gambar 5.2 didapatkan jumlah penderita kusta dengan pemeriksaan indeks bakteri 0 sebanyak 10 orang (34,5%), indeks bakteri 1+ tidak ada (0%), indeks bakteri 2+ sebanyak 1 orang (3,5%), indeks bakteri 3+ sebanyak 11 orang (38%), indeks bakteri 4+ sebanyak 7 orang (24%), indeks bakteri 5+ tidak ada (0%) dan indeks bakteri 6+ tidak ada (0%).



Gambar 5.3. Distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling yang diteliti berdasarkan hasil pemeriksaan RRP spesimen kulit di Divisi Morbus Hansen URJ Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSU Dr. Soetomo pada bulan April- Juni 2009.

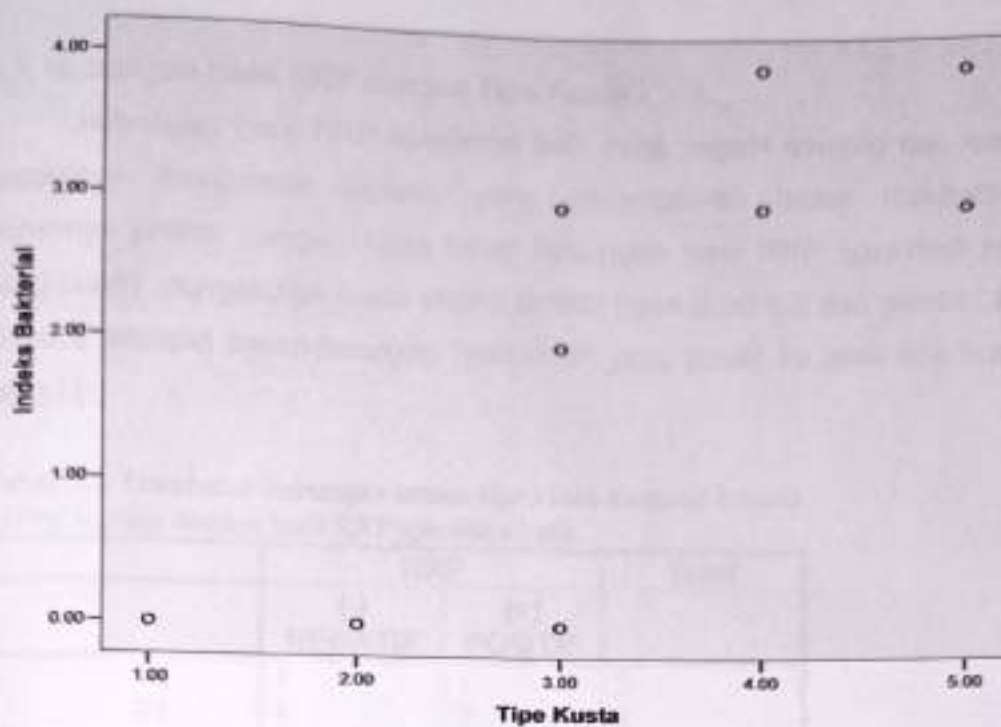
Dari gambar 5.3 didapatkan jumlah penderita kusta dengan pemeriksaan RRP dari spesimen kulit yang menunjukkan hasil negatif adalah sebanyak 10 orang (34,5%) dan yang menunjukkan hasil yang positif adalah sebanyak 19 orang (65,5%).

5.2. Hubungan Indeks Bakteri dengan Tipe Kusta



Gambar 5.4. Distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling dan hubungannya dengan indeks bakteri dari pemeriksaan BTA

Dari gambar 5.4 dapat dilihat bahwa indeks bakteri 0 didapatkan pada penderita tipe TT, BT dan BB. Indeks bakteri 2+ terdapat pada penderita tipe BB. Indeks bakteri 3+ terdapat pada penderita tipe BB, BL dan LL. Indeks bakteri 4+ terdapat pada penderita tipe BL dan LL. Gambar 5.4 telah sedikit menunjukkan hubungan tingkat respon imun penderita dengan jumlah kuman secara mikroskopis. Dimana semakin mendekati tipe TT akan menunjukkan respon imun seluler yang meningkat sehingga *bacterial load* semakin menurun yang akan berdampak sedikitnya kuman lepra yang dapat dilihat secara mikroskopis. Gambaran hubungan linier antara spektrum kusta dengan indeks bakteri juga dapat dilihat secara tidak langsung dari gambar 5.5. Sedangkan kekuatan hubungan dapat dianalisa dengan menggunakan koefisien korelasi dari Spearman pada tabel 5.1.



Gambar 5.5. Diagram pola sebar dari distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling dan hubungannya dengan indeks bakteri dari pemeriksaan BTA

Tabel 5.1. Analisa hubungan antara tipe kusta menurut kriteria Ridley Jopling dengan indeks bakteri menggunakan koefisien korelasi Spearman

Correlations				
			Tipe Kusta	Indeks Bakterial
Spearman's rho	Tipe Kusta	Correlation Coefficient	1.000	.803**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	29	29
	Indeks Bakterial	Correlation Coefficient	.803**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	29	29

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

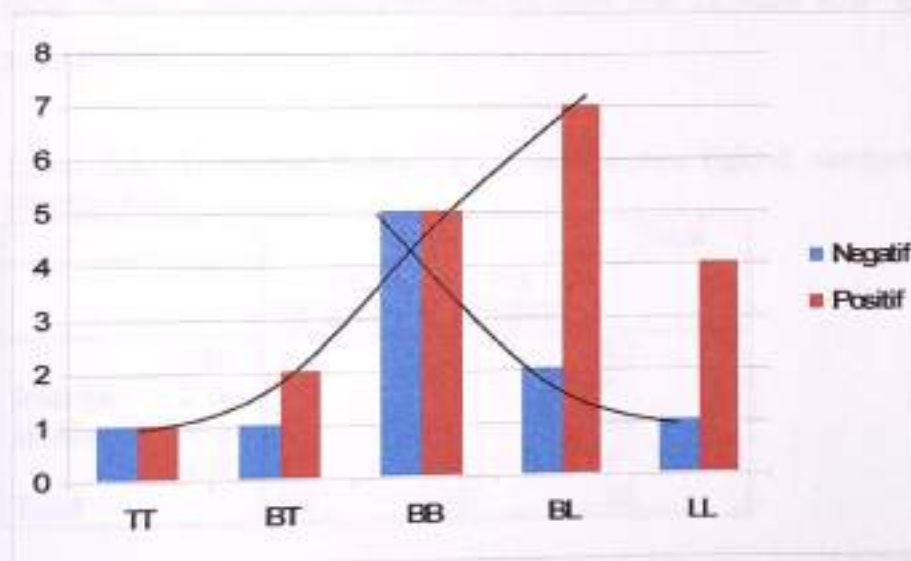
Ada korelasi yang signifikan antara tipe kusta dengan indeks bakteri, nilai koefisien korelasi Spearman (r_s) = 0,803 dan $p = 0,000$ ($p < \alpha$, $\alpha = 5\%$). Bila dilihat dari nilai koefisien korelasinya dapat dikatakan terdapat korelasi yang kuat antara tipe kusta dengan indeks bakteri.

5.3. Hubungan Hasil RRP dengan Tipe Kusta

Hubungan hasil RRP spesimen kulit yang negatif dengan tipe kusta sepertinya mengalami distorsi, yang kemungkinan besar diakibatkan minimnya jumlah sampel. Akan tetapi hubungan hasil RRP spesimen kulit yang positif dengan tipe kusta sedikit terlihat pada tabel 5.2 dan gambar 5.6 dimana terdapat kecenderungan hasil RRP yang positif ke arah tipe kusta yang LL.

Tabel 5.2. Gambaran hubungan antara tipe kusta menurut kriteria Ridley Jopling dengan hasil RRP spesimen kulit

		RRP		Total
		(-) NEGATIF	(+) POSITIF	
Tipe Kusta	TT	1	1	2
	BT	1	2	3
	BB	5	5	10
	BL	2	7	9
	LL	1	4	5
Total		10	19	29



Gambar 5.6. Diagram dari distribusi tipe kusta baru kriteria Ridley Jopling dan hubungannya dengan hasil RRP

Sedangkan analisa hubungan antara hasil RRP spesimen kulit dengan tipe kusta menggunakan uji koefisien kontingensi menunjukkan tidak ada hubungan antara keduanya

Tabel 5.3. Analisa hubungan antara tipe kusta menurut kriteria Ridley Jopling dengan hasil RRP spesimen kulit menggunakan uji koefisien kontingensi

Symmetric Measures			
		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	.273	.673
N of Valid Cases		29	

a. Not assuming the null hypothesis.
b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Tidak ada hubungan yang bermakna antara tipe kusta dengan hasil PCR karena nilai signifikansi = 0,673 ($p > \alpha$) dan nilai koefisien kontingensi mendekati nol / kecil ($C = 0,273$)

5.4. Hubungan Hasil RRP dengan Indeks Bakterial

Tabel 5.4 sedikit menunjukkan hubungan antara Indeks Bakteri dengan RRP spesimen kulit, dimana semakin ke arah tipe TT hasil RRP lebih banyak yang negatif. Sedangkan semakin ke arah tipe LL hasil RRP lebih banyak yang positif.

Tabel 5.4. Gambaran hubungan antara Indeks Bakteri dengan hasil RRP sayatan kulit

		RRP		Total
		(-) NEGATIF	(+) POSITIF	
Indeks Bakterial	.00	7	3	10
	2.00	0	1	1
	3.00	2	9	11
	4.00	1	6	7
Total		10	19	29

Analisis hubungan antara Indeks Bakteri dengan hasil RRP spesimen kulit menggunakan uji koefisien kontingensi pada tabel 5.5 menunjukkan hubungan yang cukup signifikan.

Tabel 5.5. Analisa hubungan antara Indeks Bakteri dengan hasil RRP sayatan kulit dengan uji koefisien kontingensi

Symmetric Measures			
		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	.480	.034
N of Valid Cases		29	

a. Not assuming the null hypothesis.
b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Uji koefisien kontingensi memperoleh nilai signifikansi sebesar 0,034 ($p < \alpha$). Hal ini berarti terdapat hubungan antara indeks bakteri dengan hasil PCR. Bila dilihat dari nilai koefisien kontingensi kekuatan hubungannya cukup ($C = 0,480$).

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN :

1. Hubungan Indeks Bakteri dengan Tipe Kusta menunjukkan hubungan yang kuat ($p = 0,000$; $p < \alpha$; $\alpha = 0,05$).
2. Hubungan Indeks Bakteri dengan hasil RRP spesimen kulit juga menunjukkan hubungan yang cukup signifikan ($p=0,034$; $p < \alpha$; $\alpha=0,005$).
3. Adanya gangguan pada hubungan antara Tipe Kusta dengan hasil RRP spesimen kulit kemungkinan besar disebabkan minimnya jumlah sampel.

SARAN :

1. Perlunya penelitian lanjutan dengan model yang sama dengan pengambilan sampel yang besar, serta pencarian penderita pada daerah konsentrasi kusta.
2. Pemeriksaan BTA dan menghitung Indeks Bakteri merupakan sarana yang murah / ekonomis dan hasilnya dapat memperkirakan hasil dari RRP spesimen kulit yang memerlukan biaya yang cukup mahal.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusni I., Ilias M.I., 1987. Cara Pemeriksaan an Diagnosa Penyakit Kusta. In: Bahan Penataran Kusta untuk Dokter Dan Mantri Puskesmas. Dinas Kesehatan Daerah Kotamadya Dati II Surabaya p.1-11.
- Agusni I., 1987. Pemeriksaan Bakteriologis pada Morbus Hansen. In : Bahan Penataran Kusta untuk Dokter dan Mantri Puskesmas. Indonesia. Dinkes Kodya II Surabaya : 73-80.
- Amiruddin M.D., Noordin M.D., 1995. *Mycobacterium leprae*. Berkala Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin 7(1) : p.52-58.
- Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A., 2001. Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology (22nd ed.). USA. Appleton & Lange.
- Dinas Informasi dan Komunikasi Pemda Jatim. 2007. (http://D-InfokomJatim/news2_php.htm)
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Kebijakan Pemberantasan Penyakit Kusta. (<http://www.depkes.go.id/downloads/Kusta.pdf>)
- Donoghue H.D., Holton J., Spigelman M., 2001. PCR Primers That Can Detect Low Levels of *Mycobacterium leprae* DNA. J Med Microbiol. 50 : 177-182.
- Handayani S., 1997. Eliminasi Penyakit Kusta pada Tahun 2000. Cermin Dunia Kedokteran (117): 10-12
- Hastings R.C., Gillis T.P., Krahenbuhl J.L., Franzblau S.G., 1988. Leprosy. Clin Microbiol Rev. 1(3): 330-348.
- Jamil S., Wilson SM., Hacket M., Hussain R., Stoker N.G., 1994. A Colorimetric PCR Method for the Detection of *M.leprae* in Skin Biopsies from Leprosy Patients. Int J Lepr Other Mycobact Dis. 62(4) : 512-520.
- Jopling W.H., McDougall A.C., 1988. Handbook of Leprosy (4th ed.). UK. Heinemann Professional Publising.
- Levinson W., 2004. Medical Microbiology & Immunology :Examination & Board Review (8th ed.). USA. Appleton & Lange
- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J., 2003. Brock's Biology of Microorganisms. 10th ed. Upper Saddle River, USA. Prentice Hall.

- Plykaytis B.B., Gelber R.H., Shinnick T.M., 1990. Rapid and Sensitive Detection of *Mycobacterium leprae* Using a Nested-Primer Gene Amplification Assay. *J.Clin.Microbiol.* 28 (9) : 1913-1917.
- Savitri D., 2005. DNA *Mycobacterium leprae* dalam Darah Penderita Kusta. Tesis, Universitas Airlangga Surabaya, Indonesia.
- Scollard D.M., Adams L.B., Gillis T.P., Krahenbuhl J.L., Truman R.W., Williams D. L., 2006. The Continuing Challenges of Leprosy. *Clin Microbiol.* 19 (2) : 338-381.
- Talaro K., Talaro A., 1996. *Foundations in Microbiology* (2nd ed.). USA.Wm.C.Brown Publishers.
- World Health Organization (WHO), 2006. Weekly epidemiological record.No. 32, 81, 309-316 (<http://www.who.int/wer>)
- World Health Organization (WHO), 1987. *Laboratory Techniques for Leprosy.* p.113-117