

# 1. PENDAHULUAN

## A. Latar Belakang

Papua masih merupakan daerah *high endemicity* untuk penyakit lepra. Menurut data WHO, Indonesia merupakan negara penyumbang angka lepra terbesar di dunia setelah India dan Cina pada tahun 2006, dan masuk dalam 12 besar pada tahun 2013<sup>(1)</sup>. Program penanggulangan penyakit lepra sudah dicanangkan oleh World Health Organization (WHO) sejak tahun 1991 dalam Program *World Health Assembly*. Program ini berhasil membebaskan 116 negara endemis lepra dari 122 negara yang sebelumnya dinyatakan endemis. Di Papua upaya pengendalian lepra semakin digiatkan sejak tahun 2010 namun sampai tahun 2014 Papua, khususnya kota Jayapura masih dinyatakan sebagai daerah endemis tinggi untuk penyakit lepra dengan angka prevalensi 18 %<sup>(2)</sup>. Penelitian mengenai faktor-faktor transmisi lepra perlu dilakukan untuk mempercepat eliminasi lepra di Provinsi Papua.

Faktor-faktor yang mempengaruhi penularan lepra diduga adalah faktor genetik, faktor lingkungan dan faktor agen penginfeksi<sup>(3)</sup>. Karakteristik penularan lepra bersifat langsung tanpa perantara diduga melalui droplet atau cairan yang keluar dari tubuh penderita yang terinfeksi. Kuman *M.leprae* banyak ditemukan di lesi kulit dan saluran hidung<sup>(4)</sup> sehingga penelitian faktor resiko kontak yang berada paling dekat dengan penderita perlu dilakukan.

Faktor resiko lain yang perlu dipelajari adalah faktor penjamu. Pada faktor penjamu ini faktor genetik dan status gizi berperan sangat penting karena berkaitan dengan aspek kekebalan. Faktor gula darah adalah salah satu faktor yang juga perlu diteliti karena penderita diabetes mengalami penurunan sistem kekebalan dan mudah terinfeksi agen patogen. Berdasarkan studi yang pernah dilakukan diketahui bahwa diabetes mellitus meningkatkan resiko penularan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* penyebab penyakit TB . Informasi mengenai hubungan kadar gula darah dan resiko terinfeksi kuman *M.leprae* belum banyak diketahui. Semakin meluasnya prevalensi DM di seluruh dunia, termasuk di Indonesia merupakan salah satu faktor sehingga penelitian ini perlu dilakukan.

Lepra adalah infeksi dermatologi kronis yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium leprae*. Penyakit ini merupakan penyakit infeksi langsung yang menyerang kulit dan saraf dan berhubungan dengan kerusakan imunologi<sup>(5)</sup> Masa inkubasi bakteri tergolong panjang yaitu 3-5 tahun sebelum penderita infeksi menunjukkan gejala klinis. Dalam skala global, lepra adalah salah satu faktor penyebab kecacatan fisik yang mengakibatkan penurunan produktivitas dan pendapatan<sup>(6)</sup>. Informasi yang akurat mengenai lepra masih sulit

didapatkan, berkaitan dengan keakuratan diagnosa dan rendahnya kesadaran untuk berobat karena takut dengan stigma negatif<sup>(7)</sup>.

*Mycobacterium leprae* adalah kelompok *slow grower bacteria*. Sampai saat ini pemeriksaan dengan kultur media biasa yang sudah diaplikasikan pada *slow grower bacteria* belum berhasil diterapkan pada *M.leprae*. Beberapa penelitian menggunakan kultur pada Armadilo<sup>(8)</sup>. Proses diagnosa yang diterapkan sampai saat ini adalah pewarnaan ZN dari spesimen kerokan kulit penderita. Genotyping adalah pendekatan molekular untuk menganalisis struktur DNA suatu organisme. Pendekatan ini memungkinkan proses deteksi pada penderita dan pada kasus infeksi yang belum menunjukkan<sup>(9)</sup>. Genotyping juga memungkinkan untuk melakukan analisis transmisi dengan membandingkan similaritas susunan DNA antara kontak dengan penderita.

Melihat dampak yang ditimbulkan oleh penyakit lepra dan belum banyaknya penelitian mengenai lepra di Provinsi Papua, maka penting untuk dilakukan suatu penelitian untuk mendeteksi kuman *M.leprae* pada kontak pasien lepra dan faktor-faktor yang mempengaruhi transmisi kuman *M.leprae*.

## **B. Perumusan Masalah**

Papua adalah wilayah dengan angka kejadian lepra yang tinggi. Tingginya angka kejadian lepra ini dipengaruhi oleh beberapa faktor. Dalam penelitian ini, dilakukan deteksi *M.leprae* dengan metode PCR pada tubuh penderita dan pada kontak kasus serumah untuk meneliti faktor-faktor yang mempengaruhi transmisi strain *M.leprae*.

## **2. TUJUAN PENELITIAN**

### **A. Tujuan Umum**

Mendeteksi kuman *M.leprae* dengan metode PCR pada kasus baru dan kontak serta menganalisis faktor yang mempengaruhi transmisi kuman *M.leprae*.

### **B. Tujuan Khusus**

1. Mendapatkan informasi karakteristik penderita Lepra
2. Mendapatkan informasi kondisi rumah, pola kedekatan dan kadar gula darah penderita dan kontak serumah
3. Mengidentifikasi kuman *M. leprae* pada penderita dan kontak serumah dengan metode PCR

4. Membandingkan strain *M.leprae* pada tubuh penderita lepra dan kontak serumah yang terinfeksi dengan data GeneBank.
5. Menghitung sensitivitas pemeriksaan *M.leprae* dengan metode PCR terhadap pemeriksaan dengan metode BTA.

### 3. MANFAAT PENELITIAN

#### A. Program kesehatan masyarakat

Hasil penelitian dapat digunakan program dalam melakukan deteksi cepat *M. Leprae* untuk membantu informasi pencegahan dan pemberantasan *M. leprae*.

#### B. Ilmu pengetahuan

Dalam penelitian ini akan diperoleh data genotyping strain *M.leprae* yang akan menjadi sumbangan ilmu pengetahuan. Prosedur PCR pada kontak serumah penderita lepra dapat digunakan sebagai langkah awal deteksi dini lepra pada pasien yang belum menunjukkan gejala.

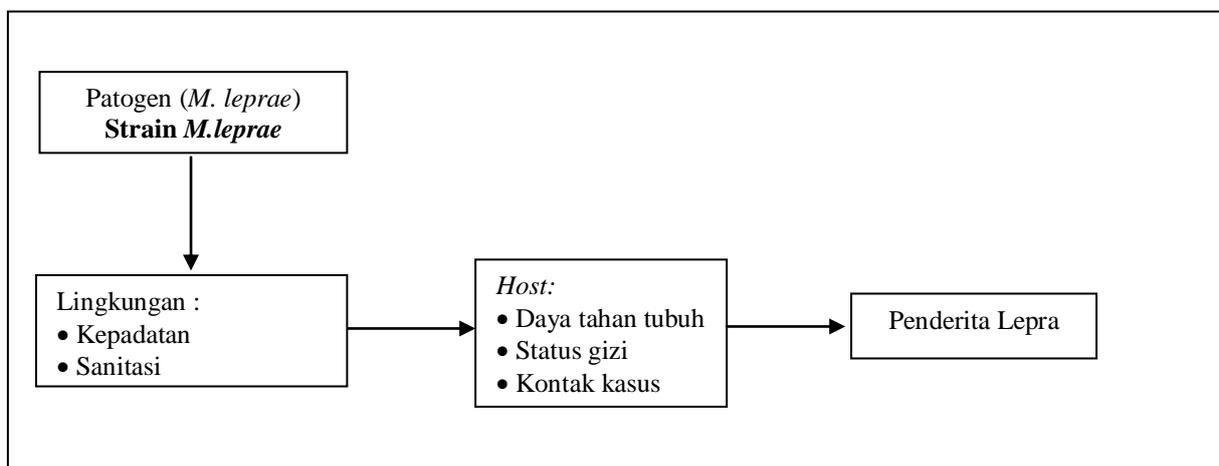
### 4. HIPOTESIS

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

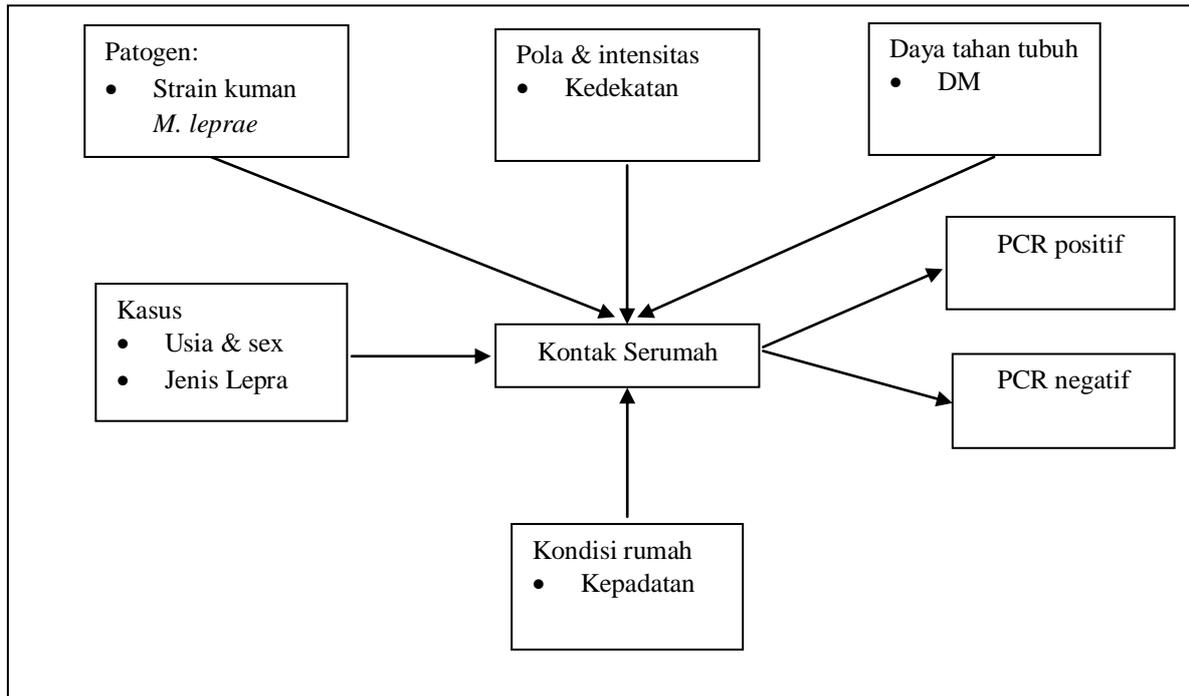
1. Dalam tubuh penderita dan kasus kontak dapat dideteksi *M.leprae* menggunakan metode PCR
2. Faktor lingkungan dan kadar gula darah mempengaruhi infeksi *M.leprae*.

### 5. METODE

#### A. Kerangka Teori Penelitian



## B. Kerangka Konsep Penelitian



## C. Tempat dan waktu penelitian

### 1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Kota Jayapura. Pemeriksaan sampel yang meliputi pemeriksaan darah, ekstraksi DNA dan PCR dilakukan di Laboratorium Balai Litbang Biomedis Papua. Sekuensing dilakukan di Laboratorium Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.

### 2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 8 bulan efektif pada bulan April-November 2015 sesuai dengan masa penerbitan dan berlakukannya ijin etik dari Komisis Etik Badan Litbangkes.

## D. Desain dan Jenis penelitian

Desain penelitian secara *cross sectional*. Jenis penelitian adalah penelitian deskriptif.

## E. Populasi dan sampel

### 1. Populasi

Kasus lepra yang sudah didiagnosa klinis positif yang tinggal di wilayah Kota Jayapura.

## 2. Sampel penelitian

Sampel penelitian adalah darah vena dan swab hidung yang diambil dari tubuh penderita dan kontak serumah. Kerokan lesi telinga diambil dari kasus.

## 3. Besaran sampel

Besar sampel untuk sensitivitas yang diambil adalah 35 penderita lepra, sedang untuk spesifisitas sebanyak 57.899 kasus, tidak diambil karena terlalu besar. Kontak serumah yang akan diambil rata-rata 4 orang untuk masing-masing penderita, sesuai dengan rata-rata jumlah anggota rumah tangga di Kota Jayapura. Total sampel penelitian adalah 175 yang terdiri dari 35 orang kasus lepra dan 140 orang kontak penderita. Pemeriksaan *gold standard* yang digunakan adalah pemeriksaan BTA dan gejala klinis sesuai yang berlaku pada Pedoman Nasional Pemberantasan penyakit Kusta<sup>(6)</sup>.

Besar sampel untuk sensitivitas dihitung menggunakan rumus<sup>(10)</sup> :

$$n = \frac{Z^2_{1-\alpha/2} P(1-P)}{d^2}$$

n = besar sampel minimum

$\alpha$  = 0.05

$Z_{1-\alpha/2}$  = nilai Z

P = Sensitivity PCR menurut studi yang dilakukan di Makasar tahun 1993 (55%)<sup>8</sup>

d = 30%

## F. Definisi operasional

No	Variabel	Definisi	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
1.	Kontak serumah	Orang yang tinggal bersama penderita lepra dalam waktu minimal 8 bulan	Uji PCR	+ terdeteksi kuman <i>M. leprae</i> - terdeteksi kuman <i>M. leprae</i>	Nominal
2.	Kasus baru lepra	Orang yang telah didiagnosa sebagai penderita lepra oleh dokter atau tenaga kesehatan yang menangani program lepra melalui pemeriksaan fisik dan pewarnaan	Questioner	+ lepra - lepra	Nominal

		BTA, belum mendapatkan pengobatan atau sudah berobat $\leq 6$ bulan.			
3.	Usia	Dihitung pada ulang tahun yang terakhir	Questioner	1. $\leq 11$ 2. 12-25 3. 26-45 4. $\geq 46$	Ordinal
4.	Jenis kelamin	Berdasarkan ciri-ciri fisik dinyatakan sebagai laki-laki atau perempuan	Questioner	1. Laki-laki 2. Perempuan	Nominal
7.	Jenis Lepra	Klasifikasi lepra berdasar berdasar ICD-10 A.30.0-9	Pengamatan mikroskopis dan klinis	1. Pausi Bacillary (PB), terdiri dari: Indeterminate Leprosy (A30.0), Tuberculoid leprosy (A30.1), Borderline tuberculoid leprosy(A30.2)  2. Multi Bacillary (MB), terdiri dari : Borderline leprosy (A30.3), Borderline lepromatous leprosy (A30.4), Lepromatous leprosy (A30.5)  3. Others yang terdiri dari: Other forms of leprosy (A30.8) dan Leprosy unspecified (A30.9)	Ordinal
9.	Kedekatan	Jarak kasus dengan kontak serumah	Questioner	1. Dalam 1 tempat tidur yang sama 2. 1 ruang tapi berbeda tempat tidur 3. Berbeda ruang	Ordinal
10.	Waktu Bertemu	Intensitas pertemuan kontak serumah dengan kontak kasus	Questioner	1. $\leq 8$ jam 2. $> 8$ jam	Nominal

		dalam satu hari			
11.	Kepadatan	Jumlah total penghuni dalam rumah	Pengamatan	Orang	
12.	Luas	Luas bangunan tempat tinggal kasus lepra dan kontak	Pengamatan	M <sup>2</sup>	
14	Kadar gula darah	Kadar gula darah sewaktu yang diukur menggunakan alat spektrofotometer dari sampel plasma subyek penelitian	Pemeriksaan laboratorium menggunakan spektrofotometer	1. Rendah : $\leq 120$ 2. Tinggi : $> 121$	Nominal
15	Berat badan	Berat badan yang terukur pada saat pengambilan data menggunakan alat timbangan electronic, merk "Fesco" dikalibrasi oleh Badan Pengamanan Fasilitas Kesehatan (BPFK) Papua	Pengukuran dengan timbangan elektronik terkalibrasi	Kg	
16	Tinggi badan	Tinggi badan yang terukur pada saat pengambilan data menggunakan alat Microtoise dikalibrasi oleh Badan Pengamanan Fasilitas Kesehatan (BPFK) Papua	Pengukuran dengan microtoise terkalibrasi	m	

### G. Kriteria Inklusi dan eksklusi

Kriteria inklusi dan eksklusi dalam penelitian ini adalah:

a. Kasus

1. Didiagnosa secara klinis sebagai penderita lepra
2. Belum menjalani pengobatan atau menjalani pengobatan < 1 tahun
3. Tempat tinggal di Kotamadya Jayapura dan bersedia dikunjungi rumah
4. Bersedia diambil sampel darah, kerokan telinga dan hapusan hidung ditunjukkan dengan menandatangani *informed consent*
5. Berusia  $\geq$  10 tahun

b. Kontak

1. Tinggal dalam satu rumah dengan penderita minimal 8 bulan
2. Bersedia diambil sampel darah dan hapusan hidung ditunjukkan dengan menandatangani *informed consent*
3. Berusia  $\geq$  10 tahun

Kriteria eksklusi

1. Penderita lepra dan kontak tidak bersedia terlibat dalam penelitian
2. Tidak mampu menjalankan puasa 8 jam
3. Sedang terserang influenza atau sinusitis saat pengambilan sampel

## H. Variabel

Variabel bebas : Kedekatan, waktu pertemuan, strain *M.leprae*, kepadatan, luas, ventilasi dan kadar gula darah kontak kasus lepra

Variabel terikat : Kontak kasus serumah

## I. Instrumen dan Cara Pengumpulan Data

Instrumen dalam penelitian ini adalah questioner untuk melakukan wawancara. Alat dokumentasi berupa kamera digunakan untuk mendokumentasikan aktifitas. Alat GPS Garmin digunakan untuk menentukan posisi koordinat tempat tinggal pasien. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: Reagen yang digunakan untuk melakukan pengambilan spesimen dari tubuh pasien dan kontak pasien, melakukan pemeriksaan gula darah, ekstraksi DNA, PCR dan sekuensing. Alat dan bahan yang digunakan dalam pengambilan sampel adalah : kapas lidi steril, buffer dalam tabung *microcentrifuge* steril, slide, spuit 3 cc, tabung EDTA 5 cc, Alkohol swab dan plester, alat APD pengambil sampel yang berupa gel antiseptic, masker dan *glove*. Untuk pemeriksaan BTA digunakan 1 set pewarna *ziehl nielsen*. Alat

dan bahan untuk pemeriksaan gula darah adalah: spektrofotometer Sturdust, *multichanel well* dan *micropipet*, reagen GOD FS Glucose dari DSI. Untuk analisis molekular, alat yang digunakan adalah microsentrifuge, PCR Machine Biorad, elektroforesis, gel doc, micropipet, *microcentrifuge* tube dan PCR tube. Reagen yang digunakan meliputi nuclease free water, Qiamp DNA mini kit, Dream Green Taq Master mix PCR, buffer TBE, buffer TAE, agarose, sybr safe staining gel, loading buffer, marker Ladder 100 bp dan primer LP 1 dan LP 2 Untuk sekuensing menggunakan mesin sequencer dari Applied Biosystem. Reagen yang diperlukan adalah Applied Biosystems BDT v3.1 reaction mix 100 reactions, BDT v 1.1/3.1 sekuensing buffer (5X), 350 mM Tris HCl pH 9 dan 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>.

#### **J. Pengawasan kualitas data**

Dalam penelitian ini dilakukan proses validasi dan uji lapangan kuesioner. Proses pengambilan darah dilakukan oleh tenaga kesehatan berpengalaman yang telah distandarisasi.

#### **K. Manajemen Data**

Data penderita lepra dan kontak kasus dijaga kerahasiaan identitasnya oleh peneliti. Data akan disimpan dalam sistem data base Balai Penelitian dan Pengembangan Biomedis Papua.

#### **L. Analisis Data**

Data epidemiologi akan diolah menggunakan perangkat pengolah data SPSS. Karakteristik akan dianalisis secara univariat. Hubungan faktor-faktor yang mempengaruhi akan dianalisis secara bivariat. Untuk mengetahui faktor yang paling mempengaruhi maka dilakuakn analisis multivariate. Data sekuensing akan diolah menggunakan perangkat pengolah data MEGA 5 untuk melakukan konstruksi pohon filogenetik.

#### **M. Langkah-langkah Penelitian**

##### **1. Penderita Lepra**

Pada kasus yang diduga lepra, pengerokan lesi dilakukan di bagian bawah daun telinga yang mengalami penebalan paling lebar oleh petugas

puskesmas. Kerokan lesi dibagi menjadi 2 bagian, yang pertama dioleskan pada slide dan yang ke dua ditempatkan ke dalam tabung Ependorf yang berisi buffer TE 2 %. Kemudian untuk slide, dilakukan pengecatan BTA dengan larutan **Ziehl-Neelsen (ZN)** , kemudian dikeringkan dan dibaca oleh mikroskopis dengan pembesaran 1000 kali untuk 100 LPB. Tabung yang berisi kerokan lesi ditempatkan dalam *Cool Box* dengan suhu 4-8 ° C dan dikirimkan ke Balai Litbang Biomedis Papua pada akhir jam kerja.

Untuk kasus yang dinyatakan positif, subyek selanjutnya dimohonkan partisipasinya ikut serta dalam penelitian. Naskah penjelasan dibacakan oleh peneliti, didampingi petugas puskesmas dan *informed consent* ditandatangani oleh subyek yang bersedia berpartisipasi. Hari dan tanggal kunjungan rumah pagi hari ditentukan bersama oleh subyek, petugas dan peneliti. Kasus dan 4 anggota rumah tangga yang akan digunakan sebagai kontak penderita harus berpuasa selama 8 jam.

## **2. Kontak Penderita**

Wawancara dan pengambilan spesimen (vena sebanyak 1-3 cc dan nasal swab) kontak kasus dilakukan pada saat kunjungan rumah. Kunjungan rumah dilakukan bersama dengan Wasor atau petugas Puskesmas yang bertugas menangani program lepra.

## **3. Kunjungan rumah**

Kunjungan rumah untuk melakukan pengambilan spesimen, wawancara dan pengamatan rumah dilakukan berdasarkan kesepakatan waktu antara peneliti dan kasus. Kunjungan rumah dilakukan bersama dengan Wasor (Wakil Supervisor) atau petugas Puskesmas yang bertugas menangani program. Pada kunjungan rumah dilakukan wawancara, pengambilan swab nasal kasus dan kontak dan pengambilan darah. Pada kunjungan rumah juga dilakukan pengamatan kondisi rumah dan pengambilan posisi koordinat menggunakan GPS (*General Positioning System*). Pengambilan data GPS dilakukan di depan pagar rumah atau bagian terluar rumah.

## **4. Pengambilan Nasal Swab**

Swab diambil pada kedua rongga hidung di mana sebelumnya kapas lidi dicelup dalam aquadest steril. Swab diusapkan pada mukosa hidung sebanyak 2-3 kali dengan perlahan. Swab dicelup dalam tube yang berisi 200 ml buffer. Selama pengangkutan, sampel disimpan dalam *cool box*. Di laboratorium

sampel dialiquote masing-masing sebanyak 100 µl. Satu tube disimpan dalam refco -80 C, dan 1 tube digunakan untuk ekstraksi DNA.

#### **5. Pengelolaan Sampel Darah**

Sampel darah diambil oleh petugas pada vena di lipatan siku sebanyak 3 cc menggunakan spuit. Darah yang sudah diambil dimasukkan dalam tabung EDTA 5 ml yang sudah berlabel nama, study number dan tanggal pengambilan. Tabung EDTA berisi darah ditempatkan pada *cool box* untuk diangkut ke Laboratorium Balai Litbang Biomedis Papua. Sampel segera disentrifugasi dengan kecepatan 8000 g selama 15 menit untuk memisahkan bagian plasma dan sel-sel darah. Bagian plasma ini yang selanjutnya digunakan untuk pembacaan kadar gula darah.

#### **6. Pemeriksaan Gula Darah Puasa (GDP)**

Pemeriksaan gula darah sewaktu dilakukan di Laboratorium Balai Litbang Biomedis Papua menggunakan spektrofotometer Stardust. Pemeriksaan GDP dilakukan dengan metode end point menggunakan spektrofotometri. Sebanyak 200 µl ditempatkan pada multichannel well, selanjutnya ditambahkan reagen Glucose GOD sebanyak 500 µl dan dilarutkan menggunakan *mixing chamber*. Pembacaan dilakukan dispektrofotometri setelah masa inkubasi 10 menit.

#### **7. Ekstraksi DNA**

Sampel hapusan hidung dan kerokan kulit disentrifuge dengan kecepatan 8000 selama 15 menit sehingga didapatkan pelet. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan Kit DNA Ekstraksi PureLink Genomic (Invitrogen) yang dimodifikasi dengan perlakuan sonikasi sebelum masuk prosedur yang diinstruksikan dalam kit. Sebanyak 200 µl sampel disonikasi selama 3 menit. Setelah sonikasi selesai, ke dalam tabung sampel ditambahkan sebanyak 20 µl dan 50 µl Lysozyme (stock Lysozyme) dan divortex selama 2 detik. Sampel diinkubasi pada suhu 37° selama 45 menit dengan melakukan inverted setiap 15 menit. Penambahan 20 µl Proteinase K dan 200 µl buffer lisis dilakukan setelah inkubasi selesai. Inkubasi dilanjutkan pada suhu 55°C selama 45 menit dan diinverted setiap 15 menit selanjutnya ditambah 200 µl ethanol dan divortex selama 5 detik. Sampel dipindahkan pada mini quoloumb sebanyak 300 µl dan ditambah 300 µl washing buffer<sup>1</sup>. Sampel disentrifugasi pada suhu

ruang dengan kecepatan 10.000 g selama 1 menit. Debris yang tertampung pada collection tube kemudian sisa sampel dipindahkan pada mini quoloumb dan ditambahkan washing buffer 1 sebanyak 500 ul. Sentrifugasi kembali dilakukan pada pada kecepatan 10.000 g selama 1 menit. Setelah sentrifugasi selesai, collection tube diganti dengan yang baru dan pada mini quoloumb ditambahkan 500 ul washing buffer 2 selanjutnya sampel tersebut disentrifus dengan kecepatan 10.000 selama 3 menit. Mini quoloumb dipindahkan pada tabung sentrifus 1,5 ml dan dan ditambah 50 ul elution buffer lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 1 menit. Setelah inkubasi selesai dilakukan sampel disentrifus dengan kecepatan penuh selama 1,5 menit.

#### **8. Polymerase Chain Reaction (PCR)**

Amplifikasi DNA menggunakan PCR dilakukan menggunakan primer LP 1 dan LP 2 sepanjang 147 bp<sup>8</sup>. Campuran PCR yang dibuat terdiri dari 13 ul Dream Green Taq Mastermix, 1 ul primer forward, 1 ul primer reverse, 5 ul DNA sampel dan 5 ul Nuclease free ddH<sub>2</sub>O. Larutan sampel ditempatkan pada PCR tube. Pembacaan dilakukan 37 siklus, dimana masing-masing siklus terdiri dari 94°C selama 30 detik, 60°C selama 2 menit dan 72°C selama 3 menit. Sebagai kontrol positif dipakai chromosomal DNA *M. leprae* yang diperoleh dari apsiens positif yang telah disequencing dan terkonfirmasi sebagai *M.leprae*.

#### **9. Elektroforesis**

Untuk melihat adanya 147 bp fragment dari produk sampel yang telah diamplifikasi, maka dianalisis dengan menggunakan gel elektroforesis dalam 1% (wt/vol) agarose gel. Sebanyak 0,4 gr agarose dilarutkan di dalam 40 ml buffer TAE dan dipanaskan. Setelah larut agarose didiamkan hingga hangat. Ke dalam larutan tersebut ditambahkan 4 µl Sybrsafe staining gel dan dituangkan dalam cetakan yang telah dipasang comb. Larutan agar didiamkan hingga mengeras. Setelah mengeras, comb dicabut dan agar dipindahkan pada chamber elektroforesis yang sudah digenangi TAE buffer. Sampel produk PCR diisikan pada well sebanyak 4 µl. Sebelum diisikan sampel dicampur dengan 2 µl loading buffer. Satu well pada gel agarose digunakan untuk mengisikan marker 100 bp. Setelah sampel dan marker diisikan maka

elektroforesis dijalankan pada voltase 80 watt selama 50 menit. Setelah 50 menit gel agarose diamatai pada gel doc untuk melihat visualisasi band-band DNA.

## 10. Sekuensing

Prosedur pelaksanaan sekuensing mengacu pada Applied Biosystems BigDye Terminator v3.1 Cycle Sekuensing Kit Protocol menggunakan primer LP 1 (upstream) dan LP 2 (downstream) . Produk PCR sebelumnya dimurnikan dengan kit pemurni produk PCR dari Promega. Reagen master mix sekuensing dibuat dengan komposisi sebagai berikut:

Komponen	Volume ( $\mu$ l) 1 rx
Sekuensing buffer V3.1	3
Sekuensing mix	0.5
Primer sekuensing 16sRNA (1,6 atau 1 $\mu$ M)*	1
Nuclease Free Water	4.5

Semua komponen tersebut dicampur dan disentrifuge beberapa detik, kemudian aliquot ke dalam tabung 200  $\mu$ l masing-masing 9  $\mu$ l. Kedalam tabung yang telah diisi master mix tersebut ditambahkan amplikon yang sudah diencerkan 10X sebanyak 1  $\mu$ l. Tabung tersebut siap untuk dimasukkan ke dalam mesin *Thermal Cycler* dengan program sebagai berikut :

1. <i>Reverse Transkriptase</i> :	
96 <sup>0</sup> C	1 min
3. <i>3-Step Cycling</i> , 25 Cycle	
96 <sup>0</sup> C	10 det
50 <sup>0</sup> C	5 det
60 <sup>0</sup> C	4 min
5. 15 <sup>0</sup> C	$\infty$

Purifikasi produk PCR dilakukan dengan *Big Dye XTerminator Purification Kit*. Produk reaksi PCR sekuensing disentrifuse selama 1 menit, 1000 x g . Campuran 10  $\mu$ l *XTerminator Solution* dan 45  $\mu$ l *SAM Solution* ditambahkan sebanyak 55  $\mu$ l ke dalam masing-masing *well*. Homogenisasi dilakukan selama 30 menit dengan vortek atau *plate shaker* (1800rpm) dan

disentrifuse selama 2 menit, 1000 x g. Produk ditempatkan ke dalam mesin Sekuensing/*Genetic Analyzer* dan dibaca

#### **11. Analisis Sekuens**

Data sekuensing dianalisis untuk mengetahui apakah DNA yang teramplifikasi merupakan DNA *M.lepra*. Program bioinformatik BLAST digunakan dalam melakukan analisis ini. Data sequence dalam bentuk format FASTA di entri pada box query nucleotide program BLAST. Selanjutnya program ini akan secara otomatis mencari similaritas data nukleotida dengan data gene bank. Data similaritas ditampilkan dalam bentuk list spesies yang memiliki similaritas nukleotida dengan data sequence yang di entri.

#### **6. BIOSAFETY**

Dalam penelitian ini semua pengerjaan yang berhubungan dengan agen infeksius dilakukan dengan prosedur biosafety. Proses pengambilan sampel pada kasus dan kontak, petugas menggunakan Alat Perlindungan Diri (APD) yang berupa masker dan *glove* disposable. Pada proses pemeriksaan darah petugas menggunakan jas laboratorium dan *glove* disposable. Proses ekstraksi DNA dilakukan pada Biosafety Cabinet II plus. Seluruh limbah pada pengambilan sampel dan pemeriksaan laboratorium ditempatkan pada biohazard plastic atau biohazard box untuk spuit dan kemudian dilakukan sterilisasi dengan autoclave sebelum dihancurkan di insenerator.

#### **7. STUDY PENDAHULUAN**

Dalam penelitian ini akan dilakukan studi pendahuluan untuk mengoptimasi prosedur analisis DNA yang meliputi ekstraksi DNA dan PCR. Studi pendahuluan dilakukan pada 5 kasus. Sampel yang diambil adalah sampel kerokan lesi telinga dan swab mukosa nasal.

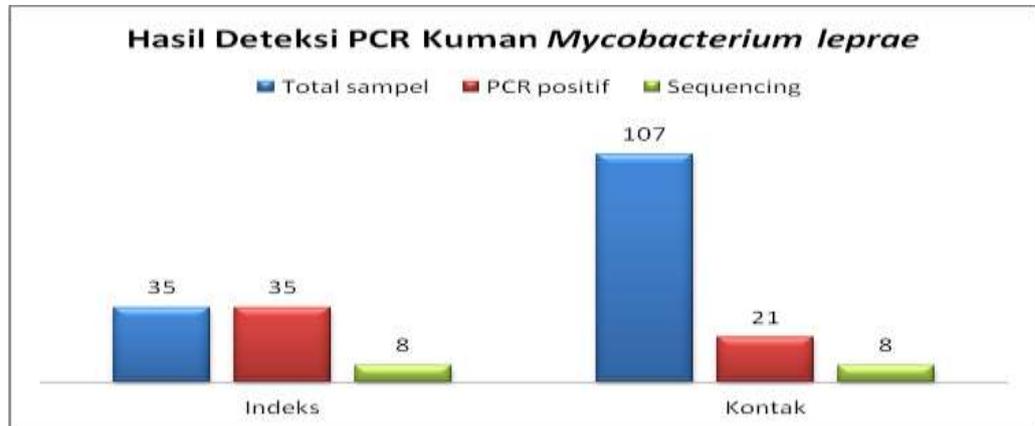
#### **8. PERTIMBANGAN ETIK PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan sampel yang diambil dari subyek manusia sehingga dalam pelaksanaannya harus memperoleh ijin etik dari komisi etik Badan Litbangkes.

#### **9. HASIL DAN PEMBAHASAN**

**a. Hasil deteksi kuman *M.leprae* dengan PCR**

Hasil deteksi kuman *M.leprae* menggunakan metode PCR dilakukan baik pada pasien kontak maupun pasien indek yang secara klinis menggunakan diagnose cardinal sign dinyatakan menderita lepra disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil deteksi kuman *M.leprae* menggunakan PCR pada kasus indek dan kasus kontak

Prosentase keberhasilan deteksi menggunakan PCR pada pasien indek yang secara klinis didiagnosa menggunakan cardinal sign adalah 100%. Keberhasilan deteksi pada pasien indek ini merupakan standar untuk melakukan deteksi pada pasien kontak. Hasil deteksi kuman *M.leprae* pada pasien kontak adalah sebanyak 19,62% terdeteksi terinfeksi kuman *M.leprae* pada apusan hidungnya.

Deteksi kuman menggunakan metode PCR pada penelitian ini diharapkan menjadi metode optimasi awal untuk mengkonstruksi metode deteksi kuman *M.leprae* pada kelompok berisiko menderita leprae. Metode in house PCR ini akan terus dikembangkan menjadi metode deteksi dini yang terstandar, efektif dan efisien dari segi waktu dan biaya serta memiliki nilai spesifisitas dan sensitifitas yang tinggi. Pada penelitian ini hasil optimasi PCR yang efektif adalah menggunakan komposisi reagen dan prosedur yang disajikan pada tabel 1.

**Tabel 1. Komposisi reagen deteksi *M.leprae***

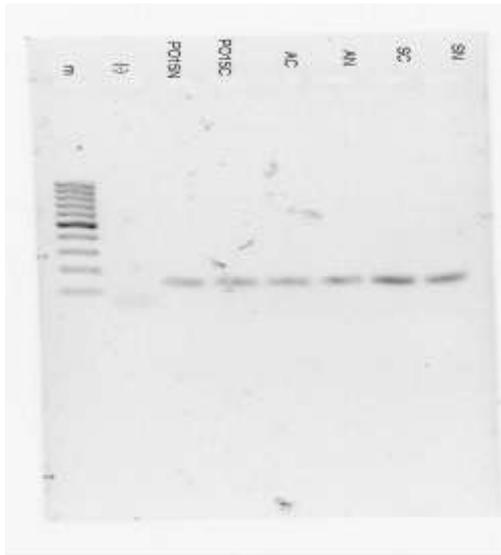
NO	Nama Reagen	Volume	Waktu yang diperlukan	Biaya
1.	Ekstraksi DNA PureLink DNA Genomic (Invitrogen), pre treatment sonikasi :		120 menit	Rp 70.000,00
	• Lisis buffer			

	• Etanol 95%			
	• Washing buffer 1			
	• Washing buffer 2			
	• Elution buffer			
2.	Amplifikasi		120 menit	Rp 30.000,00
	• Sampel DNA			
	• Dream green taq PCR mix			
	• Primer LP 1			
	• Primer LP 2			
	• Nuklease free water			
3.	Visualisasi		50 menit	Rp 10.000,00
	• Agarose gel			
	• Sybersafe			
	• Loading dye			
	• Marker			

Berdasarkan penghitungan pada tabel 1 maka waktu yang dibutuhkan untuk melakukan pemeriksaan adalah sekitar 5 jam. Prosedur PCR ini membutuhkan penggunaan mesin dan reagen yang khusus dengan kisaran biaya Rp 130.000,00 per reaksi.

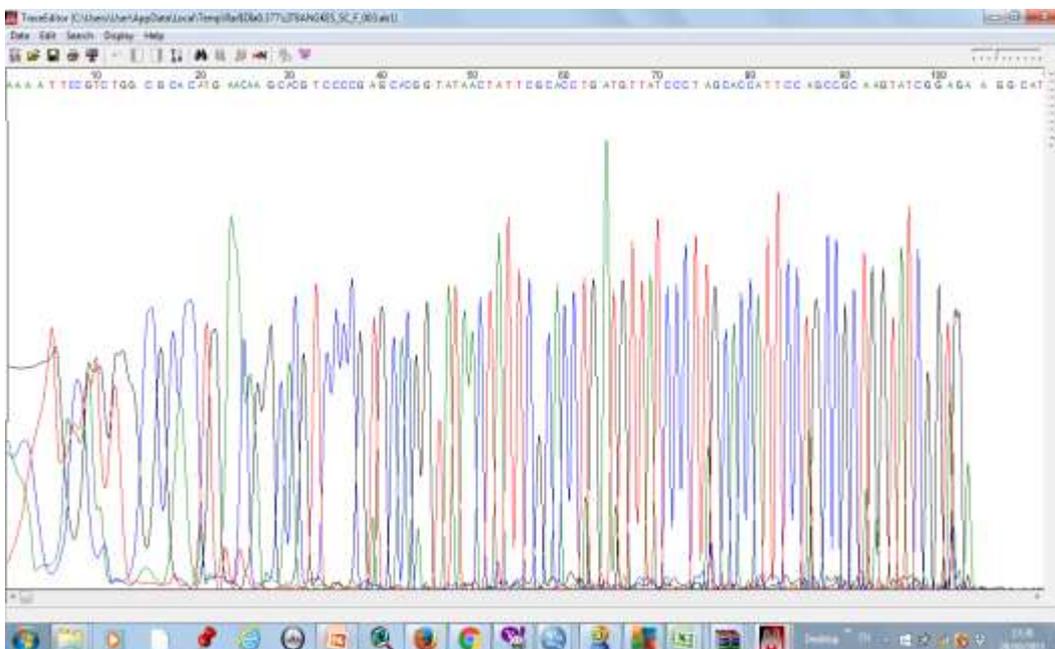
Konfirmasi menggunakan sequencing dilakukan untuk memastikan apakah hasil PCR dan visualisasi menggunakan elektroforesis berhasil mendeteksi keberadaan kuman *M.leprae*. Hasil sequencing yang berupa urutan DNA juga digunakan untuk melakukan analisis filogenetik sehingga didapatkan informasi hubungan kemiripan strain *M.leprae* pada studi ini dengan strain acuan dari *gene bank*.

Visualisasi DNA hasil PCR dengan primer LP 1 dan LP 2 disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil PCR *M.leprae* menggunakan primer LP 1 dan LP 2.

Hasil PCR dinyatakan positif jika pada visualisasi gel elektroforesis didapatkan band yang berada pada ukuran yang diharapkan yaitu 143 bp. Hasil ini selanjutnya dilakukan sequencing untuk mengkonfirmasi apakah band yang terbentuk merupakan DNA *M.leprae*. Salah satu hasil sequencing ditampilkan pada gambar 2. Hasil sequencing tersebut selanjutnya dilakukan analisis similaritas sequence menggunakan BLAST. Hasil BLAST menunjukkan bahwa DNA sampel terkonfirmasi sebagai *M.leprae* dengan similaritas > 90% jika dibandingkan dengan sequence *M.leprae*.



Gambar 2. Hasil sequencing *M.leprae*

### **b. Karakteristik kasus indeks**

Untuk mengetahui karakteristik indeks atau pasien lepra yang sudah dinyatakan positif dan memenuhi kriteria inklusi pada penelitian ini maka dilakukan wawancara dan pemeriksaan. Hasil wawancara dan pemeriksaan disajikan pada tabel 2.

**Tabel 2. Karakteristik kasus indeks**

<b>Karakter</b>	<b>Jumlah (persentase)</b>
<b>Jenis Kelamin</b>	
Laki-laki	21/39 (53,8%)
Perempuan	18/39 (46,2%)
<b>Keluhan</b>	
Bercak	35/39 (79,5%)
Infiltrat	2/39 (5,1%)
Nodule eritrema	2/39 (5,1%)
<b>Lama keluhan</b>	
≤ 1 tahun	28/39 (71,8%)
>1 tahun	11/39 (28,2%)
<b>Klasifikasi lepra</b>	
MB	35/39 (89,7%)
PB	4/39 (10,3%)
<b>Kepadatan</b>	
≥ 8 m <sup>2</sup>	28/39(71,8%)
< 8 m <sup>2</sup>	7/39 (17,9%)
Tidak ada data*	4/39 (10,3%)

\* Pasien tidak dikunjungi rumahnya

Hasil menunjukkan bahwa sebagian besar penderita lepra dalam studi ini berjenis kelamin laki-laki, dengan gejala yang muncul adalah bercak, lama keluhan kurang dari 1 tahun dan tergolong dalam MB. Penderita lepra tersebut sebagian besar tinggal dalam rumah dengan kepadatan  $\geq 8 \text{ m}^2$  yang sudah sesuai dengan kriteria rumah sehat meskipun 17,9% tinggal pada hunian yang kepadatannya tidak sesuai dengan kriteria rumah sehat.

### **c. Karakteristik kontak kasus**

Untuk melihat factor penularan lepra, dalam studi ini dilakukan karakterisasi kontak kasus yang tinggal serumah dengan pasien lepramelalui observasi langsung dan wawancara. Data karakteristik kontak kasus disajikan pada tabel di bawah ini:

**Tabel 3. Karakteristik kontak kasus**

<b>Karakter</b>	<b>Jumlah (persentase)</b>
<b>Jenis Kelamin</b>	
Laki-laki	46 (43%)
Perempuan	61 (57%)
<b>Kekerabatan dengan Indeks</b>	
Keluarga kandung	48 (45%)
Keluarga lain	59 (55%)
<b>Periode tinggal bersama indeks</b>	
>1 tahun	73 (68%)
≤ 1 tahun	34 (32%)
<b>Intensitas kedekatan</b>	
Dalam 1 kamar	14 (13%)
Berbeda kamar	93(87%)
<b>Keadaan gula darah</b>	
Normal	71 (66%)
Tinggi	36 (34%)

Berdasarkan obeservasi lapangan yang sudah dilakukan dari 107 kontak serumah yang menjadi subyek dalam penelitian ini, sebagian besar berjenis kelamin perempuan, yang berhubungan kerabat sebagai keluarga lain justru lebih banyak daripada keluarga kandung, periode tinggal dengan pasien sebagian besar diatas satu tahun dengan intensitas kedekatan paling banyak serumah tetapi berbeda kamar tidur. Menurut hasil pemeriksaan gula darah, Sebagian besar kontak serumah memiliki gula darah yang relative normal meskipun 36% gula darahnya tinggi.

#### **d. Analisis Faktor Risiko Penularan Leprae Pada Kasus Kontak Serumah**

Untuk mengetahui factor risiko penularan lepra dari kasus indeks ke kontak kasus dilakukan analisis Chi-Square dengan variabel dependen hasil PCR dan variabel independen parameter-parameter yang disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Analisis faktor risiko penularan lepra pada kontak kasus

Parameter	Kriteria	Hasil deteksi PCR		Total	P Value	OR	CI 95%
		+	-				
Gula darah	Rendah /normal	16(15%)	55(51,4%)	71 (66,4%)	0,440	1,804	0,603-5,399
	Tinggi	5(4,7%)	31(29%)	36 (33,6%)			
Suku	Papua	20 (18,7%)	74 (69,2%)	94 (87,9%)	0,456	3,243	0,398-26,457
	Non Papua	1 (0,9%)	12 (11,2%)	13 (12,1%)			
Gula darah	Rendah /normal	16(15%)	55(51,4%)	71 (66,4%)	0,440	1,804	0,603-5,399
	Tinggi	5(4,7%)	31(29%)	36 (33,6%)			
Lama tinggal dengan pasien indek	Lebih dari 1 tahun	20 (18,7%)	53 (49,5%)	73 (68,2%)	0,002	12,45	1,595-97,20
	Kurang dari 1 tahun	1 (0,9%)	33 (30,4%)	34 (31,8%)			
Kedekatan dengan pasien indek	Dalam 1 kamar	4(3,7%)	10 (9,3%)	14 (13,1%)	0,468	1,788	0,501-6,388
	berbeda kamar	17(15,9%)	76 (71%)	93 (86,9%)			
Kekerabatan	Keluarga kandung	9 (8,4%)	39 (36,4%)	48 (44,9%)	0,518	0,904	0,345-2,367
	Keluarga lain	12(11,2%)	47 (43,9%)	59 (55,1%)			

Hasil uji bivariat menggunakan chi-square didapatkan bahwa faktor yang signifikan mempengaruhi tranmisi kuman *M.leprae* adalah periode tinggal bersama dengan pasien indek. Kasus kontak yang tinggal serumah dengan indek lebih dari satu tahun memiliki risiko tertular sebesar 12 kali lebih besar daripada yang tidak tinggal serumah. Parameter yang lain dalam studi ini tidak menunjukkan hubungan yang signifikan dengan transmisi kuman.

### Pembahasan

Diagnostik yang akurat pada lepra sangat diperlukan terutama pada aspek epidemiologi., manajemen kasus dan pencegahan kecacatan. Diagnosis yang false negatif

dapat menyebabkan transmisi terus berlanjut dan risiko kecacatan pada penderita terjadi. False positif pada diagnosis menyebabkan pemberian terapi yang tidak tepat dan stress yang tidak perlu karena stigma dari masyarakat. Akhirnya kesalahan diagnostik menyebabkan ketidaktepatan statistik epidemiologi penyakit tersebut.

Dalam penelitian ini, hasil pemeriksaan pada pasien kusta yang sudah didiagnosa secara klinis menggunakan teknik PCR mendapatkan hasil yang positif dengan positif rate yang tinggi. Hasil sequencing juga menunjukkan bahwa DNA yang diisolasi dan diamplifikasi dari sampel *nassal swab* dan skin smear pasien adalah *Mycobacterium leprae*. Hal ini menunjukkan bahwa teknik PCR dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk melakukan penegakan diagnosis disamping melalui gejala klinis. Namun demikian dalam penelitian ini primer yang digunakan berukuran pendek. Menurut...LP 1 dan LP 2 baik diterapkan pada spesimen yang mudah mengalami degradasi DNA. Dalam penelitian tersebut, deteksi *M.leprae* juga berhasil diterapkan menggunakan primer LP 1 dan LP 2. Primer LP 1 dan LP 2 adalah primer dengan gen target *Leprosy Specific Repetitif Elemen* (RLEP).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel skin silt dan nasal swab pada pasien lepra sedangkan pada kontak kasus adalah sampel *nasal swab*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh...deteksi *M.leprae* berhasil dilakukan pada *nassal swab* dan *skin silt*. Sampel kuman *M.leprae* bisa diisolasi dari skin silt telinga, biopsy jaringan maupun nasal swab. Namun dari beberapa bagian tubuh yang bisa digunakan sebagai sumber sampel, nasal swab adalah prosedur pengambilan sampel yang paling mudah dilakukan. Disamping mudah dilakukan pengambilan *nassal swab* minim menimbulkan rasa sakit dan rasa takut pada pasien atau subyek penderita.

Sebagai upaya melakukan pemutusan rantai transmisi maka perlu dilakukan deteksi dini keterpaparan kuman *Mycobacterium leprae* pada pasien kontak yang berda di sekitar pasien lepra. Dalam penelitian ini dilakukan pengambilan spesimen nasal swab keluarga pasien lepra yang tinggal serumah dengan pasien. Hasil menunjukkan bahwa 19,62% kasus kontak positif terdeteksi kuman *M.leprae* menggunakan pendekatan PCR. Dalam pemeriksaan klinis kontak kasus dengan hasil PCR positif tersebut belum menunjukkan gejala klinis /*cardinal sign*. Dalam penelitian yang dilakukan di Makasar tahun 1993 ditemukan 7,8% PCR positif pada 1228 kasus, kontak serumah dan penduduk yang tidak berinteraksi dengan pasien di daerah endemis.

Menurut hasil pengamatan faktor risiko parameter yang menunjukkan hubungan yang signifikan dengan tranmisi kuman *M.leprae* adalah faktor periode tinggal bersama dengan

indeks. Kasus kontak yang tinggal lebih dari satu tahun memiliki risiko tertular 12 kali lebih tinggi daripada yang tinggal kurang dari satu tahun. Pada penelitian ini didapatkan tidak ada hubungan yang nyata tingkat transmisi kuman *M.leprae* dengan intensitas kedekatan, hubungan kekeluargaan dan faktor gula darah. Menurut teori adanya penyakit DM menyebabkan terjadinya penurunan daya tahan tubuh sehingga risiko terinfeksi patogen pada penderita diabetes. Beberapa penyakit infeksi bakteri seperti TB, *Streptococcus pneumonia* maupun asymptomatic bacteriuria dapat meningkat risikonya pada penderita DM. (11) Dalam penelitian ini tidak ditemukan hubungan yang signifikan antara gula darah dan risiko terinfeksi kuman *M.leprae*.

## **10. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **a. Kesimpulan**

Deteksi kuman *Mycobacterium leprae* pada pasien dan kontak kasus dapat dilakukan menggunakan metode PCR. Faktor risiko yang mempengaruhi penularan *leprae* dalam studi ini adalah periode tinggal serumah dengan penderita lepra. Periode tinggal serumah lebih dari 1 tahun dengan penderita lepra meningkatkan risiko tertular sampai 12 kali.

## **b. Saran**

Metode deteksi menggunakan PCR perlu dikembangkan untuk mencapai nilai spesifisitas dan sensitifitas yang tinggi. Bioteknologi seperti penerapan probe, produksi antigen dan antibody dapat dikembangkan dari metode yang telah terkontruksi dalam penelitian ini untuk membuat tool diagnostic yang lebih efektif dan aplikatif.

Hasil temuan factor risiko tinggal serumah menjadi dasar untuk membuat rekomendasi pemeriksaan kasus kontak di setiap rumah yang dihuni oleh penderita. Penjarangan kasus aktif melalui kunjungan rumah dapat diterapkan.

## **11. DAFTAR KEPUSTAKAAN**

1. Ntd WHOCDs. Report of the global forum on elimination of leprosy as a public health problem.
2. Dinas Kesehatan Provinsi Papua. DATA KUSTA PAPUA.pdf. 2013.
3. Kwenang A, Hatta M. ENDEMIK DENGAN PARAMETER RASIO SUBSET LIMFOSIT T , TITER MLPA SERUM , DAN PCR. 1999;18(3):131–7.
4. Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2006 Apr;19(2):338–81. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1471987&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

5. Kurabachew M, Wondimu A, Ryon JJ. Reverse Transcription-PCR Detection of Mycobacterium leprae in Clinical Specimens Reverse Transcription-PCR Detection of Mycobacterium leprae in Clinical Specimens. 1998;36(5).
6. Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Pedoman Nasional Program Pengendalian Kusta. Jakarta; 2012.
7. Kuruwa S, Vissa V, Mistry N. Distribution of Mycobacterium leprae strains among cases in a rural and urban population of Maharashtra, India. J Clin Microbiol [Internet]. 2012 Apr [cited 2014 Sep 12];50(4):1406–11. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3318501&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
8. Williams DL, Pittman TL, Deshotel M, Oby-Robinson S, Smith I, Husson R. Molecular basis of the defective heat stress response in Mycobacterium leprae. J Bacteriol [Internet]. 2007 Dec [cited 2014 Sep 28];189(24):8818–27. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2168617&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
9. Kruger J. Physical Activity Among Asians and Native Hawaiian or Other Pacific Islanders --- 50 States and the District of Columbia, 2001--2003 [Internet]. 2004 [cited 2014 Oct 18]. p. 756–60. Available from: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5333a2.htm>
10. Naing L. Sample size for Sensitivity and Specificity Studies Lin Naing. 2004.
11. Casqueiro J, Casqueiro J, Alves C. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. Indian J Endocrinol Metab [Internet]. 2012 Mar [cited 2015 Jul 7];16 Suppl 1:S27–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3354930/>

## 12. SUSUNAN TIM PENELITIAN

No.	Nama	Kesarjanaan	Kedudukan Dalam Tim	Uraian Tugas
1.	Hana Krismawati M.Sc	Master Sains	Ketua Pelaksana	Bertanggungjawab terhadap penyusunan proposal sampai selesainya penelitian
2.	dr Antonius Oktavian M.Kes	Master Kesehatan	Anggota penelitian	Bertanggung jawab pada proses inklusi pasien, kontak pasien dan PCR.
3.	Tri Nury Kridaningsih S.Si	Sarjana Sains	Anggota	Bertanggung jawab pada pengambilan, pengelolaan

			penelitian	spesimen, pemeriksaan
4.	Arie Ardiansyah Nugraha	Litkayasa	Anggota penelitian	Bertanggung jawab pada proses PCR dan sekuensing

### 13. JADUAL KEGIATAN PENELITIAN

URAIAN KEGIATAN	Bulan Ke-							
	11	22	33	44	55	66	77	88
I. Persiapan	X							
Penyusunan Protokol	X							
Pengurusan izin		X						
Standarisasi pengambilan sampel dan wawancara lapangan	X	X	X					
II. Pelaksanaan								
Pengambilan data di lapangan					X	X		

PCR dan sekuensing					X	X		
III. Pengolahan data							X	
IV. Penyusunan laporan							X	X
V. Seminar Hasil								X

**14. RINCIAN ANGGARAN BIAYA**



NIP : 19830125 201402 2 002  
Pangkat/Gol : Penata Muda Tk I/ III b  
Jabatan : Peneliti  
Alamat Rumah : Jalan Kesehatan no 10 Jayapura  
Email : Hkrismawati@gmail.com

Nama : dr. Antonius Oktavian M.Kes  
NIP : 197410302001121001  
Pangkat/Gol : Pembina/ IV a  
Jabatan : Peneliti Muda  
Alamat Rumah : Perumahan Lentera Kota Raja- Jayapura  
Email : ilambra@yahoo.com

Nama : Tri Nury Kridaningsih S.Si  
NIP : 198201092009122001  
Pangkat/Gol : Penata Muda Tk 1/ III b  
Jabatan : Peneliti  
Alamat Rumah : Perumahan Permata Indah Tanah Hitam  
Email : nurytri@gmail.com

Nama : Arie Ardiansyah Nugraha  
NIP : 198906062010121008  
Pangkat/Gol : Pengatur muda/ II d  
Jabatan : Staf  
Alamat Rumah : BTN Kadu Agung Utama, Blok M/04 RT 001/RW 002 Banten  
Email : rieardian@yahoo.com

## 17. PERSETUJUAN ATASAN BERWENANG

Pengusul Proposal

Kepala Balai Litbang Biomedis Papua

Hana Krismawati M.Sc  
NIP.198301252014022002

dr. Lidwina Salim, M.Si  
NIP. 196409101996032001

,

## **18. PENGESAHAN PANITIA PEMBINA**

Ketua Pelaksana

Kepala Balai Litbang Biomedis Papua

Hana Krismawati M.Sc  
NIP.198301252014022002

dr. Lidwina Salim, M.Si  
NIP. 196409101996032001

Ketua Panitia Pembina Ilmiah

Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar  
Kesehatan

Dr. drg. Magdarina Destri Agtini, MSc  
NIP. 195012061984022001

Pretty Multihartina, PhD  
196309271989012001

## Lampiran 1



# BALAI PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN BIOMEDIS PAPUA

Jl. Kesehatan no 10 Dok II Jayapura 99112. Telp 0967-534389

## NASKAH PENJELASAN

### **Deteksi Kuman *Mycobacterium leprae* dengan metode PCR pada kasus baru dan kontak serta faktor risiko penularan lepra di Kota Jayapura tahun 2015**

---

Selamat (pagi, siang, sore) bapak/ Ibu, kami hendak memberitahukan bahwa lepra merupakan masalah kesehatan serius di Indonesia termasuk di Papua dan penyakit ini dapat menimbulkan berbagai gejala, dari ringan, berat hingga menyebabkan kecacatan.

Kami dari Balai Litbang Biomedis Papua, Kementerian Kesehatan R.I mulai bulan **Maret s/d Oktober 2015** melakukan penelitian yang bertujuan melakukan deteksi dengan metode yang modern yang disebut PCR kuman lepra pada kasus dan kontak di Kota Jayapura serta hal-hal yang mempengaruhi penularan lepra.

Dalam penelitian ini akan dilakukan pemeriksaan terhadap 30 dan 4 orang kontak serumah. Kami mengharapkan keikutsertaan Bapak/Ibu/Saudara dalam penelitian ini secara sukarela dengan menjawab pertanyaan mengenai diri Bapak/Ibu/Saudara. Selain itu kami meminta kesediaan Bapak/Ibu/Saudara untuk dilakukan pengambilan hapusan hidung dan pengambilan sampel darah. Untuk sampel hapusan hidung, pengambilan dilakukan oleh tenaga yang berpengalaman. Pengambilan hapusan hidung akan sedikit menimbulkan rasa gatal. Sampel hapusan hidung akan diperiksa di laboratorium. Untuk pemeriksaan gula darah puasa, Bapak/Ibu/Saudara dimohon untuk berpuasa selama 8 jam (dari jam 09.00-09.00). Darah akan diambil sebanyak 1 sendok teh, dilakukan di pembuluh darah balik daerah lipatan siku dalam lengan kiri atau kanan dengan jarum steril (suci hama) dan dilakukan oleh tenaga medis yang berpengalaman. Bapak/Ibu/Saudara berhak untuk mengetahui hasil laboratorium dan hasil wawancara. Setiap informasi yang diberikan selama wawancara akan dirahasiakan oleh tim peneliti, dan akan digunakan hanya untuk penelitian ini.

Bila Bapak/Ibu/Saudara memutuskan untuk tidak mengikuti penelitian, pengobatan dan pelayanan kesehatan tidak akan berpengaruh apapun.

Keikutsertaan Bapak/Ibu/Saudara bermanfaat untuk program peningkatan penanganan kasus lepra.

Bila Bapak/Ibu/Saudara memerlukan penjelasan lebih lanjut mengenai penelitian ini, dapat menghubungi:

Hana Krismawati M.Sc  
Balai Litbang Biomedis Papua  
Jl.Kesehatan no 10 Jayapura  
Hp.082399399799

**Tenaga Kesehatan yang dapat dihubungi:**

**dr Antonius Oktavian M.Kes**  
**Balai Litbang Biomedis Papua**  
**Jl.Kesehatan no 10 Jayapura**  
**Hp.085647096274**

**St. Vera Yoku**  
**Puskesmas Hamadi**  
**081344756826**

Sebagai ucapan terima kasih, Bapak/Ibu/Saudara akan mendapatkan bahan kontak berupa bahan penambah nutrisi dan biaya kontak.

Terima kasih atas waktu yang Bapak/Ibu/Saudara berikan untuk membaca/ mendengarkan lembar informasi ini.

**Peneliti**

Hana Krismawati M.Sc

**Lampiran 2**

**PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN**

Setelah mendengar dan atau membaca naskah penjelasan serta memahami maksud tujuan penelitian yang berjudul: Deteksi Kuman *Mycobacterium leprae* dengan metode PCR pada kasus baru dan kontak serta faktor risiko penularan lepra di Kota Jayapura tahun 2015 maka dengan ini saya menyatakan setuju berpartisipasi dalam penelitian tersebut. Bila sewaktu-waktu berubah pikiran, saya dapat membatalkan keikutsertaan dalam penelitian ini.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dalam keadaan sehat jasmani dan rohani serta tanpa ada paksaan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jayapura.....2015

**Peserta,**

Nama jelas.....Tanda tangan.....

**Saksi,**

Nama jelas..... Tanda tangan.....

**Tim Penelitian,**

Nama jelas..... Tanda tangan.....

**Lampiran 3**



**KUESIONER**

Deteksi Kuman *Mycobacterium leprae* dengan metode PCR pada kasus baru dan kontak serta faktor risiko penularan lepra di Kota Jayapura tahun 2015

## IDENTIFIKASI RESPONDEN

No Studi	
No catatan medis (untuk index)	
Interviewer	
Study site	
Rumah sakit / PKM	
<b>I. IDENTITAS PASIEN</b>	
Nama	
Alamat	
No HP	
Umur	Tahun
Jenis kelamin	1 Lelaki 2 Perempuan
Wilayah puskesmas	
Status responden	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kasus</li> <li>2. Kontak serumah</li> </ol>
Hubungan Kontak dengan Kasus	1 Istri / Suami 2 Anak dst
<b>II. ANAMNESIS</b>	
1. Keluhan utama (1 keluhan)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bercak Putih/Merah, di:</li> <li>2. Mati rasa/Kurang rasa di:</li> <li>3. Tanda 1 dan 2 dengan batas tidak tegas, di:</li> <li>4. Tanda 1 dan 2 dengan batas tegas, di :</li> <li>5. Infiltrat, di:</li> <li>6. Benjolan, di:</li> <li>7. Penebalan saraf, di:</li> <li>8. Alis mata rontok, di:</li> <li>9. Hidung pelanan, di:</li> <li>10. Kontraktur lemas, di:</li> </ol>

	11. Kontraktur kaku, di: 12. Mutilasi/absorbs, di: 13. Ulkus, di: 14. Tangan lunglai/Kaki Sempor 15. Sulit memejamkan mata
2. Sudah berapa lama merasakan keluhan tersebut (sakit)?	_____Bulan+_____minggu
<b>III. RIWAYAT KESEHATAN</b>	
1. Kencing manis	1. Ya    2. Tidak    3. Tidak tahu
1. HIV	1. Ya    2. Tidak    3. Tidak tahu
2. Hamil	1. Ya    2. Tidak    3. Tidak tahu
3. Scar imunisasi1. BCG di pangkal lengan	1. Ya    2. Tidak
<b>IV. RIWAYAT PENYAKIT LEpra YANG LALU</b>	
1. Apakah sudah pernah mengikuti pengobatan lepra/ program?	1. Ya => Eksklusi    2. Tidak 3. Tidak tahu
2. Bila Ya kapan terakhir minum obat lepra? (sejak berhenti minum obat s/d sekarang)	1. $\leq$ 2 bulan yang lalu 2. 2 bulan s/d 1 tahun yang lalu 3. $\geq$ 1 tahun yang lalu
3. Berapa lama minum obat lepra	1. $\leq$ 1 bulan 2. 1 bulan s/d 5 bulan 3. $\geq$ 5 bulan
4. Adakah penderita Lepra di sekitar anda?	1. Ya    2. Tidak    3. Tidak tahu
- Jika ada dimana?	1. Di rumah 2. Tetangga 3. Tempat kerja 4. Tempat lain .....
<b>V. RIWAYAT KONTAK Lepra (Khusus untuk kontak serumah)</b>	
1. Sudah berapa lama mengenal ....(nama index?)	_____Tahun_____Bulan

2. Hubungan dengan index	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Keluarga dekat</li> <li>2. Keluarga lain</li> <li>3. Bukan keluarga</li> </ol>
3. Bagaimana tempat tinggal anda dengan index?	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Dalam 1 tempat tidur yang sama</li> <li>2. 1 ruang / kamar</li> <li>2. 1 rumah tapi berbeda tempat tidur</li> </ol>
1. Berapa jam dalam sehari anda bersama dengan index?	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <math>\leq 8</math> jam</li> <li>2. <math>&gt; 8</math> jam</li> </ol>
<b>VI. SOSIOEKONOMI</b>	
1. Pendidikan	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Tidak sekolah</li> <li>2. SD</li> <li>3. SMP</li> <li>4. SMU</li> <li>5. Universitas</li> </ol>
2. Pekerjaan	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. PNS</li> <li>2. Karyawan</li> <li>3. Petani</li> <li>4. Nelayan</li> <li>5. Pelajar/Mahasiswa</li> <li>6. IRT/Tidak belkerja</li> <li>7. Lain-lain:....</li> </ol>
3. Pengeluaran rata-rata per bulan	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Total ....</li> <li>2. Pangan...</li> <li>3. Non Pangan</li> </ol>
4. Penghasilan rata-rata per bulan	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kepala keluarga....</li> <li>2. Suami/istri....</li> <li>3. Anggota keluarga lain...</li> <li>4. Anggota keluarga lain...</li> <li>5. dst</li> <li>Total...</li> </ol>

5. Jumlah anggota rumah tangga	
<b>Pengamatan</b>	
1. Luas rumah	.....m <sup>2</sup>
2. Luas ventilasi	.....m <sup>2</sup>
3. Luas lantai rumah	.....m <sup>2</sup>
4. Jenis lantai	1. Tanah 2. Keramik 3. Papan 4. Semen



## KEMENTERIAN KESEHATAN RI BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon : (021) 4261088 Faksimile : (021) 4243933

Surat Elektronik : [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id) Laman (*Website*) : <http://www.litbang.depkes.go.id>

### PERSETUJUAN ETIK (*ETHICAL APPROVAL*)

Nomor: LB.02.01/5.2/KE. 155 /2015

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

#### **"Deteksi Kuman *Mycobacterium leprae* Dengan Metode PCR Pada Kasus Baru dan Kontak Serta Faktor Risiko Penularan Lepra di Kota Jayapura Tahun 2015"**

yang mengikutsertakan manusia sebagai subyek penelitian, dengan Ketua Pelaksana / Peneliti Utama :

**Hana Krismawati, M.Sc.**

dapat disetujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol dengan masa berlaku maksimum selama 1 (satu) tahun.

Selama penelitian berlangsung, laporan kemajuan (setelah 50% penelitian terlaksana) harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Jika ada perubahan protokol dan / atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 13 Maret 2015

Ketua  
Komisi Etik Penelitian Kesehatan  
Badan Litbang Kesehatan,

Prof. Dr. M. Sudomo

