

Skripsi_Begin_ACC_Rev_Sudah_ SEMHAS-1750915931320

by Turnitin Checker

Submission date: 26-Jun-2025 11:03AM (UTC+0530)

Submission ID: 2706135548

File name: Skripsi_Begin_ACC_Rev_Sudah_SEMHAS-1750915931320.pdf (4.34M)

Word count: 16009

Character count: 101923

SKRIPSI

DETEKSI MUTASI GEN *rpoB* PADA P³DERITA KUSTA TERAPI MDT
(MULTI DRUGS THERAPY) METODE *MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC*
POLYMERASE CHAIN REACTION (MAS-PCR)



JESSY JULIO TUHULERUW

⁸
KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN MAKASSAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
2025

SKRIPSI

**DETEKSI MUTASI GEN *rpoB* PADA P¹³ERITA KUSTA TERAPI MDT
(*MULTI DRUGS THERAPY*) METODE *MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC
POLYMERASE CHAIN REACTION* (MAS-PCR)**

JESSY JULIO TUHULERUW

P¹O.71.4.203.23.2.018

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN MAKASSAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
2025**

DETEKSI MUTASI GEN *rpoB* PADA PENYANDUNG KUSTA TERAPI MDT
(MULTI DRUGS THERAPY) METODE MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC
POLYMERASE CHAIN REACTION (MAS-PCR)

1
SKRIPSI

Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr.Kes)
pada Program Studi Sarjana Terapan
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Politeknik Kesehatan Makassar

JESSY JULIO TUHULERUW
PO.71.4.203.23.2.018

KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN MAKASSAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
2025

LEMBAR PERSETUJUAN

Halaman **Persetujuan** Seminar Hasil Penelitian **dengan Judul** :

**“DETEKSI MUTASI GEN *rpoB* PADA PENDERITA KUSTA TERAPI
MDT (*MULTI DRUGS THERAPY*) METODE *MULTIPLEX ALLELE-
SPECIFIC POLYMERASE CHAIN REACTION* (MAS-PCR)”**

8
Telah disetujui untuk diseminarkan/ diujikan oleh Tim Penguji

Pada Hari Senin, 16 Juni 2025

Pembimbing I

Pembimbing II

Rafika, S.Si., M.Kes
NIP. 19840322 201012 2 002

Hj. Syahida Djasang, SKM., 8 MKes
NIP. 19720627 199203 2 001

Mengetahui :

Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar

Rahman, S.Si., M.Si
NIP. 19641231 198603 1 032

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi Telah Disetujui Oleh Panitia Penguji
Pada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Program Sarjana Terapan

Pada Hari Selasa, 17 Juni 2025

Pembimbing I

Pembimbing II

Rafika, S.Si., M.Kes
NIP. 19840322 201012 2 002

¹
Hj. Syahida Djasang, SKM., M.MKes
NIP. 19720627 199203 2 001

Penguji

¹
M. Askar, S.Kep., Ns., M.Kes
NIP. 19800228 200701 1 006

Mengetahui :

Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar

Rahman, S.Si., M.Si
NIP. 19641231 198603 1 032

SURAT PERNYATAAN

¹
Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Jessy Julio Tuhuleruw

NIM : PO714203232018

Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis

Program Studi : Sarjana Terapan

³⁷
Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan alihan tulisan atau pemikiran orang lain ²⁸ dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

²⁶
Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian maupun keseluruhan skripsi ini merupakan hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Juni 2025

Yang Membuat Pernyataan,

Jessy Julio Tuhuleruw

Segala Puji dan Syukur penulis hanturkan kehadirat Bapa di Surga, karena atas berkat dan kasih setiaNya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul "Deteksi Mutasi Gen *rpoB* Pada Penderita Kusta Terapi MDT (*Multi Drugs Therapy*) Metode *Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction* (MAS-PCR)" tepat pada waktunya.

Skripsi yang dibuat ini merupakan syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Makassar. Penulis menyadari sungguh bahwa tanpa arahan dari berbagai pihak, skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik. Harapan penulis agar sekiranya skripsi yang dibuat ini dapat bermanfaat bagi instansi, mahasiswa dan pembaca pada umumnya sebagai sumber pengetahuan dan pembelajaran.

Suatu kebanggaan tersendiri bagi penulis dapat memepersembahkan karya ini untuk kedua orang tua tercinta dan tersayang **Papa Mez** dan **Mama Fin**, yang selalu mendoakan, memberikan cinta, kasih sayang, motivasi serta dengan segala upaya memenuhi kebutuhan penulis, **Kaka Ngen**, **Kaka Acel**, **Ade Janet**, yang dimana selalu ada dengan penulis serta tak pernah lelah memotivasi dan menjadi motivasi bagi penulis, serta keluarga Tuhuleruw, Ririhena, dan Beding yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil, hingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan studi.

Penulis menyadari bahwa sebagai makhluk sosial, penulis tidak dapat secara pribadi menyelesaikan segala sesuatu, untuk itu dengan segala kerendahan hati serta penuh kasih, ⁷⁹ penulis mengucapkan rasa hormat dan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Kementerian Kesehatan Republik Indoneisa dan Pemerintah Kabupaten Maluku Barat Daya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan Tugas Belajar pada Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar
2. ¹ Bapak Dr. Drs. Rusli, Apt, Sp.FRS selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar
3. ³⁸ Bapak Rahman, S.Si.,M.Si selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar
4. Ibu Hj. Syahida Djasang, SKM., M.MKes selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar sekaligus pembimbing kedua, yang telah memberikan saran, nasehat dan pandangan dalam proses bimbingan hingga penyelesaian skripsi ini
5. ¹¹⁶ Ibu Rafika, S.Si., M.Kes selaku pembimbing pertama dan juga pembimbing akademik ³⁶ yang telah meluangkan waktunya dan penuh kesabaran memberikan bimbingan serta saran sampai skripsi ini dapat terselesaikan

6. Bapak M. Askar, S.Kep., Ns., M.Kes selaku penguji yang telah banyak memberikan saran perbaikan pada skripsi ini
7. Segenap dosen pengajar dan jajaran staf yang telah memberikan bimbingan selama penulis mengikuti pendidikan di jurusan Teknologi Laboratorium Medis
8. Kepada keluarga besar yang telah memberikan doa, semangat, dan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan studi tepat waktu
9. Kepada teman-teman dan kakak-kakak seperjuangan di kelas RPL 2023 yang tidak pernah berhenti saling memberikan dukungan dan semangat selama menjalani masa perkuliahan, semoga kekeluargaan kita semua senantiasa terjaga
10. Kepada semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang dengan ikhlas memberikan bantuan moral dan materi dalam penyelesaian skripsi ini

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Untuk itu penulis meminta maaf atas segala keterbatasan waktu dan kemampuan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Segala kritik dan saran yang membangun senantiasa penulis harapkan dalam peningkatan kualitas skripsi ini. Akhir kata, semoga Tuhan Yesus senantiasa bersama kita dan memberkati kita semua, Shaloom.

Makassar, Juni 2025

Jessy Julio Tuhuleruw

ABSTRAK

JESSY JULIO TUHULERUW : Deteksi Mutasi Gen *rpoB* Pada Penderita Kusta Terapi MDT (*Multi Drugs Therapy*) Metode *Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)* (Dibimbing oleh Rafika dan Syahida Djasang)

Kusta, penyakit menular kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, masih menjadi masalah kesehatan masyarakat global, dengan terapi multidrug (MDT) berbasis rifampisin sebagai pilar utama pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi mutasi gen *rpoB*, penanda resistensi rifampisin, pada penderita kusta baru yang sedang menjalani MDT menggunakan metode *Multiplex Allele-Specific PCR (MAS-PCR)*. Penelitian observasional deskriptif ini melibatkan 7 sampel penderita kusta baru. Meskipun PCR *pra-gene M. leprae* menunjukkan hasil negatif pada ketujuh sampel (tidak ditemukannya pita *band* penanda positif *M. leprae* pada 531 bp), analisis MAS-PCR berhasil mendeteksi gen *rpoB* pada seluruh sampel (100%). Temuan signifikan adalah adanya mutasi pada gen *rpoB* di ketujuh sampel tersebut: satu sampel (14,3%) mengalami mutasi pada tiga kodon target (516, 526, dan 531), sementara enam sampel (85,7%) lainnya mengalami mutasi pada dua kodon target (516 dan 531). Hasil ini mengindikasikan tingginya prevalensi mutasi gen *rpoB* pada penderita kusta baru, yang berpotensi menyebabkan resistensi rifampisin. Disparitas antara PCR *pra-gene M. leprae* negatif dan MAS-PCR *rpoB* positif kemungkinan disebabkan oleh beban bakteri yang sangat rendah atau perbedaan sensitivitas antar metode. Studi ini menyoroti pentingnya skrining molekuler resistensi obat, terutama pada kasus baru, untuk memandu strategi pengobatan dan mengendalikan penyebaran strain *M. leprae* yang resisten.

Kata kunci : Kusta, *Mycobacterium leprae*, Resistensi Rifampisin, Gen *rpoB*, MAS-PCR

Daftar Pustaka : 2012-2024

ABSTRACT

JESSY JULIO TUHULERUW : Detection Mutation of *rpoB* Gene in Leprosy Patient MDT (Multi Drugs Therapy) Therapy Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR) Method (Guided by Rafika dan Syahida Djasang)

Leprosy, a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae*, remains a global public health issue, with rifampicin-based multidrug therapy (MDT) as the mainstay of treatment. This study aims to detect mutations in the *rpoB* gene, a marker of rifampicin resistance, in newly diagnosed leprosy patients undergoing MDT using the Multiplex Allele-Specific PCR (MAS-PCR) method. This descriptive observational study involved seven samples from newly diagnosed leprosy patients. Although pre-gene PCR for *M. leprae* yielded negative results in all seven samples (no positive *M. leprae* marker bands were detected at 531 bp), MAS-PCR analysis successfully detected the *rpoB* gene in all samples (100%). A significant finding was the presence of mutations in the *rpoB* gene in all seven samples: one sample (14.3%) had mutations in three target codons (516, 526, and 531), while the remaining six samples (85.7%) had mutations in two target codons (516 and 531). These results indicate a high prevalence of *rpoB* gene mutations in new leprosy patients, which could potentially lead to rifampicin resistance. The disparity between negative pre-gene PCR for *M. leprae* and positive *rpoB* MAS-PCR may be due to extremely low bacterial load or differences in sensitivity between methods. This study highlights the importance of molecular screening for drug resistance, particularly in new cases, to guide treatment strategies and control the spread of *M. leprae* strains resistant to rifampicin.

Keywords: Leprosy, *Mycobacterium leprae*, Rifampicin resistance, *rpoB* gene, MAS-PCR.

References : 2012-2024

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
SURAT PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian.....	6
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKAN	7
A. Tinjauan Umum Penyakit Kusta	7
B. Tinjauan Umum Multi Drugs Therapy (MDT)	36
C. Tinjauan Umum Polymerase Chain Reaction (PCR)	46
D. Kerangka Konsep.....	53
BAB III METODE PENELITIAN.....	56
A. Jenis Penelitian	56
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	56
C. Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel.....	56
D. Variabel Penelitian	58
E. Definisi Operasional	58
F. Instrumen Penelitian.....	58
G. Prosedur Penelitian	59

H. Pengumpulan Data.....	66
I. Analisis Data	66
J. Kerangka Operasional.....	67
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	68
A. Hasil	68
B. Pembahasan	71
BAB V PENUTUP	79
A. Kesimpulan	79
B. Saran	79
DAFTAR PUSTAKA.....	79
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Kecacatan Akibat Kusta	8
Gambar 2. 2	Distribusi Geografis Kasus Baru.....	10
Gambar 2. 3	Peta Kabupaten/Kota dengan Prevalensi Kusta /10.000 Penduduk Tahun 2021	11
Gambar 2. 4	<i>M. leprae</i> pada pewarnaan Ziehl-Neelsen.....	14
Gambar 2. 5	Anak laki-laki di sebelah kiri menderita kusta tipe PB; Anak laki-laki di sebelah kanan memiliki kusta tipe MB.....	30
Gambar 2. 6	Urutan nukleotida dan asam amino dari daerah penentu resistensi obat. (Kodon yang diketahui paling sering terlibat dalam resistensi disorot dalam persegi panjang)	35
Gambar 2. 7	Kemasan Blister.....	46
Gambar 2. 8	Hasil Amplikasi qPCR	49
Gambar 2. 9	Tahapan Proses Multiplex-PCR	52
Gambar 2. 10	Hasil visualisasi elektroforesis	53
Gambar 2. 11	Kerangka Konsep.....	55
Gambar 3. 1	Kerangka Operasional.....	67
Gambar 4. 1	Hasil visualisasi elektroforesis, amplifikasi <i>pra-gene M. leprae</i> dan daerah gen <i>rpoB</i>	70

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Mutasi pada gen target obat kusta yang menyebabkan resistensi terhadap <i>M. leprae</i>	36
83 Tabel 4. 1 Distribusi karakteristik subjek penelitian	368
Tabel 4. 2 Analisis mutasi gen <i>rpoB</i> dari hasil MAS-PCR	71

DAFTAR SINGKATAN

AMR	: <i>Antimicrobial Resistance</i>
BB	: <i>Mid-borderline</i>
BI	: <i>Bakteriologic Index</i>
³⁴ BL	: <i>Borderline-Lepromatous</i>
BTA	: <i>Basil Tahan Asam</i>
BT	: <i>Borderline Tuberculoid</i>
CMI	: <i>Cell-Mediated Immune</i>
DDS	: <i>Dapsone</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DRDR	: <i>Drug Resistance-Determining Region</i>
²⁶ DST	: <i>Drug Susceptibility Testing</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
G2D	: <i>Grade 2 Disability</i>
GelDOc	: <i>Gel Documentation</i>
LL	: <i>Lepromatous</i>
LLp	: <i>Lepromatous Polar</i>
LLs	: <i>Lepromatous Subpolar</i>
¹³ MAS-PCR	: <i>Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction</i>
MB	: <i>Multibasil</i>
⁸⁶ M. leprae	: <i>Mycobacterium leprae</i>
M. tuberculosis	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MDT	: <i>Multi Drug Therapy</i>

MTB	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
PB	: <i>Pausibasiler</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RIF	: Rifampisin
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
rpoB	: Gen pengkode subunit β RNA polymerase
RRDR	: <i>Rifampicin Resistance-Determining Region</i>
TBE	: Tris-Borate-EDTA
TM	: <i>Melting Temperature</i>
TT	: <i>Tuberculoid</i>
WHO	: ¹ <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Kode Etik
- Lampiran 2. *Informed Consent*
- Lampiran 3. Kuisisioner Penelitian
- Lampiran 4. Surat Izin Penelitian ke PTSP
- Lampiran 5. Surat Izin Penelitian ke Departemen Mikrobiologi UNHAS
- Lampiran 6. Surat Izin Penelitian dari Kecamatan
- Lampiran 7. Surat Izin Penelitian dari Kelurahan
- Lampiran 8. Surat Izin Penelitian PTSP
- Lampiran 9. Surat Pengantar Penelitian HUM-RC
- Lampiran 10. Hasil Penelitian
- Lampiran 11. Surat Keterangan Selesai Penelitian
- Lampiran 12. Surat Keterangan Bebas Laboratorium
- Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian
- Lampiran 14. Biodata Peneliti

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

⁴⁰ Kusta adalah penyakit menular yang masih menjadi endemik di banyak daerah di dunia. Brazil, India dan Indonesia menyumbang sekitar 80% dari kasus-kasus baru yang tercatat di seluruh dunia. Penyakit ini ⁵² merupakan penyakit infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) dan (yang lebih jarang) *Mycobacterium lepromatosis*, yang menyerang kulit dan saraf tepi individu yang terinfeksi. Keterlambatan diagnosis dan pengobatan kusta dapat menyebabkan berbagai gejala klinis, yang sering mengakibatkan kerusakan dan kecacatan permanen, yang pada akhirnya dapat menimbulkan pengucilan (stigma) (Hambridge et al., 2021).

Pada tahun 2023, 184 negara, wilayah dan kawasan berbagi informasi tentang kusta, dengan jumlah kasus baru sebanyak 182.815 kasus, dimana 72.845 (39,8%) di antaranya adalah perempuan dan 10.322 (5,6%) ³² di antaranya adalah anak-anak. Secara global, 9.729 kasus baru dengan G2D terdeteksi dan 266 (2,7%) di antaranya terjadi pada anak-anak. Sebagian besar negara dengan tingkat deteksi kasus baru yang tinggi berada di Wilayah Afrika dan Asia Tenggara di bawah naungan WHO (WHO, 2024).

Indonesia telah mencapai kemajuan dalam penanganan kusta. Pada tahun ¹⁴2021, sebanyak 26 provinsi dengan 401 kabupaten/kota telah berhasil mencapai status eliminasi kusta, yang berarti angka prevalensi kurang dari 1 kasus per 10.000 penduduk. Meski demikian, data Kemenkes tahun 2023 mencatat 14.376 kasus baru di 38 provinsi. Delapan provinsi masih tertinggal dalam upaya ¹⁴eliminasi kusta, yaitu Sulawesi Selatan, Sulawesi Utara, Sulawesi Barat, Gorontalo, Maluku Utara, Maluku, Papua, dan Papua Barat, dengan jumlah kasus baru mencapai 9.061 (Kemenkes RI, 2023).

Makassar mencatat sekitar 194 kasus baru kusta pada tahun 2023. Beberapa kecamatan di kota ini, seperti Wajo, Sangkarrang, Biringkanayya, Mariso, dan Tamalate, melaporkan adanya kasus kusta. Kecamatan Tamalate memiliki wilayah yang disebut "kampung kusta" karena secara konsisten mencatat sekitar 15 kasus baru setiap tahunnya (Dinkes Kota Makassar, 2023).

Kusta merupakan penyakit menular yang dapat sembuh jika diobati. Bakteri penyebabnya, *M. leprae*, memiliki kekhususan menginfeksi saraf tepi, yang berpotensi menyebabkan gangguan saraf dengan tingkat keparahan yang berbeda-beda (Scollard & Gillis, 2016).

Pengobatan kusta difokuskan untuk memutus rantai penularan, mencapai kesembuhan, dan mencegah atau meminimalkan kecacatan. Faktor-faktor yang menentukan keberhasilan pengobatan

meliputi deteksi dan terapi awal, kondisi pribadi pasien, pengetahuan pasien mengenai penyakit kusta, dan ketaatan pasien dalam menjalani pengobatan MDT (Oeleu et al., 2021). Kasus kambuh dan resistensi²⁴ masih menjadi masalah kesehatan masyarakat global yang terkait dengan ketidakpatuhan terhadap MDT atau resistensi antimikroba (AMR) (Li et al., 2022).

MDT (²⁰*Multi Drug Therapy*) menggunakan gabungan beberapa obat untuk melawan kusta. Rifampisin, salah satu komponennya, memiliki sifat bakterisidal kuat yang mampu membunuh bakteri kusta secara efektif. Sementara itu, obat anti kusta lainnya bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri (Kemenkes RI, 2020).

Rifampisin berperan sebagai agen bakterisidal yang sangat kuat dalam pengobatan kusta. Obat ini bekerja dengan menghambat RNA polymerase yang bergantung pada DNA, mengikatnya dan menghentikan proses sintesis RNA pada bakteri. Rifampisin efektif membunuh 99% bakteri kusta hanya dalam sekali pemberian (Deviana, 2019). Dikarenakan rifampisin merupakan obat utama yang digunakan pada MDT dan satu-satunya obat bakterisida, maka sangat penting untuk memantau kemunculan varian resisten rifampisin pada pasien kusta. Tentunya, analisis sekuens DNA berbasis PCR dari gen *rpoB* dari *M. leprae* telah menunjukkan hasil yang konsisten dengan pengujian sensitivitas terhadap rifampisin (Kshirsagar et al., 2020). Deteksi mutasi pada gen *rpoB* *M. leprae* pada pasien sangat penting

untuk melihat adanya mutasi yang dapat menyebabkan resistensi (Maladan et al., 2018). Informasi yang cepat mengenai sensitivitas obat sangat penting dalam pengobatan, terutama pada penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium* dengan penggunaan rifampisin.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Siskawati, mengenai kejadian resistensi rifampisin pada pasien kusta tipe multibasiler (MB) terhadap 57 sampel. Pada kelompok kepatuhan pengobatan baik (29 sampel), resistensi rifampisin terjadi pada 1 sampel. Sedangkan pada kelompok kepatuhan pengobatan buruk (28 sampel), ditemukan 8 sampel dengan *M. leprae* yang resisten terhadap rifampisin (Siskawati, 2013).

Kshirsagar dalam penelitian yang telah dilakukan tentang deteksi molekuler mutasi pada gen *rpoB* yang terlibat dalam resistensi rifampisin pada pasien kusta tipe mb dari Pantai Gading menjelaskan sebanyak 48 isolat digunakan untuk melakukan amplifikasi gen *rpoB* yang terlibat dalam resistensi rifampisin. Dengan demikian, 24 isolat mengalami mutasi, 11 di antaranya mengalami mutasi yang menyebabkan resistensi terhadap rifampisin (Kshirsagar et al., 2020).

Fokus dari ke dua penelitian di atas ialah pada penderita kusta tipe mb sedangkan kemungkinan terjadinya mutasi tidak hanya dapat terjadi pada pasien dengan tipe mb saja, oleh karena itu peneliti hendak melakukan penelitian terhadap ke dua tipe, yaitu tipe paubasiler dan multibasiler. Dengan penggunaan sampel darah, yang

juga menjadi pembeda dengan peneliti sebelumnya yang menggunakan sampel *slit skin*. Penelitian tentang kejadian mutasi gen *rpoB* sebagai penanda resistensi terhadap rifampisin pada penderita kusta dinilai jarang dilakukan dibandingkan dengan pada pasien tuberculosis (TB).

¹³ *Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)*

dapat mendeteksi secara sekaligus mutasi genetik terkait resistensi INH dan RIF yang paling umum dengan biaya yang relatif lebih murah serta membutuhkan keahlian teknis (Chia et al., 2012). Dalam konteks mendeteksi mutasi gen pada pasien kusta, MAS-PCR dapat berfungsi sebagai alat yang efisien untuk mengidentifikasi variasi genetik. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Hadijah, MAS-PCR digunakan sebagai metode dalam penelitiannya adapun hasil penelitian ditemukan adanya mutasi gen dalam sampel yang digunakan, sebagai penanda resisten terhadap jenis obat yang menjadi dasar penelitiannya (Hadijah, ¹²2012).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai deteksi mutasi gen *rpoB* pada penderita kusta terapi MDT metode MAS-PCR.

¹⁷ **B. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu apakah terdeteksi mutasi gen *rpoB* Pada Penderita Kusta Terapi MDT Metode MAS-PCR ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini adalah untuk mendeteksi mutasi gen *rpoB* pada pasien kusta terapi MDT metode MAS-PCR.

D. Manfaat Penelitian

1. Peneliti

Penelitian ini dilakukan untuk memperdalam pengetahuan penulis dalam mengaplikasikan ilmu yang telah dipelajari selama menempuh pendidikan Alih Jenjang pada Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, terutama mata kuliah Biologi Molekuler dan juga Mikrobiologi. Lebih lanjut, penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai literatur bagi penelitian-penelitian sejenis yang akan datang.

2. Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi keilmuan bagi mahasiswa Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis di Poltekkes Kemenkes Makassar.

3. Masyarakat/ Klinisi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan ilmiah baru, terutama bagi para klinisi, sehingga dapat membantu dalam penanganan dan pengobatan pasien kusta yang lebih baik.

TINJAUAN PUSTAKAN

A. Tinjauan Umum Penyakit Kusta

1. Definisi

Kusta adalah penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *M. leprae* (Prakoeswa, 2022). (Prakoeswa, 2022). Istilah "kusta" berasal dari bahasa Latin *lepros*, yang berarti "bersisik" atau "skuama". Penyakit ini diperkirakan berasal dari India sekitar 600 tahun sebelum Masehi (SM) dan menyebar ke berbagai wilayah. Pada tahun 1866, kusta pertama kali ditemukan di Amerika, kemungkinan dibawa oleh imigran Eropa. Pada tahun 1873, seorang ilmuwan Norwegia, Armauer G. Hansen, berhasil mengidentifikasi bakteri penyebabnya, sehingga penyakit ini juga dikenal sebagai *Hansen's disease* (Gunawan et al., 2018).

Infeksi ini terutama menyerang jaringan kulit mukosa dan saraf tepi, yang bermanifestasi sebagai hilangnya sensasi pada kulit dan perkembangan kelainan bentuk serta kecacatan selama perkembangan penyakit (Prakoeswa et al., 2022). Seiring perkembangannya, infeksi ini dapat melibatkan berbagai organ dan jaringan, termasuk kulit, mukosa oral, saluran pernapasan bagian atas, sistem retikuloendotelial, mata, otot, tulang, serta testis, namun tidak pernah mempengaruhi sistem saraf pusat. Penyakit ini memiliki distribusi global, dengan prevalensi yang

lebih tinggi di wilayah tropis dan subtropis, serta dapat menyerang individu dari berbagai kelompok usia, meskipun kejadian tertinggi ditemukan pada rentang usia 20 hingga 30 tahun. Manifestasi klinis kusta sangat bervariasi, bergantung pada respons imun inang terhadap infeksi *M. leprae* (Idris & Mellaratna, 2023).



Gambar 2. 1 Kecacatan Akibat Kusta
(Idris & Mellaratna, 2023)

Secara umum, individu yang terinfeksi *M. leprae* memiliki kemungkinan sembuh sendiri sebesar 95%, sedangkan 5% lainnya memasuki fase *indeterminate*. Dari kelompok *indeterminate* tersebut, sekitar 30% berkembang menjadi kasus *determinate* dengan manifestasi klinis, sementara 70% sembuh sendiri, tidak berkembang menjadi penyakit (Yusuf et al., 2018).

Kusta dapat menyerang individu dari berbagai rentang usia, mulai dari bayi berusia sekitar 3 minggu hingga usia lanjut di atas 70 tahun. Penyakit ini lebih sering terjadi pada kelompok usia muda atau usia produktif. Secara epidemiologis, insidensi kusta

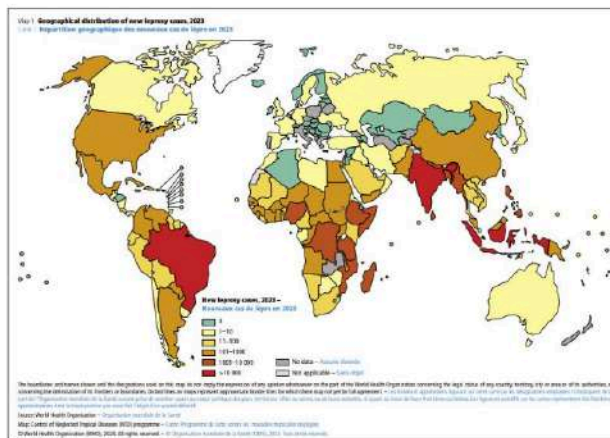
¹¹¹ lebih tinggi pada laki-laki dibanding perempuan di sebagian besar negara, kecuali di beberapa wilayah di Afrika yang menunjukkan kecenderungan sebaliknya. Di Indonesia, distribusi kasus kusta antara pria dan wanita relatif seimbang (Amaliah et al., 2022).

2. Epidemiologi

Pada bulan Mei 1991, Majelis Kesehatan Dunia (WHO) ke-44, menetapkan sebuah peraturan yang mendesak Negara-negara anggota untuk mempercepat upaya-upaya menuju ²³ eliminasi kusta sebagai masalah kesehatan masyarakat pada tahun 2000. Sebagian besar negara ²⁴ telah mencapai target ini pada tahun 2010. *The Global leprosy strategy 2021-2030*, sebuah konstituen dari *Neglected Tropical Diseases* (NTD) 2021-2030, menyerukan percepatan tindakan untuk mencapai tujuan nol kusta (nol penyakit, nol kecacatan, dan nol stigma dan diskriminasi). Tujuan ini membutuhkan paradigma baru bagi negara-negara untuk bergerak melampaui target "eliminasi kusta sebagai masalah kesehatan masyarakat" menjadi "eliminasi penyakit kusta" ⁴² (World Health Organization, 2024).

Menurut laporan dari 127 negara di enam wilayah WHO, terdapat 129.192 ²⁸ kasus kusta yang tercatat hingga akhir tahun 2020, dengan 127.396 kasus baru. Penanganan tidak optimal dapat menyebabkan perkembangan penyakit yang lebih parah, berisiko menimbulkan kerusakan permanen pada kulit, saraf,

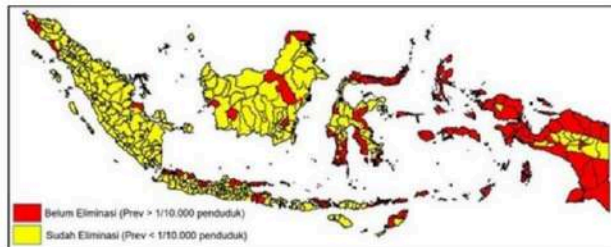
tungkai, dan mata. Dampak tersebut tidak hanya membatasi kemampuan pasien dalam beraktivitas, tetapi juga dapat menyebabkan hambatan dalam kehidupan sosial mereka, juga mencakup masalah sosial, ekonomi, budaya, dan keamanan nasional. Indonesia menempati posisi ketiga dalam jumlah penderita kusta terbesar di dunia, setelah India dan Brasil, dengan angka insiden kasus baru yang cenderung meningkat setiap tahunnya (Prakoeswa, 2022).



Gambar 2. 2 Distribusi Geografis Kasus Baru
(World Health Organization, 2024)

Dalam setahun, 56 negara melaporkan 0 kasus baru, 47 negara melaporkan 1-10 kasus baru, 34 negara melaporkan 11-100 kasus baru, 31 negara melaporkan 101-1000 kasus baru, dan 12 negara melaporkan 1001-10.000 kasus baru. Brasil, India dan

Indonesia masing-masing melaporkan lebih dari 10.000 kasus baru, yang secara keseluruhan menyumbang 79,3% dari kasus baru yang terdeteksi secara global.³⁰ Ketiga negara ini juga menunjukkan peningkatan deteksi kasus baru pada tahun 2023 dibandingkan dengan tahun sebelumnya: Brasil sebesar 16%, Indonesia sebesar 15,6% dan India sebesar 3,9% (World Health Organization, 2024).



⁴⁸
Gambar 2. 3 Peta Kabupaten/Kota dengan Prevalensi Kusta /10.000 Penduduk Tahun 2021 (Kemenkes, 2022)

Peta distribusi prevalensi kusta di Indonesia memperlihatkan bahwa sejumlah wilayah, terutama di bagian timur Indonesia, masih memiliki prevalensi kusta > 1 per 10.000 penduduk.⁵⁷ Meskipun secara nasional Indonesia telah mencapai target eliminasi kusta dengan prevalensi < 1 per 10.000 penduduk, pada tingkat provinsi dan kabupaten/kota masih terdapat daerah dengan prevalensi > 1 per 10.000 penduduk,³⁹ yang menunjukkan bahwa eliminasi kusta belum merata di seluruh wilayah (Kemenkes, 2022).

3. Etiologi

Patogen penyebab kusta adalah *M. leprae*, yang pertama kali diidentifikasi oleh G. A. Hansen pada tahun 1873 di Norwegia. Hingga saat ini, bakteri tersebut tidak dapat dikultur pada media buatan (*artificial media*) secara *in vitro*. Namun, pada tahun 1960, Shepard berhasil menginokulasikan *M. leprae* pada jaringan kaki mencit, di mana bakteri tersebut mampu tumbuh dan berkembang di area tersebut (Kemenkes RI, 2020).

Klasifikasi *M. leprae* menurut (Mustopa et al., 2014) yaitu :

Phylum : Actinomycetota
 Class : Actinomycetia
 Ordo : Mycobacteriales
 Family : Mycobacteriaceae
 Genus : *Mycobacterium*
 Spesies : *M. leprae*

Secara morfologi, Bakteri ini memiliki ukuran panjang sekitar 1-8 μm dan lebar 0,2-0,5 μm (Yusuf et al., 2018). Bakteri ini cenderung berkelompok namun dapat ditemukan terpisah. *M. leprae* hidup di dalam makrofag dan sel Schwann, terutama pada jaringan bersuhu rendah seperti kulit, mukosa hidung, dan saraf tepi. Waktu pembelahannya sangat lambat, sekitar 12-21 hari, masa inkubasi rata-rata 2-5 tahun (Darmawan & Rusmawardiana, 2020). Tumbuh optimal pada suhu rendah (27°C - 30°C),

sehingga lebih sering menyerang jaringan dengan suhu lebih dingin seperti kulit, saraf tepi, dan mukosa saluran napas. Faktor virulensi bakteri ini dipengaruhi oleh dua komponen struktural penting, yaitu kapsul dan dinding sel (Darmaputra & Ganeswari, 2018).

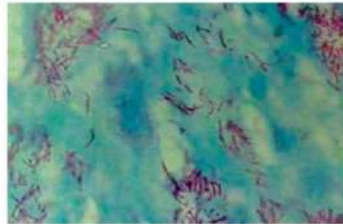
Di luar tubuh manusia, terutama di lingkungan tropis, bakteri tersebut dapat bertahan hidup selama 9 hari. Merupakan bakteri patogen intraseluler yang bersifat pleomorfik, tidak membentuk spora, tidak bergerak, dan tahan asam. Pemeriksaan hapusan kulit (skin smear) sangat membantu dalam mempercepat diagnosis, terutama karena sekitar 7-10% pasien dengan lesi kusta kering (PB: Pausi Basiler/kuman sedikit) sebenarnya merupakan kasus kusta basah dini (MB: Multi Basiler/kuman banyak) (Mustopa et al., 2014).

Pada pemeriksaan apusan kulit dengan mikroskop setelah pewarnaan BTA, morfologi bakteri *M. leprae* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

- a. Bentuk utuh (solid): Memiliki dinding sel yang tidak terputus dan menyerap zat warna secara merata.
- b. Bentuk pecah-pecah (fragmented): Dinding sel terputus sebagian atau seluruhnya, dengan penyerapan zat warna yang tidak merata.
- c. Bentuk granuler (granulated): Tampak berupa titik-titik kecil.

- d. Bentuk globus: Terdiri dari kelompok bakteri solid, fragmented, atau granulated. Kelompok kecil terdiri dari 40-60 bakteri, sedangkan kelompok besar berisi 200-300 bakteri.
- e. Bentuk clumps: Kumpulan bakteri granuler yang membentuk pulau-pulau tersendiri dengan jumlah lebih dari 500 bakteri (Mustopa et al., 2014).

M. leprae merupakan bakteri basil Gram positif yang bersifat aerob dan hanya dapat hidup di dalam sel inang (*obligat intraseluler*) (Darmaputra & Ganeswari, 2018). Dalam pewarnaan Gram, *M. leprae* termasuk bakteri Gram positif. Bakteri ini sulit diwarnai menggunakan metode tradisional karbol fuchsin pada pewarnaan Ziehl-Neelsen. Karena *M. leprae* memiliki ketahanan asam yang lebih rendah dibandingkan *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), metode pewarnaan Fite-Faraco dengan konsentrasi asam lebih rendah lebih disarankan. Meski demikian, dari segi ukuran dan bentuk, *M. leprae* sangat mirip dengan MTB (Mustopa et al., 2014).



Gambar 2. 4 *M. leprae* pada pewarnaan Ziehl-Neelsen (Darmawan & Rusmawardiana, 2020)

⁵ Bakteri ini ditularkan pada manusia melalui kontak langsung dengan penderita. Mekanisme penularan terjadi ketika individu sehat memiliki lesi, baik berukuran mikroskopis maupun makroskopis, yang bersentuhan dengan sumber infeksi dari penderita. Risiko penularan meningkat pada ⁵ kontak yang berlangsung lama dan berulang. Transmisi juga dapat terjadi melalui inhalasi droplet penderita yang mengandung bakteri.

Bakteri ini membutuhkan waktu sekitar ⁶¹ 2-3 minggu untuk berkembang. Di luar tubuh manusia, bakteri dapat bertahan hingga ⁵ 9 hari, sedangkan di dalam tubuh manusia, bakteri membelah diri dalam waktu 14-21 hari. Masa inkubasi *M. leprae* berlangsung rata-rata 2-5 tahun, namun pada beberapa kasus dapat lebih dari 5 tahun. Setelah masa inkubasi, gejala awal mulai muncul seperti bercak putih atau merah pada kulit, sensasi kesemutan, hingga gangguan fungsi saraf yang menyebabkan ¹⁰² anggota tubuh tidak berfungsi secara normal (Yusuf et al., 2018).

³¹ Penyakit kusta dapat menular dari penderita kusta tipe *Multibacillary* (MB) ke orang lain melalui penularan langsung. Meskipun mekanisme penularan yang pasti belum sepenuhnya diketahui, sebagian besar ahli meyakini bahwa penularan terjadi melalui saluran pernapasan dan kontak kulit secara langsung (Yusuf et al., 2018).

Terdapat 3 sumber penularan, yaitu :

a. ⁴Manusia

Sumber penularan penyakit kusta diduga berasal dari penderita kusta tipe *lepromatosa* ke individu lain. Penelitian menunjukkan bahwa individu yang tinggal ⁴serumah dengan penderita kusta tipe *lepromatosa* yang belum menjalani pengobatan memiliki risiko tertular ⁴5-10 kali lebih besar dibandingkan populasi umum. Penularan juga dapat terjadi dari penderita kusta tipe *tuberkuloid*, dengan perbandingan risiko penularan pada kontak penderita tipe *lepromatosa* : *tuberkuloid* : non-kontak sebesar 8 : 2 : 1.

Beberapa studi membuktikan bahwa individu dengan infeksi *subklinis* juga berpotensi ⁴menjadi sumber penularan. Paparan *M. leprae* dapat menyebabkan infeksi subklinis yang bersifat asimtomatik, yang kemudian dapat sembuh secara spontan atau berkembang menjadi penyakit kusta dengan spektrum klinis yang bervariasi, tergantung pada respons imun inang.

b. Hewan

⁴Saat ini, kusta tidak lagi dianggap sebagai penyakit yang terbatas pada manusia. Infeksi alamiah *M. leprae* telah ditemukan pada beberapa hewan seperti armadillo, mencit, dan kerbau, sehingga kusta dikategorikan sebagai *zoonosis*.

Anggapan bahwa hanya manusia yang rentan terhadap infeksi *M. leprae* mulai dipertanyakan, mengingat keberadaan hewan sebagai pejamu sekaligus reservoir alami. Hal ini menjadi tantangan dalam upaya eliminasi dan eradikasi penyakit kusta, karena penularan dari hewan ke manusia dapat memperpanjang rantai transmisi.

c. Lingkungan

Selain manusia dan hewan, lingkungan juga diduga sebagai sumber penularan penyakit kusta. Dugaan ini diperkuat oleh fenomena penurunan prevalensi kusta yang tidak disertai penurunan insidens, serta banyaknya kasus baru tanpa riwayat kontak dengan penderita kusta. *M. leprae* mampu bertahan di luar tubuh manusia, terutama melalui sekret nasal yang terdispersi saat batuk atau bersin.

Bakteri ini dapat bertahan di lingkungan dengan suhu panas maupun lembap selama lebih dari 46 hari, bergantung pada faktor lingkungan seperti paparan sinar matahari, suhu (20,6°C-35,7°C), dan kelembapan (43,7%-77,6%). Namun, peran lingkungan sebagai sumber penularan masih menjadi perdebatan, karena jumlah basil yang dikeluarkan penderita akan berkurang seiring waktu di luar tubuh. Selain itu, *M. leprae* merupakan bakteri obligat intraseluler yang hanya dapat bertahan dan berkembang

biak di dalam sel inang, sehingga daya infeksi di lingkungan luar cenderung rendah (Darmawan & Rusmawardiana, 2020).

Mekanisme penularan *M. leprae* belum sepenuhnya diketahui, meskipun peningkatan⁷¹ risiko penularan dari manusia ke manusia karena kontak dekat dengan pasien kusta yang tidak diobati telah dilaporkan. Jalur penularan yang paling mungkin adalah penyebaran melalui aerosol yang menular. Beberapa laporan menyebutkan adanya deteksi *M. leprae* pada jaringan plasenta, namun penularan kusta secara kongenital belum ditemukan. Sebagian besar kasus kusta yang dilaporkan pada bayi yang masih sangat muda dapat dijelaskan dengan penularan eksogen melalui infeksi udara pada bayi yang baru lahir dari ibu atau pasien kusta lain yang tidak diobati. Masa inkubasi diketahui lama, begitu juga dengan waktu timbulnya penyakit (Sugawara-Mikami et al., 2022).

a. Inhalasi

*M. leprae*⁴⁷ ditularkan melalui droplet saat penderita berbicara, batuk, atau bersin, dengan jumlah bakteri yang dilepaskan mencapai 110.000 sel per bersin. Penularan terjadi melalui inhalasi droplet, kemudian bakteri masuk ke aliran darah (transmisi hematogen), tanpa menyebabkan lesi paru akibat toleransi bakteri terhadap suhu tinggi.

b. Kontak kulit

⁵ Bakteri ini ditularkan pada manusia melalui kontak langsung dengan penderita. Mekanisme penularan terjadi ketika individu sehat memiliki lesi, baik berukuran mikroskopis maupun makroskopis, yang bersentuhan dengan sumber infeksi dari penderita. Risiko penularan meningkat pada ⁵ kontak yang berlangsung lama dan berulang. Transmisi juga dapat terjadi melalui inhalasi droplet penderita yang mengandung bakteri. Meskipun transmisi melalui kulit utuh tanpa luka memungkinkan, namun jarang terjadi. Trauma pada kulit, seperti penggunaan jarum suntik, peralatan tato yang terkontaminasi, atau tertusuk duri armadillo yang terinfeksi, berpotensi menjadi jalur penularan. (Yusuf et al., 2018).

c. Transplasenta

Meskipun masih menjadi perdebatan, bukti epidemiologi menunjukkan bahwa kusta berpotensi ditularkan dari ibu ke janin melalui plasenta. Laporan kasus penderita kusta termuda berusia tiga pekan di India Barat ⁴ melaporkan bayi berusia 2-3 bulan menderita kusta tanpa riwayat kontak keluarga. Laporan tersebut memperkuat kemungkinan bahwa infeksi dapat terjadi secara intrauterine.

d. ⁴ Transfusi darah dan transplantasi organ

Darah penderita kusta mengandung sejumlah besar *M. leprae*, sehingga transfusi darah dan transplantasi organ diduga berpotensi menjadi jalur penularan. ⁴ Penderita kusta tipe lepromatosa dapat memiliki lebih dari 100.000 bakteri/ml darah. Meskipun ⁴ belum ada laporan transmisi melalui transfusi darah, terdapat beberapa laporan kasus kusta pada resepien transplantasi jantung, hati, dan ginjal, yang memperkuat dugaan penularan melalui organ donor.

e. ⁴ Saluran pencernaan

Air Susu Ibu (ASI) diketahui sebagai salah satu sumber pelepasan *M. leprae*. Bayi yang menyusu dari ibu penderita kusta lepromatosa diperkirakan menelan sekitar 2 miliar bakteri dalam sekali minum. Meskipun *M. leprae* terdeteksi dalam ASI, risiko penularan melalui saluran cerna masih belum dapat dipastikan (Darmawan & Rusmawardiana, 2020).

⁹ 4. Patogenesis

M. leprae memiliki tingkat patogenisitas dan kemampuan invasi yang rendah, sehingga jumlah bakteri yang tinggi dalam tubuh penderita tidak selalu berbanding lurus dengan tingkat keparahan gejala, bahkan dalam beberapa kasus gejala yang muncul lebih ringan. Penularan bakteri ini terjadi melalui kontak langsung dengan kulit atau mukosa hidung yang terpapar droplet

dari penderita. Bakteri dalam droplet mampu bertahan hingga 2²⁰ hari di lingkungan kering, dan bertahan lebih lama, hingga 10 hari, pada lingkungan lembab dengan suhu rendah (Kemenkes RI, 2020).

⁴¹ *M. leprae* merupakan bakteri obligat intraseluler yang terutama menginfeksi sel makrofag di sekitar pembuluh darah superfisial pada dermis atau sel Schwann pada jaringan saraf perifer (Yusuf et al., 2018). Keberlangsungan hidup bakteri di dalam sel tergantung pada respons kekebalan individu yang terinfeksi. Peningkatan jumlah bakteri dalam tubuh akan merangsang sistem imun untuk bereaksi melalui aktivasi limfosit⁹ dan histiosit (makrofag) yang menyerang jaringan yang terinfeksi. Pada tahap ini, gejala klinis berupa gangguan fungsi saraf dengan penurunan sensasi mulai terlihat. Jika infeksi tidak dideteksi dan diobati pada fase awal, perjalanan penyakit selanjutnya akan sangat bergantung pada kekuatan respons imun penderita (Darmaputra & Ganeswari, 2018).

² Setelah infeksi terjadi, gejala klinis yang menyerang saraf perifer atau kulit dapat muncul dalam waktu 3 bulan hingga 10 tahun. Manifestasi klinis yang timbul bervariasi tergantung pada sistem imunitas selular (SIS) penderita. (Kemenkes RI, 2020). SIS berperan penting dalam melindungi individu terhadap infeksi *M. leprae*. Apabila SIS spesifik efektif dalam mengendalikan infeksi,

⁹ lesi pada kulit dapat menghilang secara spontan atau berkembang menjadi kusta tipe pausibasiler (PB). Sebaliknya, apabila SIS rendah, bakteri akan menyebar secara tidak terkendali dan menyebabkan kusta tipe multibasiler (MB). Dalam perjalanan penyakit yang kronis, peningkatan respons imun yang tiba-tiba dapat terjadi akibat pengobatan atau perubahan status imunitas, yang menghasilkan peradangan pada kulit, saraf, atau jaringan lainnya. Kondisi ini dikenal sebagai reaksi kusta, yang terbagi menjadi tipe 1 dan tipe 2 (Darmaputra & Ganeswari, 2018).

¹² Pada kusta tipe lepromatosa (LL), terjadi gangguan pada sistem imun seluler yang menyebabkan makrofag tidak mampu menghancurkan bakteri. Akibatnya, *M. leprae* dapat bermultiplikasi secara bebas di dalam tubuh dan menyebabkan kerusakan jaringan secara progresif.

Pada kusta tipe tuberkuloid (TT), sistem imun seluler menunjukkan respons yang tinggi, sehingga makrofag mampu memfagosit bakteri dengan efektif. Namun, setelah ²⁰ fagositosis, makrofag akan bertransformasi menjadi sel epiteloid yang kurang aktif secara fagositik dan terkadang bersatu membentuk sel Dantia Langhans. Jika infeksi tidak segera diatasi, reaksi imun yang berlebihan ini dapat menyebabkan kerusakan saraf dan jaringan sekitarnya (Yusuf et al., 2018).

5. Klasifikasi Penyakit Kusta

Pada tahun 1953, sebuah sistem klasifikasi diusulkan pada Kongres Madrid, yang mengkategorikan kusta ke dalam empat kategori penyakit utama: kusta lepromatosa, kusta tuberkuloid, kusta tidak pasti, dan kusta batas atau kusta dimorfik. Sistem klasifikasi ini sebenarnya diusulkan pada Kongres Kusta Internasional tahun 1953 yang diadakan di Madrid, oleh karena itu nama ini sudah jarang digunakan. Namun, pada tahun 1962 dan 1966, Ridley dan Jopling, memperkenalkan kategorisasi baru yang tidak hanya mempertimbangkan karakteristik klinis tetapi juga histologi, jumlah bakteri, dan tingkat ³³ respon imun yang diperantarai oleh sel (cell-mediated immune, CMI) terhadap *M. leprae* (Kimta et al., 2024).

Terdapat beberapa klasifikasi kusta. Ridley-Jopling ⁴⁹ mengklasifikasikan kusta ke dalam 5 kategori: *Tuberculoid* (TT), *Borderline Tuberculoid* (BT), *Mid-borderline* (BB), *Borderline-Lepromatous* (BL), dan *Lepromatous* (LL). (Prakoeswa et al., 2022).

a. Tipe *Tuberculoid* (TT)

Kusta tuberkuloid (TT) ditandai dengan satu atau beberapa lesi berukuran kecil dengan batas yang jelas dan meninggi, muncul sebagai papula dan plak. Batas yang meninggi ini dapat mengindikasikan perluasan lesi perifer atau

penyembuhan sentral. Lesi TT yang normal biasanya menunjukkan berkurangnya keringat, rambut tubuh yang jarang, dan anestesi. Awalnya, pasien mengalami anestesi termal, diikuti dengan rasa taktil dan hilangnya sensasi nyeri. Pada beberapa kasus TT, pasien mungkin mengalami area mati rasa tanpa perubahan warna kulit atau pembesaran saraf tepi, yang dapat terjadi dengan atau tanpa lesi kulit. Khususnya, lesi pada wajah dapat mempertahankan sensitivitas normal karena persarafan sensorik yang padat di area ini, yang mengkompensasi saraf yang rusak. Pada tahap awal TT, pasien dapat melihat adanya makula. Pada individu berkulit terang, makula ini dapat terlihat eritematosa atau tembaga, meskipun dapat terlihat hipopigmentasi yang seragam. Karena kurangnya keringat (anhidrosis), makula ini memiliki permukaan yang kering dan tekstur yang kasar. Seiring waktu, papula dapat berkembang di tepi makula, yang diakibatkan oleh respons CMI yang kuat yang terkait dengan TT.

b. Tipe *Borderline Tuberculoid* (BT)

Pada kusta tuberkuloid batas (BT), lesi kulit memiliki beberapa kemiripan dengan lesi pada kusta tuberkuloid, tetapi cenderung lebih banyak, berkisar antara 10 hingga 20 lesi. Lesi ini biasanya lebih besar daripada lesi pada kusta TT. Ciri

khas kusta BT adalah adanya lesi satelit, yang dapat bervariasi dalam warna, mulai dari hipokromik hingga kemerahan. Lesi yang lebih kecil ini sering muncul berdekatan dengan lesi yang lebih besar atau meluas seperti proyeksi seperti jari ke dalam kulit normal dari batas plak atau makula. Pada pasien yang sama, lesi kusta BT dapat menunjukkan variasi ukuran, bentuk, dan warna. Lesi kulit pada kusta BT dapat membesar atau memborok, terutama karena reaksi tipe 1, yang umum terjadi pada bentuk penyakit ini. Saraf sangat terlibat dalam reaksi kusta BT, sehingga pengobatan segera sangat penting untuk mencegah deformitas dan kecacatan permanen.

c. Tipe *Mid-borderline* (BB)

Kusta BB ditandai dengan adanya plak yang menyebar dalam berbagai ukuran. Plak ini memiliki penampilan yang unik, dengan area tengah kulit yang tidak terkena, biasanya hipokromik, tepi bagian dalam yang jelas, dan tepi luar yang tidak terlalu jelas yang menyerang bagian kulit normal. Kombinasi lesi ini menciptakan pola yang sering digambarkan menyerupai keju Swiss. Lesi yang khas ini biasanya ditemukan bersamaan dengan kelainan kulit lainnya seperti makula, plak, papula, dan nodul. Kusta BB juga dikaitkan dengan lesi tembaga kemerahan yang menyebar dan

terdistribusi secara simetris pada tubuh. Kusta BB merupakan bagian yang paling langka dan paling tidak stabil dari jenis kusta. Kusta ini cenderung berkembang dengan cepat ke arah bentuk kutub TT atau LL, dan pasien dengan kusta BB dapat mengalami berbagai gangguan saraf.

d. Tipe *Borderline-Lepromatous* (BL)

Indikator awal kusta BL adalah lesi makula yang mengalami hipopigmentasi. Lesi ini awalnya muncul secara simetris pada individu yang terkena. Seiring waktu, makula ini membesar, menjadi eritematosa (merah), dan menyusup lebih dalam ke jaringan kulit. Batasnya menjadi tidak teratur dan mengganggu kulit sehat di sekitarnya. Seiring dengan perkembangan penyakit, lesi ini secara bertahap menembus area kulit yang lebih luas. Beberapa pasien dengan kusta BL dapat mengembangkan lesi yang menyerupai plak, papula, dan nodul, yang dapat meniru presentasi klinis kusta lepromatosa. Pada sebagian besar kasus BL, terdapat bukti keterlibatan saraf tepi, meskipun sensitivitas saraf lebih jarang terjadi dibandingkan dengan kusta BT. Namun, penting untuk dicatat bahwa kerusakan saraf yang signifikan dapat terjadi selama reaksi yang terkait dengan kusta BL.

e. Tipe *Lepromatous* (LL)

Pasien yang tidak mampu melakukan respons CMI yang efisien terhadap *M. leprae*, yang menyebabkan penyebaran bakteri secara hematogen, dapat muncul dengan banyak lesi hipokromik yang terdistribusi secara simetris. Tanpa pengobatan, pasien-pasien ini akan berkembang menjadi bentuk kusta yang tidak resisten, yang dikenal sebagai kusta lepromatosa polar (LL). Perlu dicatat bahwa LL juga dapat terjadi akibat kurangnya pengobatan BB dan BL. Kusta lepromatosa diklasifikasikan menjadi dua sub tipe klinis: subpolar (LLs) dan polar (LLp). Pasien dengan LLs menunjukkan tingkat alergi yang lebih rendah daripada pasien dengan LLp, dan mereka cenderung mencapai tingkat negatif bakteriologis lebih cepat setelah pengobatan. Beberapa pasien yang awalnya menunjukkan ekspresi klinis LL mungkin mengalami respons tipe 1. Pada LL, makula, nodul, dan plak memiliki batas yang jelas. Sebaliknya, pasien yang sangat alergi lebih mungkin mengembangkan LLp, ditandai dengan infiltrasi kulit yang menyebar dengan batas yang kabur dan tidak jelas.

Pada kasus tertentu, lesi hipokromik awalnya muncul pada kulit, dan seiring waktu, lesi ini secara bertahap dapat menyerang area tubuh secara luas. Tanpa pengobatan, area

yang terkena dapat mengalami penyebaran eritema, peningkatan penetrasi kulit, dan berkurangnya tampilan kerutan. Rambut rontok adalah konsekuensi yang umum terjadi pada area yang telah disusupi. Kerontokan alis biasanya dimulai dari ujung luar, menghasilkan kondisi khas yang dikenal sebagai madarosis. Beberapa pasien mungkin juga mengalami kerontokan bulu mata. Ketika infiltrasi kulit semakin dalam, lipatan kulit menjadi lebih menonjol, yang mengarah ke ciri klinis khas facies leonina. Selain itu, tangan dan kaki dapat menunjukkan tanda-tanda infiltrasi, menyebabkan kulit tampak sensitif dan berkilau. Pada kulit yang terinfiltrasi, papula dan nodul dapat berkembang secara bertahap, baik secara individu maupun berkelompok. Perlu dicatat bahwa area tubuh tertentu, seperti kepala, ketiak, garis tengah punggung, perineum, selangkangan, dan area kulit yang lebih hangat lainnya, tidak terlalu terpengaruh dibandingkan bagian tubuh lainnya. Seiring dengan memburuknya kondisi, saraf perifer dapat meluas, yang menyebabkan hilangnya sensasi di tangan, kaki, dan area lain yang terkena. Perkembangan ini berpotensi mengakibatkan kecacatan (Kimta et al., 2024).

Menurut Kementerian Kesehatan dalam (Yusuf et al., 2018) klasifikasi penyakit kusta mengacu pada standar WHO, yang

membaginya menjadi dua tipe, yaitu *paucibacillary* (PB) dan *multibacillary* (MB). (TT dan BT termasuk dalam PB, sedangkan BB, BL, dan LL termasuk dalam MB). PB didefinisikan sebagai adanya 1-5 lesi kulit dan/atau satu saraf yang terganggu, sedangkan MB didefinisikan sebagai adanya > 5 lesi kulit atau saraf yang terganggu (Prakoeswa et al., 2022).

5 a. Tipe PB (*Paucibacillary*) atau Tipe Kering

- 1) Ditandai dengan bercak atau makula berwarna keputihan.
- 2) Ukuran bercak bervariasi, kecil hingga besar, dengan batas tegas, dan dapat muncul di satu atau beberapa area tubuh seperti pipi, punggung, dada, ketiak, lengan, pinggang, pantat, paha, betis, atau punggung kaki.
- 3) Permukaan bercak tidak berkeriat. Tipe ini jarang menular, namun jika tidak segera diobati dapat menyebabkan kecacatan.

b. Tipe MB (*Multibacillary*) atau Tipe Basah

- 1) Bercak berwarna kemerahan.
- 2) Penyebaran bercak merata di seluruh tubuh, dengan kulit tidak terlalu kasar dan batas makula tidak jelas.
- 3) Terjadi penebalan kulit berwarna kemerahan, yang biasanya muncul pertama kali di cuping telinga dan wajah (Yusuf et al., 2018).



Gambar 2. 5 Anak laki-laki di sebelah kiri menderita kusta tipe PB; Anak laki-laki di sebelah kanan memiliki kusta tipe MB (Yusuf et al., 2018)

6. Deteksi dan Pemeriksaan Penunjang Penyakit Kusta

Penyakit kusta dapat didiagnosis apabila ditemukan setidaknya satu dari tiga tanda kardinal. Tanda pertama adalah adanya ²⁰ kelainan kulit khas kusta, yang dapat berupa hipopigmentasi atau eritema dengan kehilangan sensasi (anestesi). Tanda kedua adalah ² penebalan saraf perifer yang disertai gangguan fungsi saraf akibat peradangan kronis (neuritis). Gangguan ini dapat mencakup gangguan sensoris berupa hilangnya rasa (anestesi), gangguan motoris yang menyebabkan kelemahan ² (paresis) atau kelumpuhan (paralisis) otot, serta gangguan otonom seperti kulit kering (anhidrosis) dan munculnya fisura. Tanda ketiga yang dapat digunakan untuk menegaskan diagnosis adalah adanya basil tahan asam (BTA) yang terdeteksi melalui pemeriksaan kerokan jaringan kulit (slit skin smear). Dengan demikian, diagnosis kusta dapat ditegakkan melalui

pemeriksaan klinis dan laboratorium berdasarkan tanda-tanda tersebut.

Pemeriksaan penunjang yang dapat dilakukan yaitu :

a. Bakterioskopi

Pemeriksaan ini membantu diagnosis dan pemilihan pengobatan dengan melakukan kerokan jaringan kulit, lalu mewarnainya menggunakan metode seperti ⁹⁸ Ziehl-Neelsen untuk mendeteksi basil tahan asam (BTA).

b. Histologi

Histiosit adalah makrofag kulit yang berperan dalam fagositosis, dipengaruhi oleh sistem imun seluler (SIS). Pada SIS tinggi, histiosit membentuk tuberkel yang merusak jaringan, khas tipe tuberkuloid. Sebaliknya, pada SIS rendah, histiosit menjadi tempat berkembangnya *M. leprae*, membentuk sel Virchow yang khas pada tipe lepromatosa dengan zona bebas radang di bawah epidermis.

c. Serologi

Pemeriksaan serologi mendeteksi ² antibodi pada individu yang terinfeksi *M. leprae*. Antibodi spesifik yang diperiksa meliputi anti-PGL-1, antiprotein 16 kD, dan 53 kD, sementara antibodi nonspesifik seperti anti-LAM juga dapat ditemukan. Deteksi dilakukan melalui berbagai metode, seperti MLPA, ELISA, ML dipstick, dan ML flow test.

d. Pemeriksaan Lain

Diagnosis Kusta saraf murni atau yang dikenal sebagai *pure neural leprosy* (PNL) sulit dan sering terlambat. Pemeriksaan tambahan seperti elektrofisiologi, biopsi saraf, dan fine needle aspiration cytology diperlukan. Elektrofisiologi menunjukkan neuropati sensorik atau motorik campuran, sedangkan biopsi saraf dapat mengonfirmasi BTA atau nekrosis kaseosa, meski berisiko cedera. Fine needle aspiration cytology menjadi alternatif yang lebih aman. *Polymerase chain reaction* (PCR) juga dapat dilakukan untuk mendeteksi DNA *M. leprae* dari spesimen biopsi.

Kusta disebut *the greatest imitator* karena menyerupai berbagai penyakit kulit. Lesi eritem bersisik mirip psoriasis dan dermatofitosis, sementara lesi hipopigmentasi menyerupai vitiligo atau *birth marks*. Lesi dengan skuama halus dapat terlihat seperti pitiriasis versikolor atau alba. Papul, plak, atau nodul pada kusta juga dapat menyerupai neurofibromatosis, sarkoma Kaposi, dan leukemia kutis (Kemenkes RI, 2020).

7. Mutasi Gen

Gold standard deteksi resistensi obat adalah dengan menilai gejala klinis dan melakukan tes PCR untuk mengidentifikasi mutasi pada *drug resistance-determining region* (DRDR). Dihydropteroate synthase, RNA polymerase, dan DNA gyrase,

yang dikodekan oleh gen Folp1, RpoB, dan GyrA, merupakan target obat yang dikenal untuk dapsone, rifampisin, dan ofloksasin (Li et al., 2024).

Antara tahun 1960 dan 1990, resistensi terdeteksi dengan menggunakan uji footpad tikus yang tidak praktis, mahal, dan memakan waktu. Namun, pemahaman tentang cara kerja obat anti kusta dan mekanisme resistensi pada *M. leprae* telah berkontribusi pada pengembangan tes kerentanan obat berbasis molekuler yang dapat dilakukan secara langsung pada spesimen klinis. Adanya sarana ini telah memungkinkan pengembangan jaringan surveilans WHO untuk mempelajari resistensi obat secara global pada kusta (Cambau & Williams, 2023).

Pada tahun 1970, Rifampisin telah menjadi satu-satunya komponen MDT yang menunjukkan aktivitas bakterisida terhadap *M. leprae*. Rifampisin ¹⁰⁹ secara selektif menghambat RNA polimerase yang bergantung pada DNA bakteri, sehingga menghentikan produksi RNA. Khususnya, Rifampisin efektif terhadap bakteri yang resisten terhadap Dapsone, sehingga menjadikannya komponen penting dalam pengobatan kusta. Untuk membunuh organisme intraseluler dengan baik, Rifampisin juga berfungsi dengan menembus membran sel bakteri. Dalam waktu 4-6 minggu setelah memulai pengobatan, morphologic index (MI) mencapai nol. Namun, dibutuhkan waktu lebih lama

untuk menurunkan bakteriologic index (BI). Perlu diketahui bahwa mutasi pada gen RpoB baru-baru ini muncul, yang mengarah pada pengembangan resistensi terhadap Rifampisin. Resistensi ini telah menjadi perhatian yang signifikan, mengurangi kegunaan dan efektivitas obat dalam beberapa kasus (Kimta et al., 2024).

Mutasi missense pada gen rpoB menyebabkan perubahan pada asam amino yang melapisi kantong pengikat rifampisin dan menghasilkan perubahan pada struktur enzim dan resistensi rifampisin. Di dalam daerah penentu resistensi obat (DRDR), mutasi pada gen rpoB terjadi di antara posisi kodon 410-480 (Sugawara-Mikami et al., 2022).

Sejak tahun 1993 dan setelahnya, sekuensing gen telah dilakukan untuk strain *M. leprae* yang diketahui resisten pada percobaan kaki tikus dan diisolasi dari kasus-kasus yang mengalami kegagalan pengobatan. Hal ini dengan jelas menunjukkan bahwa beberapa mutasi missense (mutasi yang menyebabkan perubahan asam amino) menyebabkan resistensi terhadap dapsone (mutasi pada gen folP1), rifampisin (mutasi pada gen rpoB) dan kuinolon (mutasi pada gen gyrA). Karena mutasi-mutasi ini dikelompokkan dalam masing-masing gen, daerah yang menentukan resistensi obat digambarkan sebagai *dapsone resistance-determining region* (DRDR), *rifampisin resistance-determining region* (RRDR) dan *quinolone resistance-*

determining region (QRDR). Sekuensing pada genom *M. leprae* telah menyebabkan modifikasi pada sistem penomoran yang digunakan sebelumnya (WHO, 2017).

A)		<i>foIP1</i> DRDR	
151	-	gaa tog	acc 53
51	-	E S	T
			55
		ggg 55	P
		ggg qcc att agg acc gat cct oga gtt gaa ctc tct cgt atc gtt	
		G A I R T D P R V E L S R I V	
B)		<i>rpoB</i> DRDR	
1261	-	cgt cgg gtg gtc gac gct atc aag gaa ttc ttc ggc acc agc cag ctg tog	acc 438
421	-	R P V V A A I K E F F G T S Q L S	Q
			451
		ggc 451	H
		gag cgc cgg ctg	acc 456
		acc 456	S
		acc 458	H
		acc 458	G
		acc 458	P
C)		<i>gyrA</i> DRDR	
241	-	acg atg ggc aat tac cat cgg cac	ggc 99
81	-	T M G N Y H P H	G
			91
		ggc 91	A
		ggc 91	S
		ggc 91	I
		ggc 91	Y
		ggc 91	D
		ggc 91	T
		ggc 91	L
		ggc 91	V
		ggc 91	R
		ggc 91	M

Gambar 2. 6 Urutan nukleotida dan asam amino dari daerah penentu resistensi obat. (Kodon yang diketahui paling sering terlibat dalam resistensi disorot dalam persegi panjang) (WHO, 2017)

Rifampisin bekerja dengan berikatan pada β -subunit enzim RNA polimerase, yang dikodekan oleh gen *rpoB*. Mutasi tertentu pada gen *rpoB* berperan dalam terjadinya resistensi rifampisin pada *M. leprae* dan *M. tuberculosis*. Mutasi missense yang menyebabkan substitusi asam amino pada posisi 438, 441, 451, 456, dan 458, atau penyisipan nukleotida di antara posisi 439 dan 440, diketahui berkontribusi terhadap resistensi rifampisin pada *M. leprae*.

Tabel 2. 1 Mutasi pada gen target obat kusta yang menyebabkan resistensi terhadap *M. leprae*

Gene	Amino acid substitution due to gene mutation	Nucleotide change (5' → 3')
rpoB	Gln438Val	cag → gfg
	Asp441Tyr	gat → tat
	Asp441Asn	gat → aat
	His451Asp	cac → gac
	His451Tyr	cac → tac
	Ser456Leu	tcg → ttg
	Ser456Met	tcg → atg
	Ser456Phe	tcg → ttc
	Ser456Trp	tcg → tgg
	Leu458Val	clg → gfg
	Leu458Pro	clg → ccg
folP1	Thr53Ala	acc → gcc
	Thr53Arg	acc → agc
	Thr53Ile	acc → atc
	Pro55Arg	ccc → cgc
	Pro55Leu	ccc → ctc
	Pro55Ser	ccc → tcc
gyrA	Gly89Cys	ggc → tgc
	Ala91Val	gca → gla

Note. Mutant amino acids in **bold** are high-frequency mutations for *M. leprae* associated with drug resistance. The numbering system is that of the *M. leprae* genome TN strain (GenBank AL583923; 11)

Sumber : (WHO, 2017)

B. Tinjauan Umum Multi Drugs Therapy (MDT)

1. Obat-Obat Kusta

Pada tahun 1982, komite ahli WHO merekomendasikan terapi kombinasi rifampisin, dapsone dan klofazimine untuk pasien kusta untuk mencegah resistensi *M. leprae* akibat monoterapi. Semua pasien menerima rifampisin dan dapsone, sementara pasien dengan kusta multibasiler (MB) juga menerima klofazimine.

Efektivitas dapsone terhadap *M. leprae* ditemukan pada akhir tahun 1940-an, dan setelah itu dapsone digunakan secara luas sebagai agen tunggal untuk pengobatan pasien kusta. Penggunaan ini menyebabkan perkembangan resistensi dapsone. Klofazimin kemudian ditemukan sebagai obat anti kusta yang efektif. Selain itu, penelitian tentang rifampisin menunjukkan bahwa rifampisin memiliki aktivitas antibakteri yang sangat baik terhadap *M. leprae*. Dosis tunggal bulanan 1.200 mg rifampisin ditemukan sama efektifnya dengan dosis harian dalam mengobati pasien dengan beban bakteri awal yang tinggi. Penemuan ini penting karena memfasilitasi pengembangan rejimen WHO (Lockwood, 2019).

Rifampisin memiliki sifat bakterisidal kuat, sedangkan dapson dan klofazimin bekerja sebagai bakteriostatik. Meskipun efektif, regimen MDT memiliki sejumlah keterbatasan, seperti menyebabkan hiperpigmentasi kulit, anemia hemolitik, methemoglobinemia, serta reaksi hipersensitivitas, yang berkontribusi terhadap rendahnya kepatuhan pasien. Efek samping berat seperti sindrom dapson juga pernah dilaporkan, meskipun kasusnya jarang terjadi.

Sebagai alternatif, beberapa antibiotik seperti ofloksasin, minosiklin, dan klaritromisin digunakan pada pasien dengan kontraindikasi MDT, menolak terapi standar, atau mengalami

relaps. Pada tahun 1997, WHO menyetujui penggunaan regimen rifampisin-ofloksasin-minosiklin (ROM) dosis tunggal untuk pengobatan lesi tunggal pada kusta tipe PB. Studi yang dilakukan pada akhir tahun 1990-an menunjukkan potensi regimen ROM dalam pengobatan kusta tipe MB. ROM dianggap menjanjikan sebagai terapi alternatif karena memiliki profil efek samping yang minimal, meningkatkan kenyamanan pasien, serta memperbaiki tingkat kepatuhan terhadap pengobatan. Efek samping terkait pengobatan kusta dengan MDT telah banyak dilaporkan. Beberapa studi melaporkan adanya kasus resistensi MDT (Deviana, 2019).

a. Rifampisin

Rifampisin merupakan obat dengan aktivitas bakterisidal kuat dalam pengobatan kusta. Mekanisme kerja rifampisin adalah dengan menghambat aktivitas DNA-dependent RNA polymerase melalui pembentukan ikatan dengan enzim polimerase, sehingga proses sintesis RNA bakteri terhambat. Rifampisin mampu membunuh hingga 99% *M. leprae* hanya dalam satu kali pemberian, sehingga menjadi komponen penting dalam terapi MDT.

DNA sequencing method untuk mendeteksi resistensi telah banyak membantu penemuan kasus resistensi obat kusta. Saat ini, resistensi terkait dapson, rifampisin, dan

golongan kuinolon dapat diidentifikasi dengan mencari mutasi gen dengan metode biologi molekuler skala besar, tidak lagi menggunakan kultur pada telapak kaki mencit. Resistensi terhadap rifampisin dan dapson telah dilaporkan (Deviana, 2019).

b. Dapsone

Dapsone adalah sulphone sintetis, mirip dengan obat sulphonamide, yang menargetkan dihydropteroate synthase, enzim tertentu dalam bakteri. Meskipun ada laporan awal tentang resistensi yang terjadi setelah monoterapi, dapsone tetap sangat berguna dalam kombinasi dengan rifampisin dalam rejimen MDT WHO untuk kusta. Dapsone dapat menyebabkan *dapsone hypersensitivity syndrome* ditandai dengan dermatitis eksfoliatif, demam, dan hepatitis yang dapat mengancam jiwa. Hipersensitivitas Dapsone biasanya berkembang setelah 4-6 minggu pengobatan dan pasien harus diberi tahu untuk menghentikan obat dan mencari pertolongan medis segera jika timbul gejala (Walker et al., 2014).

c. Klofazimin

Klofazimin adalah iminofenazin yang larut dalam lemak, pewarna merah bata yang memiliki aktivitas in vitro terhadap beberapa spesies mikobakteri dan terbukti sangat efektif

dalam pengobatan kusta (penyakit Hansen). Klofazimin berikatan dengan DNA mikobakteri dan dikembangkan sebagai terapi potensial untuk *M. tuberculosis*, tetapi menunjukkan aktivitas yang minimal. Sebaliknya, obat ini ditemukan sebagai obat yang sangat berguna untuk mengobati kusta; uji klinis menunjukkan manfaatnya baik sebagai monoterapi maupun bila dikombinasikan dengan dapsone dan rifampisin. Terapi multidrug yang menggunakan ketiga obat tersebut sekarang dianggap sebagai lini pertama terapi untuk orang dewasa dengan kusta dan memberikan tingkat kesembuhan yang tinggi setelah 1-3 tahun terapi.

¹¹⁰ Klofazimin ¹¹⁰ disetujui untuk digunakan di Amerika Serikat pada tahun 1986, tetapi ditarik pada tahun 2016 dan sekarang hanya tersedia di bawah naungan *National Hansen's Disease (Leprosy)*. Di negara lain, klofazimine tersedia dengan nama komersial Lamprone. Klofazimin juga memiliki aktivitas immunosupresif dan telah digunakan secara eksperimental untuk mengobati lupus eritematosus diskoid dan psoriasis.

Efek samping utama dari Klofazimin termasuk perubahan warna kulit dan gangguan pencernaan dengan rasa sakit, mual dan diare. Perubahan warna kulit disebabkan oleh warna oranye kemerahan dari Klofazimin dan mengakibatkan perubahan warna coklat kemerahan pada kulit

dan cairan tubuh pada sebagian besar pasien yang diobati selama lebih dari satu bulan. Perubahan warna akan memudar dengan penghentian obat, tetapi dapat bertahan selama berbulan-bulan atau bertahun-tahun. Efek samping gastrointestinal dari Klofazimin dapat menjadi parah dan memerlukan modifikasi dosis atau penghentian. Gejala-gejala tersebut disebabkan oleh kristalisasi molekul Klofazimin dalam submukosa usus; kristal ini dapat ditemukan di hati, kelenjar getah bening dan limpa (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017).

d. Ofloksasin

Ofloksasin (4-fluoroquinolone) merupakan agen antibiotik yang memiliki aktivitas antibakterisidal dengan potensi moderat terhadap *M. leprae*. Mekanisme kerjanya melibatkan pengikatan pada subunit A enzim DNA gyrase (gyrA), yang berperan dalam proses superkoiling DNA, sehingga menghambat replikasi DNA bakteri.

Penelitian yang dilakukan di India ditemukan tingkat resistensi ofloksasin tertinggi pada pasien yang belum pernah menerima pengobatan (16,4%) dan pasien kambuh (17,6%). Meskipun fluoroquinolones bukan bagian dari terapi lini pertama kusta, resistensi terhadap obat ini terus dilaporkan

dalam 5–7 tahun terakhir, kemungkinan akibat penggunaannya yang luas untuk infeksi non-mikobakteri.

Di Provinsi Shandong, Cina, tingkat resistensi ofloksasin mencapai 25,93%, dengan dugaan penyebab utama adalah penyalahgunaan antibiotik, terutama di wilayah pedesaan. Meningkatnya resistensi terhadap ofloksasin menjadi perhatian serius, mengingat obat ini merupakan terapi cadangan bagi *M. leprae* yang resisten terhadap rifampisin. Selain itu, hingga kini belum ada protokol yang ditetapkan untuk mendeteksi resistensi terhadap minosiklin dan klaritromisin, dua obat lini kedua lainnya (Chhabra et al., 2023).

e. Minosiklin

Minosiklin merupakan satu-satunya antibiotik golongan tetrasiklin yang memiliki kemampuan membunuh *M. leprae*. Aktivitas antibakterisidal minosiklin akan semakin optimal jika dikombinasikan dengan obat antikusta lain. Efek samping yang paling sering dijumpai pada penggunaan jangka panjang adalah perubahan warna gigi pada bayi dan anak-anak hingga usia 8 tahun. Risiko ini muncul apabila minosiklin diberikan dalam jangka panjang kepada wanita hamil atau anak-anak selama fase perkembangan gigi.

⁷ Kombinasi rifampisin dengan obat antikusta baru, seperti minosiklin, klaritromisin, dan fluorokuinolon, menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kombinasi dapson dan klorfazimin. Selain itu, regimen ini juga cenderung lebih diterima oleh pasien, sehingga berpotensi meningkatkan kepatuhan terhadap pengobatan (Deviana, 2019).

2. Mekanisme kerja

²³ Pada tahun 1995, WHO merekomendasikan pengobatan kusta menggunakan MDT untuk tipe *Paucibacillary* (PB) dan *Multibacillary* (MB). Pengobatan ini bertujuan ³⁰ memutus rantai penularan, mencegah resistensi obat, memperpendek durasi terapi serta meningkatkan kepatuhan pasien. MDT juga berperan dalam mencegah timbulnya cacat baru atau memperlambat progresivitas ⁷ cacat yang sudah ada sebelum pengobatan (Kemenkes RI, 2020).

MDT merupakan ⁵ kombinasi dua atau lebih obat antikusta. Rifampisin digunakan sebagai obat utama dengan sifat bakterisidal kuat, sedangkan obat antikusta lainnya bekerja sebagai bakteriostatik (Yusuf et al., 2018). ² Obat MDT tersedia dalam bentuk blister yang diperuntukkan bagi pasien dewasa serta anak-anak berusia 10-14 tahun.

Kelompok pasien yang membutuhkan MDT meliputi pasien yang baru didiagnosis kusta dan belum pernah menerima

pengobatan. Pasien ulangan juga memerlukan MDT, seperti pasien yang mengalami relaps, melanjutkan pengobatan setelah putus berobat, pindah tempat pengobatan, serta pasien dengan perubahan² klasifikasi tipe penyakit.

Rejimen pengobatan MDT di Indonesia diterapkan sesuai dengan rekomendasi dari WHO, yaitu :

a. Pasien pausibasiler (PB) dewasa

Pada hari pertama setiap bulan, pasien mengonsumsi dua kapsul rifampisin (300 mg per kapsul, total 600 mg) dan satu tablet dapsone (100 mg) di bawah pengawasan petugas kesehatan. Selanjutnya, dari hari ke-2 hingga hari ke-28,²² pasien melanjutkan pengobatan harian dengan satu tablet dapsone (100 mg) per hari. Setiap bulan, pasien menerima satu blister obat, dengan total kebutuhan enam blister yang² dikonsumsi selama 6-9 bulan.

b. Pasien multibasiler (MB) dewasa

Pada hari pertama setiap bulan, pasien mengonsumsi dua kapsul rifampisin (300 mg per kapsul, total 600 mg), tiga tablet lampren (100 mg per tablet, total 300 mg), dan satu tablet dapsone/DDS (100 mg) di bawah pengawasan petugas kesehatan. Selanjutnya, dari hari ke-2 hingga hari ke-28,²² pasien melanjutkan pengobatan harian dengan satu tablet lampren (50 mg) dan satu tablet dapsone/DDS (100 mg) per

hari. Setiap bulan, pasien menerima satu blister obat, dengan total kebutuhan ² 12 blister yang dikonsumsi selama 12-18 bulan.

c. Dosis MDT PB untuk anak (umur 10-14 tahun)

Pada hari pertama setiap bulan, pasien mengonsumsi ⁵ dua kapsul rifampisin (150 mg dan 300 mg) serta satu tablet dapsone/DDS (50 mg) di bawah pengawasan petugas kesehatan. Selanjutnya, ²² dari hari ke-2 hingga hari ke-28, pasien melanjutkan pengobatan harian dengan satu tablet dapsone/DDS (50 mg) per hari. Setiap bulan, pasien menerima satu blister obat, dengan total enam ² blister yang dikonsumsi selama 6-9 bulan.

d. Dosis MDT MB untuk anak (umur 10-14 tahun)

Pada hari pertama setiap bulan, pasien mengonsumsi obat di bawah pengawasan petugas kesehatan. Selanjutnya, ²² dari hari ke-2 hingga hari ke-28, pasien melanjutkan pengobatan harian dengan satu tablet lampren (² 50 mg) setiap dua hari sekali dan satu tablet dapsone/DDS (50 mg) setiap hari. Setiap bulan, pasien menerima satu blister obat, dengan total ² 12 blister yang dikonsumsi selama 12- 18 bulan.

Pada pasien anak berusia di bawah 10 tahun, dosis obat disesuaikan dengan berat badan untuk memastikan efektivitas

dan keamanan terapi. Yaitu, rifampisin sebesar ¹⁷10–15 mg/kgBB, dapsone sebesar 1–2 mg/kgBB, dan lamproen sebesar 1 mg/kgBB.

Regimen ²pengobatan khusus diperlukan pada pasien tertentu yang tidak dapat menerima rifampisin akibat reaksi alergi atau adanya penyakit penyerta, seperti hepatitis kronis, maupun pada kasus kusta yang resisten terhadap rifampisin (Kemenkes RI, 2020).



Gambar 2. 7 Kemasan Blister (Kemenkes RI, 2020)

C. ¹Tinjauan Umum Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah metode enzimatis yang digunakan untuk melipatgandakan sekuens nukleotida secara eksponensial ¹²secara in vitro. Teknik ini pertama kali dikembangkan oleh Dr. Kary Mullis pada tahun 1980. PCR mampu mengamplifikasi fragmen DNA dalam jumlah kecil menjadi salinan DNA dalam jumlah besar. Proses amplifikasi DNA melalui PCR memiliki tingkat akurasi

yang tinggi, sehingga ¹⁰⁷metode ini banyak digunakan dalam berbagai bidang seperti analisis genetik, diagnosis klinis, rekayasa genetika, dan analisis forensik (Hidayat, 2020).

¹⁰³Prinsip PCR adalah memperbanyak fragmen DNA secara *in vitro* menggunakan enzim polimerase pada suhu tinggi dalam siklus berulang. Proses ini diawali dengan pemisahan untai ganda DNA, kemudian primer DNA berikatan dengan untai tunggal saat suhu turun, memungkinkan sintesis DNA baru. Hasil amplifikasi dianalisis melalui elektroforesis agarosa.

Metode PCR terus berkembang, dari metode konvensional hingga teknik yang memungkinkan deteksi langsung mutasi pada sampel. Perkembangan ini disesuaikan dengan aplikasi spesifik, seperti identifikasi molekuler, sekuensing, atau rekayasa genetika. Namun prinsip dasar PCR tetap sama, yaitu memerlukan primer, nukleotida bebas (dNTP), enzim Taq polimerase, air bebas ion (dH_2O), larutan penyangga (buffer PCR) dengan atau tanpa magnesium klorida (MgCl_2), serta DNA target sebagai cetakan. Perbedaannya terletak pada suhu dan durasi tahapan penempelan serta pemanjangan DNA, perancangan primer yang bervariasi antar metode (misalnya, ARMS berbeda dari PCR konvensional), ada atau tidaknya pemotongan DNA pada area tertentu, serta penggunaan probe fluoresen untuk mendeteksi hasil amplifikasi (Puspitaningrum et al., 2018).

³⁴ Proses PCR terdiri dari tiga tahapan siklus, yaitu denaturasi, annealing, dan ekstensi/elongasi. Tahap pertama adalah denaturasi, yaitu reaksi orde satu yang berlangsung cepat, biasanya pada suhu 94–95°C. Pada tahap ini, untai cetakan DNA harus terpisah sempurna. Waktu standar denaturasi berkisar antara 0 hingga 60 detik (Mursyidin, 2024). Dimana sampel DNA berantai ganda dipisah menjadi untai tunggal ⁸⁷ dengan pemanasan pada suhu 95°C selama 1-2 menit. Suhu tinggi ini memutuskan ikatan hidrogen antar basa nitrogen pada DNA, sehingga menghasilkan single stranded DNA sebagai template untuk tahap berikutnya.

Tahap kedua adalah annealing, di mana primer oligonukleotida berikatan secara spesifik pada sekuen komplementer pada DNA template. Suhu annealing bervariasi tergantung pada *melting temperature* (T_m) primer, umumnya sekitar ²⁴ 3-5°C di bawah suhu T_m . Suhu annealing yang optimal sangat penting untuk memastikan spesifisitas dan efisiensi amplifikasi. Suhu annealing ⁷² yang terlalu rendah dapat menyebabkan mispriming, sedangkan suhu yang terlalu tinggi dapat menurunkan efisiensi reaksi.

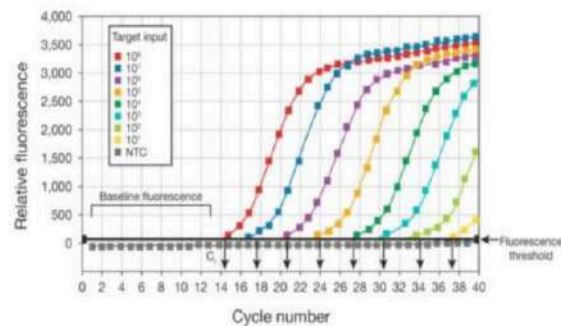
Tahap ketiga adalah ekstensi atau elongasi, yang berlangsung pada suhu 72°C. Pada tahap ini, DNA polimerase, seperti *Taq polymerase*, mensintesis untai DNA baru dengan menambahkan nukleotida komplementer pada ujung 3' primer berdasarkan urutan DNA cetakan. Proses ini berlanjut hingga seluruh sekuen target

terkopi. Siklus ini diulangi sebanyak 20-35 kali untuk menghasilkan jutaan hingga miliaran salinan DNA target, menghasilkan produk amplifikasi DNA dalam jumlah yang lebih banyak dibanding jumlah template DNA awal (Hidayat, 2020). Suhu ekstensi 72°C merupakan standar dalam protokol PCR, mendekati suhu optimal *Taq* polimerase (75°C) namun tetap cukup rendah untuk mempertahankan hibridisasi primer dengan cetakan DNA. (Mursyidin, 2024).

Beberapa jenis PCR yaitu (Hidayat, 2020) :

a. *Quantitative PCR* (qPCR)

qPCR digunakan untuk mengukur secara kuantitatif jumlah awal DNA, cDNA, atau RNA dalam suatu sampel (biasanya dalam *real-time*). Teknik ini memungkinkan deteksi dan kuantifikasi urutan target serta menentukan jumlah salinan DNA dalam sampel dengan presisi tinggi.



Gambar 2. 8 Hasil Amplikasi qPCR (Hidayat, 2020)

⁶
b. *Reverse Transcription PCR (RT-PCR)*

RT-PCR adalah teknik dua langkah yang melibatkan sintesis cDNA dari mRNA menggunakan *reverse transcriptase*, diikuti amplifikasi cDNA melalui ⁶PCR. Proses ini menghasilkan salinan cDNA tanpa intron, memungkinkan analisis ekspresi gen, identifikasi transkrip RNA, serta pemetaan ekson dan intron ⁶jika urutan DNA genom diketahui. RT-PCR banyak digunakan dalam studi ekspresi gen dan analisis transkripsi.

⁶
c. *Nested PCR*

Nested PCR meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas dengan dua putaran PCR menggunakan dua pasang primer. PCR pertama mengamplifikasi DNA target beserta fragmen nonspecific, lalu produk ini menjadi templat untuk PCR kedua dengan primer yang lebih spesifik. Teknik ini meningkatkan sensitivitas melalui siklus tambahan dan spesifisitas melalui primer selektif pada siklus kedua.

d. *Inverse PCR*

Inverse PCR memungkinkan amplifikasi daerah DNA yang tidak diketahui dengan memanfaatkan sebagian kecil urutan yang dikenali. DNA target dibentuk menjadi lingkaran, memungkinkan primer menempel di kedua sisi urutan target, sehingga dapat memperluas analisis pada molekul DNA panjang seperti kromosom.

e. *Hot start* PCR

Hot-start PCR mencegah amplifikasi non-spesifik dengan menghambat aktivitas polimerase pada suhu rendah. Teknik ini³⁴ dapat dilakukan secara manual dengan memanaskan reaksi sebelum menambahkan polimerase atau menggunakan enzim khusus yang hanya aktif pada suhu tinggi melalui pengikatan antibodi atau inhibitor kovalen.

f. ⁶ *Intersequence-specific* PCR (ISSR)

PCR untuk *DNA fingerprinting* mengamplifikasi daerah di antara sekuens DNA pendek berulang untuk menghasilkan pola unik. Fragmen hasil amplifikasi ini digunakan untuk identifikasi individu secara genetik.

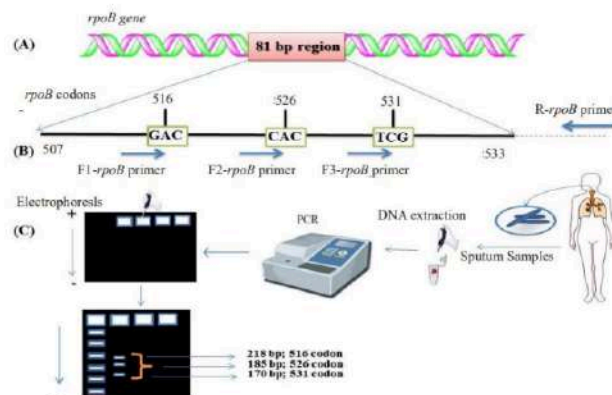
g. ⁶ *Single Specific Primer*-PCR (SSP-PCR)

Metode ini memungkinkan amplifikasi DNA untai ganda meskipun hanya satu ujung sekuens yang diketahui. Teknik ini digunakan untuk memperluas analisis genom dengan memperbanyak DNA dari daerah yang diketahui ke wilayah kromosom yang belum teridentifikasi (Hidayat, 2020).

h. ⁶ *Multiplex*-PCR

Terdiri dari beberapa set primer dalam satu campuran PCR. Multiplex-PCR berfungsi untuk menghasilkan ampikon dengan berbagai ukuran yang khusus untuk urutan DNA yang berbeda.

Multiplex allele-specific PCR (MAS-PCR) memungkinkan deteksi simultan mutasi genetik terkait resistensi INH dan RIF yang paling umum dengan biaya yang relatif lebih murah dan perlu keahlian teknis. Jika dibandingkan dengan *drug susceptibility testing (DST)*, MAS-PCR memiliki sensitivitas 82,8% dan spesifisitas 100% untuk mendeteksi mutasi resistensi INH yang umum, dan sensitivitas 98,4% dan spesifisitas 100% untuk mendeteksi mutasi resistensi RIF yang umum (Chia et al., 2012).



Gambar 2. 9 Tahapan Proses Multiplex-PCR (Tajbakhsh et al., 2018)

Reaksi MAS-PCR secara umum terbagi menjadi dua kategori, yaitu, Reaksi PCR template tunggal yang menggunakan satu template DNA genom dengan beberapa pasang primer forward dan reverse untuk mengamplifikasi wilayah atau region tertentu pada template tersebut. Dan reaksi PCR dengan beberapa template (multiple

template) melibatkan lebih dari satu molekul template DNA dalam satu tabung reaksi dengan beberapa set primer.

Metode MAS-PCR memiliki kelebihan meliputi kemampuan mendeteksi beberapa target DNA secara simultan dalam satu reaksi, tingkat akurasi dan sensitivitas yang tinggi, serta proses yang relatif mudah digunakan di laboratorium. Namun, metode ini memiliki biaya lebih tinggi karena membutuhkan reagen dan peralatan khusus. Selain itu, diperlukan pengetahuan teknis untuk menentukan kombinasi primer yang tepat, serta ketergantungan pada kualitas peralatan yang memerlukan perawatan rutin (Hadijah, 2012).



Gambar 2. 10 Hasil visualisasi elektroforesis (Tajbakhsh et al., 2018).

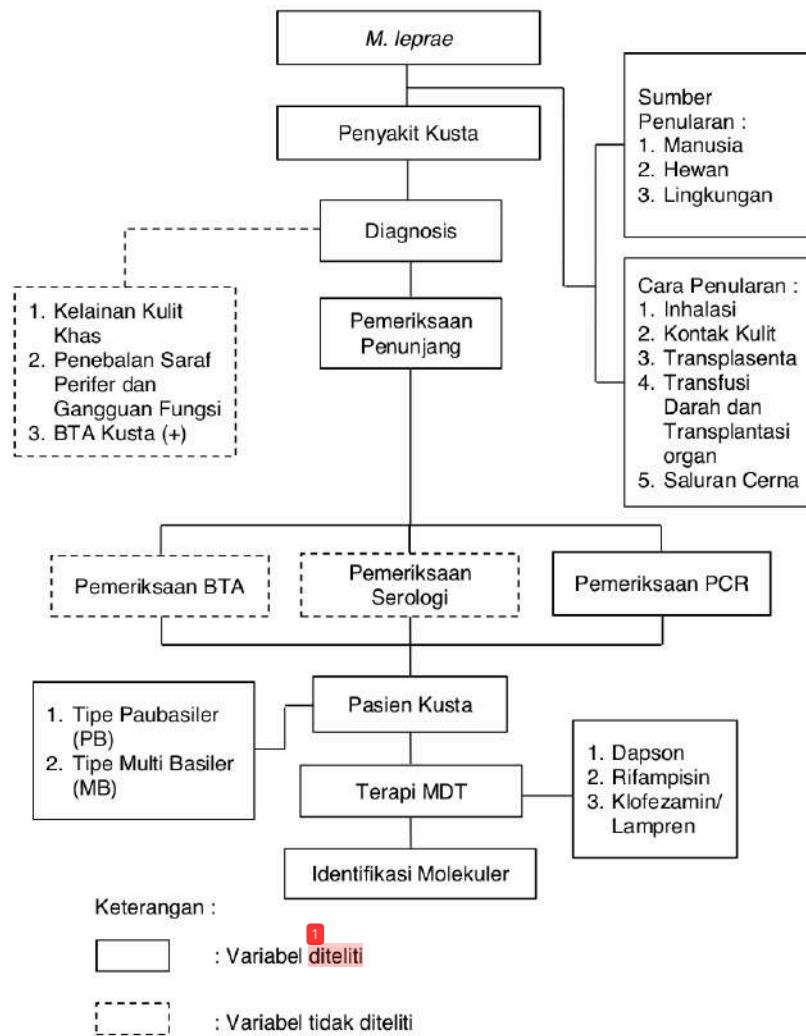
D. Kerangka Konsep

³¹ Penyakit Kusta adalah infeksi kronis yang disebabkan oleh bakteri *M. leprae*. Kusta dapat ditularkan melalui inhalasi, kontak Kulit, plasenta, transfusi darah dan transplantasi organ dengan

sumber manusia, hewan dan lingkungan. *M. leprae* menyebar ⁴⁷ melalui droplet saat penderita berbicara, batuk, atau bersin, dengan jumlah bakteri mencapai 110.000 sel setiap kali bersin. Penularan terjadi melalui inhalasi, kemudian bakteri masuk ke aliran darah melalui transmisi hematogen.

Setelah seseorang didiagnosis kusta, langkah berikutnya adalah menentukan tipe kusta untuk menetapkan komplikasi, prognosis, dan tindakan medis. WHO mengklasifikasikan kusta menjadi dua tipe untuk kepentingan pengobatan, yaitu ² Pausibasiler (PB) dengan sedikit atau tanpa bakteri, dan Multibasiler (MB) dengan jumlah bakteri yang banyak. Tipe PB mencakup tipe TT dan BT menurut Ridley dan Jopling, sedangkan tipe MB mencakup tipe BB, BL, LL, atau tipe apa pun dengan hasil BTA positif.

⁵³ MDT adalah kombinasi dua atau lebih obat antikusta, dengan rifampisin sebagai obat bakterisidal kuat, sementara obat lainnya bersifat bakteriostatik. Rifampisin bekerja dengan berikatan pada β -subunit enzim RNA polimerase yang dikodekan oleh gen *rpoB*. Mutasi pada gen *rpoB* berperan dalam resistensi *M. leprae* terhadap rifampisin. Gold standard deteksi resistensi obat adalah evaluasi gejala klinis dan tes PCR untuk mendeteksi mutasi DRDR.



Gambar 2. 11 Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah observasional dengan menggunakan rancangan deskriptif yang bertujuan untuk mendeteksi mutasi gen *rpoB* pada pasien kusta dengan terapi *Multi Drugs Therapy* (MDT).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

a. Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di 9 RT pada Wilayah Kampung Kusta, Jl. Dangko, Kecamatan Tamalate, Kelurahan Parangtambung, Kota Makassar.

b. Lokasi Penelitian Sampel

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical-Research Center (HUM-RC)* Makassar.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April sampai dengan Mei 2025.

C. Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini yaitu seluruh penderita kusta di wilayah kampung kusta, Kecamatan Tamalate, Kota Makassar.

2. Sampel

⁴⁶ Sampel yang digunakan adalah sampel darah penderita kusta sedang menjalani terapi MDT ¹ yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Adapun kriteria inklusi dan eksklusi dari penelitian ini yaitu :

a. Kriteria Inklusi

1) Penderita kusta yang bersedia, mampu memberikan informasi yang diperlukan, dan telah ⁹⁶ menandatangani informed consent sebagai tanda persetujuan menjadi subjek penelitian.

2) Penderita kusta yang sedang menjalani terapi MDT dengan rejimen rifampisin.

¹⁰¹ b. Kriteria Eksklusi

1) Pasien yang memiliki riwayat penyakit lain yang dapat mempengaruhi hasil penelitian.

3. Besaran Sampel

Jumlah sampel dalam penelitian ini berjumlah 7 sampel yang ditentukan berdasarkan jumlah pasien aktif di lokasi penelitian dan ketersediaan sampel di lapangan, dengan mempertimbangkan keterbatasan peneliti terkait waktu dan biaya operasional.

⁵¹ 4. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini yaitu *purposive sampling*.

D. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah mutasi gen *rpoB* pada sampel pasien kusta.

E. Definisi Operasional

1. Penderita kusta adalah individu yang terinfeksi *M. leprae* dan didiagnosis menderita kusta tipe Pausibasiler atau Multibasiler yang sedang menjalani terapi MDT pada wilayah kampung kusta, Kecamatan Tamalate, Kota Makassar.
2. Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR) adalah teknik molekuler untuk mendeteksi dan membedakan variasi genetik pada lokus genetik tertentu yang digunakan di Laboratorium Hasanuddin University Medical-Research Center (HUM-RC) Makassar.

F. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, Mesin PCR (Biorad), Gel Doc, Mesin Elektroforesis, Sentrifuge, Waterbath, Laminar Flow, BSC Tipe II, Mikropipet (1000 μ l, 100 μ l, 20 μ l, 10 μ l), Cetakan Agarosa, Tips (1000 μ l, 100 μ l, 20 μ l, 10 μ l), Tabung Efordorf, Tabung PCR, Erlenmeyer dan Gelas Ukur.

2. Bahan

Bahan yang digunakan terdiri dari DNA yang dimurnikan dari sampel penderita kusta dengan konsentrasi sebanyak 5,0 μ l.

Digunakan primer dengan urutan spesifik untuk pra gen pada *M. leprae* (forward: 5' CTCCACCTGGACCGGCGAT 3'; reverse: 5'GACTAGCCTGCCAAGTCG3') dan gen *rpoB* untuk MAS-PCR dengan beberapa forward primer (codon 516: 5'- CAG CTG AGC CAA TTC ATG GA-3'; codon 526: 5'-CTG TCG GGG TTG ACC CA-3'; codon 531: 5'-CAC AAG CGC CGACTG TC-3) serta satu reverse primer (5'-TTG ACC CGC GCG TACAC-3'). Reaksi PCR dijalankan menggunakan enzim Go taq Master Mix Green dan RNase Free water. Tahap visualisasi hasil amplifikasi dilakukan dengan elektroforesis gel agarosa yang mengandung Ethidium Bromida dan menggunakan buffer TBE 0,5. Sebagai standar ukuran DNA, digunakan DNA ladder/marker 100.

G. Prosedur Penelitian

1. Pra Analitik

Responden dianjurkan untuk duduk kemudian dilakukan tindakan flebotomi dengan menggunakan metode close sistem. Setelah dilakukan flebotomi, desinfeksi tabung setelah itu dimasukkan ke dalam coolbox dan dibawa ke laboratorium.

Pengambilan darah vena (Metode *Close System*)

a. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan yaitu, *Venous collection system* (jarum dan *holder*), *torniquet*, kapas kering, kapas alkohol, tabung ungu/ K3EDTA.

b. Prosedur Kerja :

Disiapkan alat dan bahan kemudian menempelkan identitas pada tabung *plain* lalu gunakan *handschoon* dan masker. Pasang *tourniquet* pada lengan pasien dan pastikan vena yang akan dilakukan penusukan (*mediana cubity*). Desinfeksi permukaan lokasi yang akan ditusuk menggunakan kapas alkohol. Tusuk vena menggunakan jarum yang sudah dipasang pada holder, setelah dirasa tepat, ambil tabung EDTA lalu masukan kedalam holder untuk menampung darah. Lepaskan *torniquet* sesaat setelah darah masuk kedalam tabung dan tunggu hingga volume darah cukup kemudian cabut jarum dan tutup luka tusukan dengan kapas kering lalu diplester. Jarum yang sudah digunakan dibuang kedalam wadah khusus yang sudah disediakan.

2. Analitik

a. Ekstraksi DNA (gSYNC™ DNA Extraction KIT)

1) Preparasi Sampel

Sampel darah dimasukkan sebanyak 200ul kedalam tabung ependorf 1,5ml, tambahkan PBS hingga volumenya 200 ul. Kemudian masukan 20 ul Proteinase K lalu campurkan. Lakukan inkubasi pada suhu 60 °C selama 5 menit.

2) *Cell Lysis*

Tambahkan 200ul *GSB Buffer*, kemudian divortex, inkubasi pada suhu 60 °C selama 20 menit dimana tiap 5 menit divortex.

3) *DNA Binding*

Tambahkan 200ul *Ethanol* vortex selama 10 detik. masukkan kedalam *GS Column* dalam 2ml *collection tube*. *Sentrifuge* 14.000-16.000 rpm selama 1 menit buang cairan pada *collection tube*.

4) *Wash*

Tambahkan 400 ul *W1 Buffer*, *sentrifuge* 14.000-16.000 rpm selama 30 detik. Buang cairan pada *collection tube*, masukan 600 ul *Wash Buffer* *Sentrifuge* 14.000-16.000 rpm selama 30 detik. Ganti *collection tube* dengan yang baru, *sentrifuge* dengan kecepatan 14.000-16.000 rpm selama 3 menit.

5) *Elution*

Pindahkan *GS Column* ke tabung *ependorf* steril, tambahkan 100 ul *Elution Buffer* yang sebelumnya telah dipanaskan. *sentrifuge* dengan kecepatan 14.000-16.000 rpm selama 30 detik .

6) Buang *GS Column*. Cairan yang terdapat pada tabung *ependorf* merupakan DNA produk yang siap untuk di PCR.

7) Mix PCR

a) Primer *Pra-Gene M. leprae*

³ Go Taq Master Mix	: 12,5 μ l
Forward 10 UM	: 0,5 μ l
Reverse 10 UM	: 0,5 μ l
Nuclesa Free Water	: 6,5 μ l
DNA Sampel	: 5,0 μ l
Total	: 25 μ l

b) Primer MAS-PCR *M. leprae*

³ Go Taq Master Mix	: 12,5 μ l
Forward 1 10 UM	: 0,5 μ l
Forward 2 10 UM	: 0,5 μ l
Forward 3 10 UM	: 0,5 μ l
Reverse 10 UM	: 0,5 μ l
Nuclesa Free Water	: 3,5 μ l
DNA Sampel	: 5,0 μ l
Total	: 25 μ l

b. Amplifikasi DNA

1) *Pra-Gene*

Amplifikasi *pra-gene M. leprae* melalui PCR dilakukan dalam 32 siklus. Setiap siklus terdiri dari tiga tahap: denaturasi pada suhu 94 °C selama 2 menit untuk memisahkan untai DNA ganda; diikuti annealing pada 55

°C selama 2 menit, di mana primer menempel pada sekuens target; dan ekstensi (pemanjangan) pada 72 °C selama 3 menit, yang memungkinkan DNA polimerase mensintesis untai DNA baru.

2) MAS-PCR

Tahap kedua adalah proses amplifikasi dengan metode MAS-PCR. MAS-PCR dilakukan untuk mendeteksi mutasi pada gen *rpoB* dengan menggunakan primer spesifik untuk tiga kodon target (516, 526, dan 531). PCR dijalankan dengan kondisi termal: ²⁷denaturasi awal pada 95°C selama 5 menit, diikuti 40 siklus denaturasi pada 94°C selama 1 menit, annealing pada 55°C selama 1 menit, ekstensi pada 72°C selama 1 menit, serta pemanjangan akhir pada 72°C selama 10 menit.

c. ³Elektroforesis

1) Pembuatan Gel

Untuk membuat gel agarosa 2%, 2 gram agarosa ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml TBE Buffer 0,5x. Larutan agarosa dan buffer ini dipanaskan hingga homogen. Setelah sedikit mendingin, 5 µl Ethidium Bromida ditambahkan. Selanjutnya, larutan dituangkan ke dalam cetakan dan dibiarkan mengeras.

2) Pembuatan DNA Marker

DNA ladder/marker disiapkan dengan mencampurkan ⁶⁷25 μ l DNA 100 bp ladder ke dalam 1 ml Blue Juice Loading Dye hingga homogen. Setelah tercampur rata, label tube yang lama dilepas dan diganti dengan label baru bertuliskan "marker" untuk identifikasi.

3) Persiapan Elektroforesis

Setelah pembekuan, gel agarosa diposisikan di dalam chamber elektroforesis dan diisi dengan TBE Buffer 0,5x hingga gel terendam. Untuk visualisasi dan pemisahan, 8 μ l produk amplifikasi PCR dari setiap sampel (²¹kontrol positif, kontrol negatif, dan sampel uji) dihomogenkan dengan 2 μ l Blue Juice Loading Dye, kemudian 10 μ l dari setiap campuran dimuat ke dalam sumur-sumur gel. Sebuah DNA ladder 100 bp sebanyak 10 μ l juga diaplikasikan pada salah satu sumur, biasanya sumur pertama, untuk memfasilitasi penentuan ukuran fragmen DNA.

4) Running Elektroforesis

Setelah pemuatan sampel, aliran listrik diaplikasikan pada alat elektroforesis. Proses ini dijalankan dari kutub negatif (²¹katoda) menuju kutub positif (anoda) dengan arus 100 A selama 150 menit. Setelah durasi yang ditentukan, proses

elektroforesis dihentikan, dan pita-pita DNA yang terbentuk pada gel diamati. Keberadaan pita yang sejajar atau memiliki ukuran yang sama dengan pita pada sumur kontrol positif mengindikasikan hasil yang positif untuk sampel tersebut.

5) Gel Documentation

Pengoperasian sistem Gel Doc melibatkan empat tahapan utama: penyalan alat, pengaturan posisi gel, pengaturan gambar, serta penyimpanan dan pencetakan. Sistem diaktifkan dengan menekan tombol ON pada unit dan membuka perangkat lunak Quantity One di komputer, lalu memilih "Gel Doc XR". Gel kemudian diletakkan di tengah setelah pintu alat dibuka (opsional menyalakan Epi White), dan setelah pintu ditutup, iris, zoom, dan fokus diatur melalui monitor. Untuk pengambilan gambar, tombol Trans UV diaktifkan (dengan ²⁹ lampu UV mati otomatis jika pintu terbuka kecuali tombol Hold ditekan), lalu dipilih Auto Expose untuk otomatis atau Manual Expose untuk pengaturan waktu eksposur. Setelah gambar jelas, "Freeze" diklik, dan "Annotate" dapat digunakan untuk penulisan. Terakhir, gambar dapat disimpan dan dicetak.

Hasil PCR dianalisis berdasarkan keberadaan pita DNA, di mana pita berukuran 218 bp, 185 bp, atau 170 bp

menunjukkan bahwa gen *rpoB* berada dalam kondisi tipe liar tanpa mutasi. Sebaliknya, tidak adanya pita pada ukuran tersebut menunjukkan adanya mutasi pada kodon target, yang mengindikasikan resistansi terhadap rifampisin. Untuk PCR validasi, keberadaan pita DNA berukuran 531 bp menegaskan bahwa DNA genom *M. leprae* terdeteksi dalam sampel.

3. Pasca Analitik

Interpretasi hasil yang diperoleh pada mutasi gen *rpoB* *M. leprae* dianalisis. Data yang diperoleh kemudian dianalisis berdasarkan persentase hasil yang positif terjadi mutasi.

78

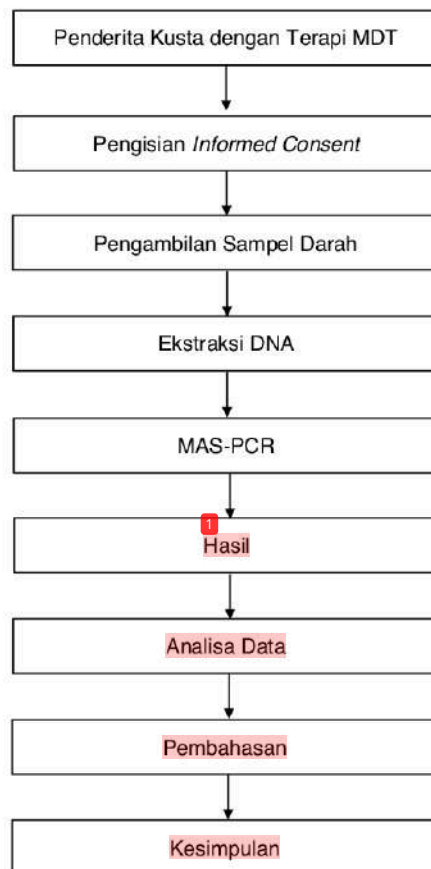
H. Pengumpulan Data

Data yang digunakan merupakan data primer yang diperoleh langsung dari deteksi mutasi gen *rpoB* pada pasien kusta yang menjalani terapi MDT.

14

I. Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel kemudian di narasikan.

J. Kerangka Operasional**Gambar 3. 1** Kerangka Operasional

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Pengambilan sampel penelitian dilakukan pada Kampung Kusta, Jl. Dangko, Kecamatan Tamalate, Kota Makassar. Pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorim Hasanuddin *University Medical Researh Center* - HUMRC pada bulan April sampai dengan Mei 2025. Sampel yang digunakan sebanyak 7 sampel darah penderita kusta yang sedang menjalani terapi MDT. Hasil distribusi karakteristik subjek penelitian dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Distribusi karakteristik subjek penelitian

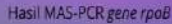
Karakteristik	Jumlah (n)	Persentase (%)
Jenis Kelamin		
Laki-Laki	4	57,1%
Perempuan	3	42,9%
Usia		
Anak 10-14 Tahun	2	28,6%
Dewasa >14 Tahun	5	71,4%
Jenis Kusta		
PB	5	71,4%
MB	2	28,6%
Lama Terapi MDT		
1-6 Bulan	5	71,4%
7-12 Bulan	2	28,6%
Riwayat Kusta		
Baru	7	100%
Relaps	0	0
Kambuh	0	0
Total	7	100%

Sumber : (Data Primer, 2025).

Berdasarkan tabel 4.1 dapat dilihat bahwa penderita dengan jenis kelamin laki-laki sebanyak 4 orang (57,1%) dan perempuan sebanyak 3 orang (42,9%). Berdasarkan usia terdapat 2 (28,6%) dari 7 sampel adalah anak berusia 10-14 tahun dan usia dewasa sebanyak 5 orang (71,4%). Adapun sampel didominasi tipe PB sebanyak 4 orang (57,1%) dan tipe MB sebanyak 3 orang (42,9%). Terdapat 5 orang (71,4%) dengan interval pengobatan 1-6 bulan dan 2 orang (28,6%) dengan interval pengobatan 7-12 bulan. Keseluruhan sampel merupakan penderita kusta baru yaitu 7 orang (100%).

Proses penelitian dimulai dari pengumpulan spesimen yang diambil pada penderita kusta dengan terapi MDT. Terhadap sampel dilakukan analisa secara biomolekuler menggunakan metode MAS-PCR, pertama sampel diekstraksi untuk mendapatkan DNA murni, kemudian dilakukan pencampuran enzim PCR setelah itu dimasukan juga sampel yang telah diekstraksi, selanjutnya dilakukan amplifikasi DNA melalui PCR dengan menggunakan primer spesifik untuk *pra-gene* pada *M. leprae* dan gen *rpoB* untuk MAS-PCR dengan beberapa forward primer pada beberapa target kodon, yaitu kodon 516, 526 dan 531. Setelah itu dilakukan elektroforesis dan hasilnya dibaca menggunakan *gel documentation*. Pada 7 sampel ditemukan adanya mutasi yang terjadi, terdiri dari 1 sampel menunjukan mutasi pada 3 daerah kodon target dan 6 sampel menunjukan terjadinya mutasi pada 2 daerah kodon target.

69



Gambar 4. 1 Hasil visualisasi elektroforesis, amplifikasi *pra-gene M. leprae* dan daerah gen *rpoB*.

19

Tabel 4. 2 Analisis mutasi gen *rpoB* dari hasil MAS-PCR

Hasil Penelitian	Jumlah (n)	Persentase (%)
Tidak Bermutasi	0	0%
Mutasi	7	100%
Total	7	100%

Sumber : (Data Primer, 2025)

Berdasarkan tabel 4.2 menunjukkan bahwa semua sampel uji mengalami mutasi (100%, dengan 1 sampel mengalami mutasi pada 3 kodon target yaitu 516 (218 bp), 526 (185 bp) dan 531 (170 bp) dan 6 sampel mengalami mutasi pada 2 kodon target 516 (218 bp) dan 531 (170 bp).

B. Pembahasan

Rifampisin merupakan obat krusial dalam mengatasi lepra dan tuberkulosis, dua masalah kesehatan global yang signifikan. Mekanisme aksinya melibatkan penghambatan enzim RNA polimerase yang bergantung pada DNA, di mana rifampin mengikat subunit enzim tersebut dan mengganggu transkripsi. Mutasi pada gen *rpoB*, yang mengkode subunit RNA polimerase ini, telah dilaporkan menyebabkan resistensi terhadap rifampin pada berbagai spesies mikobakteria, termasuk *Mycobacterium leprae* dan *Mycobacterium tuberculosis*. Pada *M. tuberculosis*, sebagian besar (sekitar 95%) resistensi rifampin disebabkan oleh mutasi dalam wilayah 81-bp gen

rpoB (kodon 507 hingga 533), yang dikenal sebagai *Rifampicin Resistance-Determining Region* (RRDR). Mutasi D516V, H526Y, H526D, dan S531L adalah yang paling sering terkait dengan resistensi rifampin tingkat tinggi pada *M. tuberculosis*, meskipun peran beberapa mutasi lain di wilayah RRDR⁹¹ masih memerlukan konfirmasi lebih lanjut (Nakata et al., 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nakata et al. (2012), menunjukan bahwa kodon 516, 526, 531, dan 533 pada gen *rpoB* *M. leprae* diketahui sebagai kodon yang bertanggung jawab atas resistensi terhadap rifampin.

Salah satu temuan krusial dari penelitian ini adalah kontradiksi antara hasil PCR *pra-gene* *M. leprae* yang menunjukkan negatif pada ketujuh sampel (ditandai dengan tidak ditemukannya pita *band* pada 531 bp yang berfungsi sebagai penanda positif *M. leprae*), namun pada analisis MAS-PCR, gen *rpoB* terdeteksi pada seluruh sampel, ditandai dengan munculnya pita *band* pada 531 bp.

Perbedaan sensitivitas metode PCR turut berpengaruh dalam kejadian diatas, Meskipun *M. leprae pra-gene* PCR diharapkan dapat mendeteksi keberadaan DNA *M. leprae* secara umum, sensitivitasnya mungkin lebih rendah dibandingkan dengan metode MAS-PCR yang dioptimalkan secara spesifik untuk amplifikasi gen *rpoB*. Hal ini bisa terjadi jika PCR *pra-gene* menargetkan gen tunggal atau memiliki efisiensi amplifikasi yang lebih rendah, sementara MAS-PCR *rpoB* dirancang untuk memiliki sensitivitas tinggi (melalui penggunaan

primer yang sangat spesifik atau kondisi reaksi yang dioptimalkan). Banyak metode deteksi *M. leprae* yang sensitif seperti RFLP (*Restriction Fragmen Length Polymorphism*) karena salinannya yang banyak per genom bakteri, yang dapat meningkatkan batas deteksi (Mohanty et al., 2020). Jika PCR *pra-gene* tidak menargetkan sekuens repetitif atau memiliki hambatan amplifikasi, hasilnya bisa negatif meskipun DNA *M. leprae* hadir dalam konsentrasi rendah. Meskipun demikian, deteksi gen *rpoB* pada seluruh sampel membuktikan keberadaan DNA *M. leprae* dalam sampel yang diuji. Hal ini menggaris bawahi pentingnya validasi silang metode PCR dan pertimbangan terhadap batas deteksi serta potensi inhibisi, terutama dalam konteks diagnostik molekuler penyakit infeksi dengan beban patogen yang bervariasi.

MAS-PCR adalah metode molekuler yang memanfaatkan beberapa pasang primer spesifik dalam satu reaksi untuk mengamplifikasi berbagai fragmen DNA target secara simultan. Keunggulan utama MAS-PCR dibandingkan PCR konvensional adalah efisiensi biaya, persiapan, dan waktu analisis. MAS-PCR juga mengatasi keterbatasan kultur mikrobiologi, seperti waktu yang lama, biaya tinggi, risiko kontaminasi, dan kemampuan untuk mengidentifikasi lebih dari satu patogen (Tajbakhsh et al., 2018).

Analisis MAS-PCR menunjukkan pola mutasi yang spesifik: satu sampel (14,3%) mengalami mutasi pada tiga kodon target utama yaitu

516 (170 bp), 526 (185 bp), dan 531 (218 bp), sementara enam sampel lainnya (85,7%) mengalami mutasi pada dua kodon target, yaitu 516 (170 bp) dan 531 (218 bp). Munculnya pita *band* pada kodon target 526 (185 bp) ¹⁹ pada sampel 1, 3, 4, 5, 6, dan 7 menunjukkan tidak terjadinya mutasi pada kodon ini, sedangkan pada sampel 2, tidak adanya pita *band* pada daerah kodon target 526 menunjukkan terjadinya mutasi. Sebaliknya, pada kodon target 516 (170 bp) dan 531 (218 bp), tidak ditemukannya pita *band* secara konsisten pada semua sampel mengindikasikan adanya mutasi pada kedua kodon tersebut.

Deteksi mutasi *rpoB* pada 100% sampel pasien kusta baru yang sedang menjalani MDT merupakan temuan yang sangat penting dan mengkhawatirkan. Rifampisin adalah obat bakterisidal yang paling poten dalam regimen MDT kusta, bahkan dosis tunggal 1.200 mg dapat secara signifikan mengurangi viabilitas basil pada manusia (Deviana, 2019). Resistensi terhadap rifampisin dapat menyebabkan kegagalan pengobatan, relaps penyakit, dan memfasilitasi penularan strain *M. leprae* yang resisten di komunitas (Siskawati, 2013).

Mutasi pada gen *rpoB* berkaitan erat dengan perubahan genotipe yang berdampak langsung terhadap fenotipe resistensi terhadap rifampisin. Gen *rpoB* mengkode subunit β dari enzim RNA polymerase. Mutasi yang terjadi pada wilayah RRDR dapat mengubah struktur protein yang menjadi target pengikatan rifampisin. Perubahan

ini menyebabkan antibiotik tidak lagi efektif menghambat sintesis RNA bakteri (Cambau et al., 2018). Beberapa mutasi seperti S531L (TCG → TTG; serin menjadi leusin), D516N (GAT → AAT; aspartat menjadi asparagin), dan H526Y (CAC → TAC; histidin menjadi tirosin) terbukti meningkatkan nilai MIC rifampisin secara signifikan, menandakan resistensi tingkat tinggi (Nakata et al., 2012). Dalam penelitian ini, hasil elektroforesis menunjukkan keberadaan pita DNA spesifik pada sampel uji yang mengindikasikan adanya mutasi pada gen *rpoB*, sehingga memperkuat dugaan bahwa mutasi pada kodon-kodon tersebut turut terjadi pada isolat penderita kusta yang diteliti dan berpotensi berkorelasi dengan resistensi terhadap rifampisin.

Prevalensi resistensi rifampisin pada *M. leprae* bervariasi secara geografis. Beberapa penelitian melaporkan insiden resistensi rifampisin yang lebih rendah pada kasus baru, dan lebih sering terjadi pada kasus relaps atau *default* terapi (Maladan et al., 2018). Namun, temuan ini menunjukkan kemungkinan tinggi adanya resistensi primer di populasi yang diteliti. Resistensi obat merupakan komplikasi signifikan dalam penanganan kusta. Resistensi ini terbagi menjadi ¹⁸ primer dan sekunder. Resistensi primer terjadi ketika strain *M. leprae* resisten muncul secara spontan akibat mutasi pada gen *rpoB* dalam populasi bakteri yang belum terpapar obat, yang pada akhirnya akan menggantikan strain *wild-type*. Sementara itu, resistensi sekunder diduga timbul akibat monoterapi dapson dan rifampisin yang tidak

teratur, dosis yang tidak adekuat, atau kesalahan dalam konsumsi obat dan tipe resistensi ini berisiko menjadi resistensi primer di kemudian hari (Oktarina & Marissa, 2023). Faktor-faktor seperti transmisi dari pasien yang resisten, kurangnya kepatuhan pengobatan di masa lalu (meskipun ini kasus baru, transmisi dari orang yang tidak patuh bisa menjadi sumber), atau bahkan kemungkinan mutasi spontan yang dipilih secara genetik (meskipun lebih jarang pada tingkat populasi) dapat berkontribusi pada fenomena ini (Darmawan & Rusmawardiana, 2020).

Temuan bahwa sampel 2 menunjukkan mutasi pada kodon 526 sementara sampel lain tidak (tetapi tetap memiliki mutasi pada 516 dan 531) menyoroti variasi genetik dalam pola resistensi *M. leprae*. Pola mutasi spesifik ini penting untuk memahami mekanisme resistensi dan dapat menjadi dasar untuk pengembangan diagnostik yang lebih tepat di masa depan.

Terjadinya mutasi *missense* pada posisi asam amino 438, 441, 451, 456, dan 458, atau insersi nukleotida antara posisi 439 dan 440, telah terbukti menyebabkan resistensi rifampisin. Namun, mutasi yang teramati pada posisi lain, memerlukan pelaporan yang hati-hati dan harus dikonfirmasi oleh mikrobiolog dari laboratorium referensi internasional (WHO, 2017).

Penanganan dan pengendalian penyakit kusta membutuhkan pemahaman terhadap profil pasien, termasuk distribusi berdasarkan

jenis kelamin, usia, dan klasifikasi tipe kusta, sangat esensial untuk menguraikan dinamika penularan dan beban penyakit di suatu populasi (Amaliah et al., 2022).

⁹⁷ Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 4.1, profil penderita kusta yang menjadi sampel penelitian ini menunjukkan karakteristik demografi dan klinis yang relevan dengan epidemiologi kusta. Sebanyak 4 orang (57,1%) penderita ⁹⁹ adalah laki-laki dan 3 orang (42,9%) adalah perempuan, yang sejalan dengan temuan Hambridge et al. (2021) yang menunjukan ¹¹⁴ penderita berjenis kelamin laki-laki lebih tinggi dibanding perempuan, sesuai juga dengan penelitian yang ³⁹ dilakukan oleh Maymone et al. (2020) yang menyatakan bahwa jenis kelamin laki-laki lebih cenderung beresiko terinfeksi *M. leprae*. Rasio perempuan terhadap laki-laki adalah 1:2. Jumlah kasus perempuan yang lebih sedikit dikaitkan dengan mobilitas yang terbatas dan peluang kontak yang lebih rendah (Alrehaili, 2023).

Dari sisi usia, sampel didominasi oleh individu dewasa (5 orang, 71,4%). Namun keberadaan kasus pada anak berusia 10-14 tahun (2 orang, 28,6%) menjadi indikator adanya transmisi aktif *M. leprae* di komunitas (Darmawan & Rusmawardiana, 2020). ¹⁷ Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Amaliah et al. (2022) menunjukkan prevalensi tertinggi pada individu usia dewasa dan produktif. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh tingginya tingkat pergaulan dan

aktivitas sosial pada fase usia tersebut, yang meningkatkan potensi paparan terhadap infeksi, termasuk kusta.

Klasifikasi tipe kusta menunjukkan dominasi tipe pausibasiler (PB) 71,4% lebih banyak dibandingkan tipe multibasiler (MB) 28,6%, dimana tidak ¹⁷ sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Amaliah et al. (2022) yang menampilkan persentase tipe MB yang lebih banyak. Hal ini dapat terjadi dengan penanganan yang baik terhadap pasien, yang dapat menurunkan angka kasus pada wilayah tersebut.

Semua penderita adalah penderita kusta baru, dengan sebagian 5 orang (71,4%) berada pada interval pengobatan 1-6 bulan dan 2 orang (28,6%) pada 7-12 bulan. Status sebagai kasus baru ini sangat signifikan karena deteksi mutasi gen *rpoB* pada kelompok ini dapat mengindikasikan resistensi terhadap rifampisin, suatu fenomena yang penting untuk diwaspadai dalam program pengendalian kusta (Maladan et al., 2018).

¹² Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu, jumlah sampel yang terbatas, metode MAS-PCR hanya mampu mendeteksi mutasi spesifik yang sesuai dengan desain primer, sehingga kemungkinan mutasi lain di luar target dapat terlewat dan juga tidak menggunakan metode sekuensing yang merupakan standar emas dalam identifikasi mutasi genetik. Oleh karena itu, interpretasi hasil perlu dilakukan secara hati-hati, dan disarankan adanya studi lanjutan dengan pendekatan yang lebih menyeluruh.

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa terjadi mutasi gen *rpoB* pada kodon target yang digunakan, yaitu kodon 516, 526 dan 531, dimana deteksi mutasi gen *rpoB* pada semua sampel penderita kusta yang diteliti, bahkan pada kasus baru yang sedang menjalani MDT, merupakan indikasi kuat adanya resistensi terhadap rifampisin. Temuan ini menyoroti perlunya pemantauan resistensi obat secara rutin pada pasien kusta, terutama di area dengan prevalensi tinggi atau di mana ada indikasi kegagalan pengobatan. Pengawasan resistensi molekuler sangat penting untuk memandu pemilihan regimen terapi yang efektif dan mencegah penyebaran *M. leprae* yang resisten.

B. Saran

1. Saran kepada peneliti selanjutnya yaitu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengkonfirmasi status resistensi ini melalui metode lain seperti pengujian kerentanan obat *in vitro* (jika memungkinkan) atau *whole genome sequencing*.
2. Terhadap klinisi, sebagai informasi terkait hasil penelitian untuk dapat dilanjutkan pemeriksaan lebih lanjut dan dapat menggunakan PCR sebagai penegakan diagnosa untuk mendeteksi kemungkinan terjadinya resistensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alrehaili, J. (2023). Leprosy Classification, Clinical Features, Epidemiology, and Host Immunological Responses: Failure of Eradication in 2023. *Cureus*, 15(9), 1–19. <https://doi.org/10.7759/cureus.44767>
- Amaliah, R., Yuniati, L., Roem, N. R., Vitayani, S., & Setiawati, S. (2022). Karakteristik Penderita Lepra (Kusta) yang Menjalani Pengobatan Rawat Jalan di Puskesmas Tamalate Makassar Periode 2018-2021. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 3(5), 357–365.
- Cambau, E., Saunderson, P., Matsuoka, M., Cole, S. T., Kai, M., Suffys, P., Rosa, P. S., Williams, D., Gupta, U. D., Lavania, M., Cardona-Castro, N., Miyamoto, Y., Hagge, D., Srikantam, A., Hongseng, W., Indropo, A., Vissa, V., Johnson, R. C., Cauchoux, B., ... Nanba, Y. (2018). Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009–15. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(12), 1305–1310. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.02.022>
- Cambau, E., & Williams, D. L. (2023). Anti-Leprosy Drugs: Modes of Action and Mechanisms of Resistance in *Mycobacterium leprae*. In *International textbook of leprosy* (Issue 7, pp. 1–33). <https://doi.org/10.1489/itl.5.2>
- Chhabra, S., Narang, T., Sahu, S., Sharma, K., Shilpa, S., Sharma, A., Jain, S., Singh, I., Yadav, R., Kaur, M., Sharma, R., Nadeem, M., Pandey, P., Minz, R. W., & Dogra, S. (2023). High frequency of ofloxacin resistance patterns of *Mycobacterium leprae* from India: An indication to revisit second line anti-leprosy treatment regimen. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 35, 262–267. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.10.006>
- Chia, B. S., Lanzas, F., Rifat, D., Herrera, A., Kim, E. Y., Sailer, C., Torres-Chavolla, E., Narayanaswamy, P., Einarsson, V., Bravo, J., Pascale, J. M., Ioerger, T. R., Sacchetti, J. C., & Karakousis, P. C. (2012). Use of multiplex allele-specific polymerase chain reaction (MAS-PCR) to detect multidrug-resistant tuberculosis in Panama. *PLoS ONE*, 7(7), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040456>
- Darmaputra, I. G. N., & Ganeswari, P. A. D. (2018). Peran sitokin dalam kerusakan saraf pada penyakit kusta: Tinjauan Pustaka. *Intisari Sains Medis*, 9(3), 92–100. <https://doi.org/10.15562/ism.v9i3.328>

- Darmawan, H., & Rusmawardiana, R. (2020). Sumber dan cara penularan *Mycobacterium leprae*. *Tarumanagara Medical Journal*, 2(1), 186–197. <https://doi.org/10.24912/tmj.v2i2.7860>
- Deviana, R. (2019). Rifampisin Ofloksasin Minosiklin (ROM) sebagai Terapi Alternatif Morbus Hansen. *Cermin Dunia Kedokteran*, 46, 24–27.
- GUNAWAN, H., Achdiat, P. A., & Rahardjo, R. M. (2018). Tingkat pengetahuan penyakit kusta dan komplikasinya pada siswa sekolah menengah atas negeri Jatinangor. *Dharmakarya*, 7(2), 101–105. <https://doi.org/10.24198/dharmakarya.v7i2.19379>
- Hadijah, S. (2012). *DETEKSI RESISTENSI INH DENGAN MAS-PCR PADA BILASAN LAMBUNG PASIEN ANAK DI MAKASSAR*.
- Hambridge, T., Chandran, S. L. N., Geluk, A., Saunderson, P., & Richardus, J. H. (2021). *Mycobacterium leprae* transmission characteristics during the declining stages of leprosy incidence: A systematic review. In *PLoS Neglected Tropical Diseases* (Vol. 15, Issue 5). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009436>
- Hidayat, M. (2020). *PENELITIAN BIOMEDIK DAN ILMU KEDOKTERAN*. Penerbit Alfabeta.
- Idris, F., & Mellaratna, W. P. (2023). Morbus Hansen (Kusta). *GALENICAL : Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Mahasiswa Malikussaleh*, 2(6), 11. <https://doi.org/10.29103/jkkmm.v2i6.11582>
- Kemendes, R. (2022). Laporan Kinerja 2021 Direktorat Jenderal P2P. *Kemendes Kesehatan RI*, 85910031(021), 1–5.
- Kemendes RI. (2020). Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tatalaksana Kusta. *Kemendes Kesehatan RI*, 106. <https://kbbi.kemdikbud.go.id/entri/Tata Laksana>
- Kemendes RI. (2023). Laporan Kinerja Direktorat Pencegahan Dan Pengendalian Penyakit Menular Tahun 2023. *Kemendes Kesehatan Republik Indonesia*, 1–119.
- Kimta, N., Majdalawieh, A. F., Nasrallah, G. K., Puri, S., Nepovimova, E., Jomova, K., & Kuča, K. (2024). Leprosy: Comprehensive insights into pathology, immunology, and cutting-edge treatment strategies, integrating nanoparticles and ethnomedicinal plants. *Frontiers in Pharmacology*, 15(May), 1–24. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1361641>

- Kshirsagar, S. B., Takarkhede, S., Jha, A. G., Jain, R. P., Jadhav, V. S., & Jadhav, D. D. (2020). Molecular detection of mutations in *rpoB* gene involved in rifampin resistance in leprosy patients from Côte d'Ivoire. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 04(03), 59–76. <https://doi.org/10.30574/wjbphs>
- Li, X., Li, G., Yang, J., Jin, G., Shao, Y., Li, Y., Wei, P., & Zhang, L. (2022). Drug Resistance (Dapsone, Rifampicin, Ofloxacin) and Resistance-Related Gene Mutation Features in Leprosy Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20). <https://doi.org/10.3390/ijms232012443>
- Li, X., Ma, Y., Li, G., Jin, G., Xu, L., Li, Y., Wei, P., & Zhang, L. (2024). Leprosy: treatment, prevention, immune response and gene function. *Frontiers in Immunology*, 15(February), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1298749>
- Lockwood, D. N. J. (2019). Treatment of Leprosy Treatment. *The International Textbook of Leprosy*, 1–17. <https://www.internationaltextbookofleprosy.org/chapter/treatment>
- Maladan, Y., Lestari, C. S. W., Tanjung, R., Cahyani, V. D., & Rokhmad, M. F. (2018). Molecular Detection Mutation of *rpoB* Gene *Mycobacterium leprae* in Relapse and Default of Leprosy Patient in Jayapura City, Papua. *Health Science Journal of Indonesia*, 9(1), 31–36. <https://doi.org/10.22435/hsji.v9i1.462>
- Maymone, M. B. C., Laughter, M., Venkatesh, S., Dacso, M. M., Rao, P. N., Stryjewska, B. M., Hugh, J., Dellavalle, R. P., & Dunnick, C. A. (2020). Leprosy: Clinical aspects and diagnostic techniques. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 83(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.12.080>
- Mohanty, P. S., Naaz, F., Bansal, A. K., Kumar, D., Sharma, S., Arora, M., Singh, H., Katara, P., Soni, N., Patil, S. A., & Singh, M. (2020). Molecular detection of *Mycobacterium leprae* using RLEP-PCR in post elimination era of leprosy. *Molecular Biology Research Communications*, 9(1), 17–22. <https://doi.org/10.22099/mbrc.2020.35658.1464>
- Mursyidin, D. H. (2024). *Teknik Dasar Biologi Molekuler (I)*. ULM Press.
- Mustopa, R., Silviani, Y., Bangun, S. R., Wijayanti, D. R., Artanti, D., Dwiyantri, R. D., Latifah, I., & Lestari, E. (2014). *MODUL PRAKTIKUM BAKTERIOLOGI DASAR*.

- Nakata, N., Kai, M., & Makino, M. (2012). Mutation analysis of mycobacterial *rpoB* genes and rifampin resistance using recombinant *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(4), 2008–2013. <https://doi.org/10.1128/AAC.05831-11>
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. (2017). Clofazimine. *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548658/>
- Oeleu, M., Purnawan, S., & Sir, A. B. (2021). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Keberhasilan Pengobatan Pasien Kusta di Puskesmas Maubesi. *Media Kesehatan Masyarakat*, 4(1), 1–17. <https://doi.org/10.35508/mkm>
- Oktarina, C., & Marissa, M. (2023). Diagnosis and Management of Leprosy Relapse. *Media Dermato-Venereologica Indonesia*, 49(2), 76–131. <https://www.researchgate.net/publication/368654751>
- Prakoeswa, C. R. S., Lubis, R. S., Anum, Q., Argentina, F., Menaldi, S. L., Gunawan, H., Yuniati, R., Mulianto, N. R., Siswati, A. S., Widasmara, D., Rusyati, L. M. M., Mamujaja, E. H., Muchtar, V., Agusni, R. I., Kusumaputra, B. H., Alinda, M. D., & Listiawan, M. Y. (2022). Epidemiology of Leprosy in Indonesia: a Retrospective Study. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin*, 34(1), 29–35. <https://doi.org/10.20473/bikk.v34.1.2022.29-35>
- Puspitaningrum, R., Adhiyanto, C., & Solihin. (2018). Genetika Molekuler dan Aplikasinya. *Genetika Molekuler Dan Aplikasinya*, 75.
- Sugawara-Mikami, M., Tanigawa, K., Kawashima, A., Kiriya, M., Nakamura, Y., Fujiwara, Y., & Suzuki, K. (2022). Pathogenicity and virulence of *Mycobacterium leprae*. *Virulence*, 13(1), 1985–2011. <https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2141987>
- Tajbakhsh, A., Ghasemi, F., Mirbagheri, S. Z., Heravi, M. M., Rezaee, M., & Meshkat, Z. (2018). Investigation of the *rpoB* Mutations Causing Rifampin Resistance by Rapid Screening in *Mycobacterium Tuberculosis* in North-East of Iran. 13(4), 429–437.
- Walker, S. L., Withington, S. G., & Lockwood, D. N. J. (2014). 41 - Leprosy (J. Farrar, P. J. Hotez, T. Junghanss, G. Kang, D. Lalloo, & N. J. B. T.-M. T. I. D. (Twenty-third E. White (eds.); pp. 506-518.e1). W.B. Saunders. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5101-2.00042-X>
- WHO. (2017). *A guide for surveillance of antimicrobial resistance in leprosy: 2017 update*.

- World Health Organization. (2024). Global leprosy (Hansen disease) update, 2023: Elimination of leprosy disease is possible – Time to act! *Weekly Epidemiological Record Relevé Épidémiologique Hebdomadaire*, 99(37), 501–521.
<https://reliefweb.int/report/world/weekly-epidemiological-record-wer-13-september-2024-vol-99-no-37-pp-497-522-enfr>
- Yusuf, Z. K., Roswita Paramata, N., Y. Dulahu, W., Mursyidah, A., Mansye Soelis, Y., & B. Pomalango, Z. (2018). Kupas Tuntas Penyakit Kusta. In *Republik Indonesia Kementerian Hukum Dan Hak Asasi Manusia* (Vol. 18, Issue 6).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kode Etik



KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46, Rappocini, Makassar
E-mail: kepkpolkesmas@poltekkes-mks.ac.id



KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 0457/M/KEPK-PTKMS/III/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by :

Pencetus Utama : JESSY JULIO TUHULERUW
Principal in Investigator :

Nama Institusi : Alih Jenjang Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar
Name of the Institution :

Dengan Judul :
Title :

**"DETEKSI MUTASI GEN *rrpoB* PADA PENDERITA KUSTA TERAPI MDT (MULTI DRUGS THERAPY)
METODE MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC POLYMERASE CHAIN REACTION (MAS-PCR) "**

**"DETECTION MUTATION OF *rrpoB* GENE IN LEPROSY PATIENT MDT (MULTI DRUGS THERAPY) THERAPY
MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC POLYMERASE CHAIN REACTION (MDT) METHOD "**

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu: 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Penerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 24 Maret 2025 sampai dengan tanggal 24 Maret 2026.

Declaration of ethics applies during the period March 24, 2025 until March 24, 2026.




Ketua dan Ketua Person,
Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar

Lampiran 2. *Informed Consent*

LEMBAR INFORMED CONSENT (PERSETUJUAN RESPONDEN)

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :

Umur :

Jenis Kelamin : (Laki-Laki/ Perempuan)*

Alamat :

Sudah mendapatkan keterangan secukupnya dari peneliti serta mengetahui manfaat dari penelitian yang berjudul "Deteksi Mutasi Gen *rpoB* pada Penderita Kusta Terapi MDT (*Multi Drugs Therapy*) Metode *Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)*" maka saya menyatakan (bersedia/ tidak bersedia)* dilibatkan sebagai sampel dalam penelitian ini. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya tanpa tekanan dari pihak manapun.

Makassar, April 2025

Peneliti

Responden

(Jessy Julio Tuhuleruw)

()

Keterangan :

(*) Coret yang tidak perlu.

Lampiran 3. Kuisioner Penelitian

KUISIONER PENELITIAN

IDENTITAS PASIEN

Kode Sampel : _____ (diisi oleh peneliti)
 Umur : _____ Tahun
 Jenis Kelamin : ☐ Laki Laki ☐ Perempuan
 Riwayat Kusta : ☐ Baru ☐ Relaps ☐ Kambuh Setelah Putus Obat
 Jenis Kusta : ☐ PB ☐ MB
 Lama Terapi MDT : _____ Bulan

RIWAYAT PENGOBATAN MDT

Menggunakan MDT Sesuai Dosis ☐ Ya ☐ Tidak
 Pernah Putus Pengobatan ☐ Ya ☐ Tidak
 Kembali Kambuh Setelah Terapi ☐ Ya ☐ Tidak
 Efek Samping Obat ☐ Ya ☐ Tidak

INFORMASI TAMBAHAN

1. Apakah responden mengetahui cara penularan penyakit ?
☐ Ya
☐ Tidak
2. Apakah responden mengetahui bahaya jika putus pengobatan ?
☐ Ya
☐ Tidak
3. Apakah responden memiliki keluarga atau tinggal serumah dengan penderita lain ?
☐ Ya
☐ Tidak
4. Apakah responden rutin kontrol selama masa terapi ?
☐ Ya
☐ Tidak
5. Apakah ada pendamping minum obat ?
☐ Ya
☐ Tidak
6. Jika pernah putus berobat, berapa lama berhenti ? dan kenapa berhenti ?

Lampiran 4. Surat Izin Penelitian ke PTSP

 Kemenkes Poltekkes Makassar	Kementerian Kesehatan Direktorat Jenderal Sumber Daya Manusia Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46 Ranta Bontoleng Makassar, Sulawesi Selatan 90222 telp: 0411 54978033 http://portal.pptkkes.makassar.go.id
Nomor : PP.08.02/F.XII.11.6/173 /2025	25 Maret 2025
Lampiran : -	
Perihal : Surat Izin Penelitian	
Kepada Yth Kepala Dinas Penanaman Modal dan Pelayanan Terpadu satu Pintu Cq. Bidang Penyelenggaraan Pelayanan Perizinan Di- Makassar	
Sehubungan dengan penyelesaian semester akhir untuk Penyusunan Skripsi, maka Mahasiswa kami ingin melakukan Penelitian sebagai salah satu persyaratan dalam mengikuti Ujian Akhir Program Prodi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar, maka mohon kesediaan Bapak/Ibu kiranya Mahasiswa kami di bawah ini :	
Nama : Jessy Julio Tuhuleruw	
NIM : PO.71.4.203.23.2.018	
Alamat : Jl Rappocini Raya Lt. 6	
Judul Penelitian : "Deteksi Mutasi Gen rpoB Pada Penderita Kusta Terapi MDT (Multi Drugs Therapy) Metode Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)"	
Agar kiranya dapat diberikan izin untuk melakukan Pengambilan Sampel dan Penelitian di Kampung Kusta Dangko Kecamatan Tamalate dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih	
 Ketua Jurusan, Rahman S.Si, M.Si NIP. 19641231 198603 1 032	
Tembusan : Kepada Yth. 1. Yang Bersangkutan 2. Arsip	

Lampiran 51. Surat Izin Penelitian ke Departemen Mikrobiologi UNHAS

	Kementerian Kesehatan Direktorat Jenderal Sumber Daya Manusia Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 40 Banta Bantaeng Makassar, Sulawesi Selatan 90222 Telp. (0271) 84978033 Email: info@poltekkes-nkes.ac.id
25 Maret 2025	
Nomor : PP.08.02/F.XII.11.6/170 /2025	
Lampiran : -	
Perihal : Surat Izin Penelitian	
Kepada Yth Kepala Departemen Mikrobiologi FK UNHAS Di, Makassar	
Sehubungan dengan penyelesaian semester akhir untuk Penyusunan Skripsi, maka Mahasiswa kami ingin melakukan Penelitian sebagai salah satu persyaratan dalam mengikuti Ujian Akhir Program Prodi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar, maka mohon kesediaan Bapak/Ibu kiranya Mahasiswa kami di bawah ini :	
Nama :	Jessy Julio Tahuleruw
NIM :	PO.71.4.203.23.2.018
Alamat :	Jl Rappocini Raya Lr. 6
Judul Penelitian :	"Deteksi Mutasi Gen rpoB Pada Penderita Kusta Terapi MDT (Multi Drugs Therapy) Metode Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)"
Agar kiranya dapat diberikan izin untuk melakukan Penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih	
Acc dr. Yuvalliy 25/03/2025  Ketua Jurusan, Rahman S. Si, M.Si NIP. 49641231 198603 1 032	
Tembusan : Kepada Yth. 1. Yang Bersangkutan 2. Arsip	

Lampiran 6. Surat Izin Penelitian dari Kecamatan

	PEMERINTAH KOTA MAKASSAR KECAMATAN TATALATE Jl. Dempo Tanjung Bunga Utara No.181 Telp. 0411 279219 Email : kecamatantatalate@ gmail.com Kota Makassar Kode Pos 90224 Website : www.kotal Makassar.com
Makassar, 26 Maret 2025	
Nomor	: 400.000.9.2/013/KT/III/2025
Lampiran	: -
Perihal	: Izin Penelitian
Yth. Lurah Belang Baru di Makassar	
Dengan Hormat	
Menindaklanjuti Surat dari Dinas Penanaman Modal dan Pelayanan Terpadu Satu Pintu Nomor 6757/s.01/ptsp/2025 tanggal 26 Maret 2025 tentang Surat Keterangan Penelitian maka disampaikan kepada Bapak/Ibu bahwa :	
Nama	: JESSY JULIO TUHULERUW
NIM /Jurusan	: PO.71.4.203.23.2.018
Pekerjaan	: MAHASISWA (D4)
Alamat	: Jl. Wijaya Kusuma Raya No. 14 Makassar
Judul	: DETEKSI MUTASI GEN rpoB PADA PENDERITA KUSTA TERAPI MDT (MULTI DRUGS THERAPY) METODE MULTIPLEX ALLELE- SPECIFIC POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)
Bermaksud melaksanakan penelitian pada wilayah kerja Bapak/Ibu sejak tanggal 26 Maret 2025 sampai dengan 26 Juni 2025 .	
Sehubungan dengan maksud di atas diharapkan agar peneliti tersebut dapat diberikan kesempatan untuk melaksanakan penelitiannya sesuai dengan peraturan yang berlaku.	
Demikian disampaikan, atas kehadiran dan kesediannya kami ucapkan banyak terimakasih.	
 an. Camat Tatalate Pt Kepala Seksi Pemberdayaan Masyarakat dan Kesejahteraan Sosial, ARDIANSAH.S.Kom..M.A.P Pengant. Cak : Penata, III/C NIP : 19851024 200901 1 001	
PRINTED BY KEMURAHAN	

3

Lampiran 7. Surat Izin Penelitian dari Kelurahan

**PEMERINTAH KOTA MAKASSAR**
KECAMATAN TAMALATE
Jl. Duren Tunggal Rango Utara No.181 Telp. 0411-879249 Email : kecamatantamalte@gmail.com Kota Makassar
Kode Pos 90228
Website : www.kecamatantamalte.com

Makassar, 26 Maret 2025

Nomor : 400.000.9.2/013/KT/11/2025
Lampiran : -
Perihal : **Izin Penelitian**

Yth. **Lurah Balang Baru**
di
Makassar

Dengan Hormat

Menindaklanjuti Surat dari Dinas Penanaman Modal dan Pelayanan Terpadu Satu Pintu Nomor 6767/s.01/piso/2025 tanggal 26 Maret 2025 tentang Surat Keterangan Penelitian maka disampaikan kepada Bapak/Ibu bahwa :

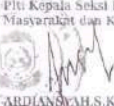
Nama : **JESSY JULIO TUHULERUW**
NIM / Jurusan : **PQ.71.4.2/03.23.2.018**
Pekerjaan : **MALIASI(SWA) (D4)**
Alamat : **Jl. Wijaya Kusuma Raya No. 14 Makassar**
Judul : **DETEKSI MUTASI GEN *rpoB* PADA PENDERITA KUSTA TERAPI MDT (MULTI DRUGS THERAPY) METODE MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)**

Bermaksud melaksanakan penelitian pada wilayah kerja Bapak/Ibu sejak tanggal **26 Maret 2025** sampai dengan **26 Juni 2025**.

Sehubungan dengan maksud di atas diharapkan agar peneliti tersebut dapat diberikan kesempatan untuk melaksanakan penelitiannya sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Demikian disampaikan, atas kehadiran dan kesediaannya kami ucapkan banyak terimakasih.

an, Camat Tatalate
Pdt Kepala Seksi Pemberdayaan
Masyarakat dan Kesejahteraan Sosial,


ARDIANSYAH S. Kom. M.A.P
Pangkat, Gol : Pemata, III/C
NIP : 19851024 200901 1 001



SOFYAN, SE
NIP. 19780130 200901 1 003

Lampiran 8. Surat Izin Penelitian PTSP


PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU
Jl. Bougainville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website : <http://simap-new.suiseiprov.go.id> Email : ptsp@suiseiprov.go.id
Makassar 90231

Nomor	: 6757/S.01/PTSP/2025	Kepada Yth.
Lampiran	: -	1. Walikota Makassar
Perihal	: <u>Izin penelitian</u>	2. Rektor Universitas Hasanuddin Makassar

di-
Tempat

Berdasarkan surat Ketua Jurusan Poltekkes Kemenkes Makassar Nomor : PP.08.02/F.XIII.11.6/170/2025 tanggal 25 Maret 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: JESSY JULIO TUHULERUW
Nomor Pokok	: PO 71.4.203.23/2.018
Program Studi	: Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (D4)
Alamat	: Jl. Wijaya Kusuma Raya No. 46 Banta-Bantaeng, Makassar PROVINSI SULAWESI SELATAN

Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara dalam rangka menyusun KARYA TULIS, dengan judul :

" DETEKSI MUTASI GEN *rpoB* PADA PENDERITA KUSTA TERAPI MDT (MULTI DRUGS THERAPY) METODE MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC POLYMERASE CHAIN REACTION (MAS-PCR) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. **26 Maret s/d 26 Juni 2025**

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami **menyetujui** kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 26 Maret 2025

**KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU
SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN**



ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA TINGKAT I
Nip : 19750321 200312 1 008

Terbacaan Yth
1. Ketua Jurusan Poltekkes Kemenkes Makassar di Makassar;
2. *Pertinggal*

Lampiran 9. Surat Pengantar Penelitian HUM-RC

	ADMINISTRASI	FORMULIR 1
	Nomor : 178/05/FR1/2025	Tanggal : 15 Mei 2025
SURAT PENGANTAR PENELITIAN		

Kepada Yth.
Pembimbing/pendamping,
Bapak Syafri S.,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Jessy Julio Tuhuleruw
NIM : P0714203232018
Institusi : Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes
Kemenkes Makassar

Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 15 Mei 2025 s/d Selesai
Jumlah subjek : ± 10 sampel Serum darah
Jenis data : Data Primer

Untuk penelitian dengan judul :

**"Deteksi Mutasi Gen *rpoB* Pada Penderita Kusta Terapi MDT (Multi Drugs Therapy)
Metode Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)"**

Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperiunya. Terima Kasih.

Staf Administrasi,



Catatan : Untuk Guide Services, Proses pengerjaan dilakukan oleh peneliti, Pendamping
hanya mendampingi.

Lampiran 10. Hasil Penelitian



Prosedur Pemeriksaan PCR MH

Referensi Jurnal

- Monitoring of the Efficacy of Multidrug Therapy (MDT) by Polymerase Chain Reaction (PCR) and, Mycobacterium leproe Particle Agglutination (NPAT) Test in Leprosy Patients

1. Alat

- Master PCR (Biomet)
- Gel DOC
- Mini-Electroforeris,
- Sentrifuge,
- Waterbath,
- Laminar Flow,
- BSC type I,
- Micro pipet (1000 μ l, 100 μ l, 20 μ l, 10 μ l),
- Cetakan Agarose,
- Tipi (1000 μ l, 100 μ l, 20 μ l, 10 μ l),
- Tabung eledor,
- Tabung PCR,
- Erlenmeyer,
- Gelasukur.



2. Bahan :

- Sampel,
- Primer

Urutan Primer M. leprae (isa- gene)

Forward : 5' CTCCACCTGAGCCGGCGAT 3'

Reverse : 5' GACTAGCCTGCCAATCG3'

Urutan Primer ipd8 (MAF-PCR)

Forward 1 urutan 518 : 5'-CAG CTG AGC CAA TTC ATG GA-3'

Forward 2 urutan 528 5'-CTG TCG GGG TTG AGG CA-3'

Forward 3 urutan 331 5'-CAG AAG GGC CGACTG TC-3'

Reverse 5'-TTG AGC GCG TAGAC-3'

- Exon PCR (Qi tag Master Mix Green),
- TfTase Free water,
- Agarosa,
- Ethidiumbromida,
- TBE 0.5
- DNA Loader / Marker (100 bp).

3. Prosedur Kerja

A. Ekstraksi DNA (gDNA Extraction H8)

a. Preparasi Sampel Darah

Masukkan 200 μ l sampel darah Serum Plasma Buffycoat. Cairan Tubuh kedalam tabung ependorf 1,5 ml add dengan PBS hingga volumenya 200 μ l. Tambahkan 20 μ l Proteinase K lsk. mix, inkubasi pada suhu 60 °C selama 5 menit.

b. Cell Lysis

Tambahkan 300 μ l GSB Buffer vortex, sentrifusi pada suhu 80 °C selama 20 menit dimana top 5 menit di vortex.



- c. **DNA Binding**
Tambahkan 200 μ l Ethanol-koek selama 10 detik masukkan ke dalam GS Column dalam 2 ml collection Tube. Sentrifuge 14.000 – 16.000 rpm selama 1 menit buang cairan pada collection tube.
- d. **Wash**
Tambahkan 400 μ l W1 Buffer. Sentrifuge 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik, buang cairan pada collection tube. Tambahkan 500 μ l Wash Buffer Sentrifuge 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik Ganti collection tube dengan yang baru, sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 3 menit
- e. **Elution**
Pasatkan GS Column ke tabung ependorf steril, tambahkan 100 μ l Elution Buffer yang sebelumnya telah dipanaskan sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik.
- f. **Buang GS Column**, Cairan yang terdapat pada tabung ependorf merupakan DNA produk yang siap untuk di PCR.

B. Mu PCR

Primer Pragens M Inpras		Primer MAX-PCR M Inpras	
Go Tag Master Mix	: 12,5 μ l	Go Tag Master Mix	: 12,5 μ l
Forward 10 UM	: 0,5 μ l	Forward 1 10 UM	: 0,5 μ l
Reverse 10 UM	: 0,5 μ l	Forward 2 10 UM	: 0,5 μ l
Nuclease Free Water	: 5,0 μ l	Forward 3 10 UM	: 0,5 μ l
DNA Sampel	: 5,0 μ l	Reverse 10 UM	: 0,5 μ l
Total	: 25 μl	Nuclease Free Water	: 3,5 μ l
		DNA Sampel	: 5,0 μ l
		Total	: 25 μl



- C. Running Pragens**
- Cycle 1 sebanyak x 32 siklus
 - Step 1 Suhu 94 °C selama 2 menit (Proses Denaturasi)
 - Step 2 Suhu 55 °C selama 2 menit (Proses Aneling)
 - Step 3 Suhu 72 °C selama 3 menit (Proses extension)
- MAX-PCR**
- D. Gel Elektrofisis**
- Buat gel**
 - Ditimbang 2gr agarose dan ditambahkan 100 ml TBE Buffer 0.5x untuk mendapatkan konsentrasi 2 %
 - Campuran agarose dan TBE Buffer 0.5x dipanaskan hingga larut dan dituangkan ke dalam cetakan gel yang sudah disiapkan dan ditambahi 5 μ l Ethidiumbromida
 - Larutan agarose dituangkan ke dalam cetakan dan dituangkan ke dalam gel.
 - Pembuatan DNA Marker**
 - Sebanyak 25 μ l DNA 100 bp ladder dimasukkan ke dalam tube berisi 1 ml Blue Juice Loading Dye, campurkan untuk marker
 - Label tube dengan menggunakan marker
 - Persiapan Running Elektrofisis**
 - Gel yang telah dibuat dimasukkan ke dalam elektroforesis dan ditambahi larutan TBE 0.5x
 - Sebanyak 8 μ l sample hasil PCR (Kontrol positif Kontrol negatif, sampel) ditambahi dengan 2 μ l Blue Juice Loading Dye (tanpa marker), dicampurkan dan dimasukkan ke dalam sumbu amur gel sebanyak 10 μ l.



- Pada Lubang pertama tambahkan 10 μ l DNA ladder 100 bp dan masukkan ke dalam sumbu di dalam control positif

4. Running Electrophoresis

- Electrophoresis dilakukan dengan katoda (-) negatif (kathode) dan anoda (+) positif (anode) pada 100 A dan 60 menit
- Setelah selesai, keluarkan pita yang telah berlak. Apabila pita sejajar dengan control positif, berarti hasil positif.

5. Prosedur Kerja Gel Doc

Cara menggunakan alat Gel Doc dibagi menjadi tiga tahap, yaitu :

1. Menyalakan Alat Gel Doc
2. Mengatur posisi gel
3. Mengatur gambar
4. Save dan Print gambar
5. Menyalakan Alat Gel Doc

Menyalakan Gel Doc dengan menekan tombol ON pada bagian belakang sebelah kiri alat.

Nyalakan komputer

Buka software Quantity One dengan cara Double Klik pada ikon Quantity One

Pilih Gel Doc XR dari menu File



7. Mengatur Posisi Gel

Pintu alat Gel Doc dibuka

Tekan tombol Exit White (On) jika diperlukan/optional

Letakkan Gel pada bagian tengah kemudian pintu alat ditutup

Isi, zoom, dan focus diatur dengan mouse ke layar monitor pada software Quantity One

Pintu alat dibuka kembali dan posisi gel diatur kembali jika diperlukan

8. Mengatur Image

Setelah pengaturan gel selesai, Tekan tombol Trans UV (On) Pada kondisi ini, lampu UV akan mati secara otomatis apabila pintu dibuka kecuali tombol Hot di tekan

Pilih Auto Expose apabila ingin mengambil gambar secara otomatis atau pilih Manual expose apabila ingin mengambil gambar manual dengan menekan atau menurunkan waktu exposure (Exposure Time)

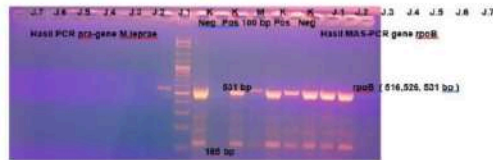
Apabila gambar yang diinginkan sudah terlihat dengan baik dan jelas, Klik Freeze

URLA memberikan tautan pada gambar, yaitu Annotate

5. Save dan Print Gambar

Setelah selesai di edit, kemudian gambar dapat di save dan kemudian klik Print untuk mendapatkan hasil dalam bentuk file.

E. Gambar Hasil Elektroforesis



No	Nama Pasien	Kode Lab	Hasil PCR pva-gene M.leprae	Hasil MAS-PCR				Kesimpulan Hasil
				rpoB	rpoB codon 516 (218 bp)	rpoB codon 526 (185 bp)	rpoB codon 531 (170 bp)	
1		J.1	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Negatif	Tidak ditemukan DNA dari M.leprae. Ditanya primer yg digunakan yaitu primer pva-gene-uruk M.leprae dengan urutan Primer berdasarkan referensi jurnal : Monitoring of the Efficacy of Multidrug Therapy (MDT) by Polymerase Chain Reaction (PCR) and Mycobacterium leprae Particle Agglutination (MLPA) Test in Leprosy Patients. Dari identifikasi DNA dari gene rpoB codon 516 dengan urutan primer berdasarkan referensi jurnal : Investigation of the rpoB Mutations Causing Rifampin Resistance by Rapid Screening in Mycobacterium Tuberculosis in North-East of Iran.
2		J.2	Negatif	Positif	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak ditemukan DNA dari M.leprae. Ditanya primer yg digunakan yaitu primer pva-gene-uruk M.leprae dengan urutan Primer berdasarkan referensi jurnal : Monitoring of the Efficacy of Multidrug Therapy (MDT) by Polymerase Chain Reaction (PCR) and Mycobacterium leprae



								Particle Agglutination (MLPA) Test in Leprosy Patients Din terdistribusi DNA dari <i>gene rpoB</i> dan <i>isi ada mutasi</i> dengan urutan primer berdasarkan referensi jurnal : Investigation of the <i>rpoB</i> Mutations Causing Rifampin Resistance by Rapid Screening in Mycobacterium Tuberculosis in North-East of Iran
3		J.3	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Negatif	Tidak ditemukan DNA dari <i>M. leprae</i> Demam primer yg digunakan yaitu primer <i>genom</i> untuk <i>M. leprae</i> dengan urutan Primer berdasarkan referensi jurnal : Monitoring of the Efficacy of Multidrug Therapy (MDT) by Polymerase Chain Reaction (PCR) and, Mycobacterium leprae Particle Agglutination (MLPA) Test in Leprosy Patients Din terdistribusi DNA dari <i>gene rpoB</i> dengan urutan primer berdasarkan referensi jurnal : Investigation of the <i>rpoB</i> Mutations Causing Rifampin Resistance by Rapid Screening in Mycobacterium Tuberculosis in North-East of Iran
4		J.4	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Negatif	Tidak ditemukan DNA dari <i>M. leprae</i> Demam primer yg digunakan yaitu primer <i>genom</i> untuk <i>M. leprae</i> dengan urutan



								Primer berdasarkan referensi jurnal : Monitoring of the Efficacy of Multidrug Therapy (MDT) by Polymerase Chain Reaction (PCR) and, Mycobacterium leprae Particle Agglutination (MLPA) Test in Leprosy Patients Din terdistribusi DNA dari <i>gene rpoB</i> dengan urutan primer berdasarkan referensi jurnal : Investigation of the <i>rpoB</i> Mutations Causing Rifampin Resistance by Rapid Screening in Mycobacterium Tuberculosis in North-East of Iran
--	--	--	--	--	--	--	--	--



5		J.5	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Negatif	Tidak ditemukan DNA dari M. leprae Dimana primer yg digunakan yaitu primer pugene untuk M. leprae dengan urutan Primer berdasarkan referensi jurnal Monitoring of the Efficacy of Multidrug Therapy (MDT) by Polymerase Chain Reaction (PCR) and, Mycobacterium leprae Particle Agglutination (MLPA) Test in Leprosy Patients Dan verifikasi DNA dari <i>gene rpoB</i> color 538 dengan urutan primer berdasarkan referensi jurnal Investigation of the <i>rpoB</i> Mutations Causing Rifampin Resistance by Rapid Screening in Mycobacterium Tuberculosis in North-East of Iran
6		J.6	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Negatif	Tidak ditemukan DNA dari M. leprae Dimana primer yg digunakan yaitu primer pugene untuk M. leprae dengan urutan Primer berdasarkan referensi jurnal Monitoring of the Efficacy of Multidrug Therapy (MDT) by Polymerase Chain Reaction (PCR) and, Mycobacterium leprae Particle Agglutination (MLPA) Test in Leprosy Patients Dan verifikasi DNA dari <i>gene rpoB</i> color 538 dengan urutan primer berdasarkan referensi jurnal Investigation of



7		J.7	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Negatif	the <i>rpoB</i> Mutations Causing Rifampin Resistance by Rapid Screening in Mycobacterium Tuberculosis in North-East of Iran Tidak ditemukan DNA dari M. leprae Dimana primer yg digunakan yaitu primer pugene untuk M. leprae dengan urutan Primer berdasarkan referensi jurnal Monitoring of the Efficacy of Multidrug Therapy (MDT) by Polymerase Chain Reaction (PCR) and, Mycobacterium leprae Particle Agglutination (MLPA) Test in Leprosy Patients Dan verifikasi DNA dari <i>gene rpoB</i> color 538 dengan urutan primer berdasarkan referensi jurnal Investigation of the <i>rpoB</i> Mutations Causing Rifampin Resistance by Rapid Screening in Mycobacterium Tuberculosis in North-East of Iran
---	--	-----	---------	---------	---------	---------	---------	--

Reporting Lab Research Associate of Molecular Microbiology

• Name : Syafiq S. AMRAK
• Signature :
• Date : 17 Mei 2025

Hasil Blast Primer rpoB.218 bp
Forward 1 codon 518 5'- CAG CTG AGC CAA TTC ATG GA-3'
Reverse 5'-TTG ACC CGC GCG TACAC-3'

- Showing 218 bp region from base 2275282 to 2275449.

Mycobacterium leprae Kyoto-2 DNA, complete genome

GenBank: AP014567.1

[FASTA Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS AP014567 218 bp DNA linear BCT 22-DEC-2017

DEFINITION *Mycobacterium leprae* Kyoto-2 DNA, complete genome.

ACCESSION [AP014567](#) REGION: 2275282..2275449

VERSION AP014567.1

DBLINK BioProject: [PRJNA65803](#)

BioSample: [SAMQ00011899](#)

Sequence Read Archive: [SRR016724](#)

KEYWORDS .

SOURCE *Mycobacterium leprae* Kyoto-2

ORGANISM [Mycobacterium leprae Kyoto-2](#)

Bacteria; Bacillati; Actinomycetota; Actinomycetes;

Mycobacteriales; Mycobacteriaceae; Mycobacterium.

REFERENCE 1

AUTHORS Kai,M., Sekizuka,T., Nakata,N., Matsuoka,M., Makino,M. and
Kuroda,M.

TITLE complete genome sequence of *Mycobacterium leprae* Kyoto-2

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 218)

AUTHORS Kai,M., Sekizuka,T., Nakata,N., Matsuoka,M., Makino,M. and
Kuroda,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (12-MAR-2014) Contact: Masanori Kai National Institute of
Infectious Diseases, Leprosy Research Center, 4-2-1 Aoba-cho,
Higashimurayama, Tokyo 189-0002, Japan

Maple Blast Primer Gen rpoB codon 326.185 bp
F2 (rpoB) codon 326 5'-CTG TCG GGG TTG ACC CA-3'
R (rpoB) 5'-TTG ACC CGC GCG TACAC-3'

• Showing 185 bp region from base 20 to 204.

Mycobacterium leprae strain GTML-21 RpoB gene, partial cds

GenBank: MN211168.1

[FASTA Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS MN211168 185 bp DNA linear BCT 24-MAR-2020

DEFINITION *Mycobacterium leprae* strain GTML-21 RpoB gene, partial cds.

ACCESSION [MN211168](#) REGION: 20..204

VERSION MN211168.1

KEYWORDS .

SOURCE *Mycobacterium leprae*

ORGANISM [Mycobacterium leprae](#)

Bacteria; Bacillati; Actinomycetota; Actinomycetes;

Mycobacteriales; Mycobacteriaceae; Mycobacterium.

REFERENCE 1 (bases 1 to 185)

AUTHORS Mohanty,P.S., Nasz,F., Kumar,D. and Singh,P.

TITLE Transmission of drug resistant strains of *Mycobacterium leprae* in a
nearly non migrating leprosy endemic population

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 185)

AUTHORS Mohanty,P.S., Nasz,F., Kumar,D. and Singh,P.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (22-JUL-2019) Epidemiology, National JALMA Institute for
Leprosy and Other Mycobacterial Diseases, M.Miyazaki Marg, Tejganj,
Agra, Uttar Pradesh 202004, India

COMMENT ##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

Hasil Blast Primer Gene rpoB 170 bp

F3 (rpoB) codon 331 5'-CAC AAG CGC CGACTG TC-3'

R (rpoB) 5'-TTG ACC CGC GCG TACAC-3'

- Showing 170 bp region from base 276336 to 276505.

Mycobacterium leprae strain TN complete genome; segment 7/10

GenBank: AL583923.1

[FASTA Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS AL583923 170 bp DNA linear BCT 06-FEB-2013

DEFINITION Mycobacterium leprae strain TN complete genome; segment 7/10.

ACCESSION [AL583923](#) REGION: 276336..276505

VERSION AL583923.1

DBLINK BioSample: [SAMEA1702921](#)

KEYWORDS .

SOURCE Mycobacterium leprae

ORGANISM [Mycobacterium leprae](#)

Bacteria; Bacillati; Actinomycetota; Actinomycetes;

Mycobacteriales; Mycobacteriaceae; Mycobacterium.

REFERENCE 1 (bases 1 to 170)

AUTHORS Cole,S.T., Eigemeier,K., Parkhill,J., James,K.D., Thomson,N.R.,

Wheeler,P.R., Honore,N., Garnier,T., Churcher,C., Harris,D.,

Mungall,K., Basham,D., Brown,D., Chillingworth,T., Connor,R.,

Davies,R.M., Devlin,K., Duthoy,S., Feltwell,T., Fraser,A.,

Hamilin,N., Holroyd,S., Hornsby,T., Jagels,K., Lacroix,C.,

Maclean,J., Moule,S., Murphy,L., Oliver,K., Quail,M.A.,

Rajandream,M.A., Rutherford,K.M., Rutter,S., Seeger,K., Simon,S.,

Simmonds,M., Skelton,J., Squares,R., Squares,S., Stevens,K.,

Taylor,K., Whitehead,S., Woodward,J.R. and Barrell,B.G.

TITLE Massive gene decay in the leprosy bacillus

JOURNAL Nature 409 (6823), 1007-1011 (2001)

PUBMED [11234007](#)

Lampiran 11. Surat Keterangan Selesai Penelitian

	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 249/06/FR2/2025	Tanggal : 12 Juni 2025
SURAT KETERANGAN		
SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI		

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Jessy Julio Tuhuleruw
NIM : PO714203232018
Institusi : Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes
Kemenkes Makassar
Judul Penelitian : Deteksi Mutasi Gen rpoB Pada Penderita Kusta Terapi MDT (Multi
Drugs Therapy) Metode Multiplex Allele-Specific Polymerase Chain
Reaction (MAS-PCR).

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 17 Mei 2025
Jumlah subjek : $\pm$ 10 sampel Serum darah
Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Syafri S., AMAK
Konsultan : -

Surat keterangan ini juga merupakan penjelasan bahwa peneliti/mahasiswa diatas tidak
mempunyai sangkutan lagi pada unit/laboratorium kami.

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Pendamping/Pembimbing


Syafri S., AMAK
NIP

Mengetahui,
Kepala Laboratorium,

dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D
NIP 198108302012122002



Lampiran 12. Surat Keterangan Bebas Laboratorium



Kementerian Kesehatan
Poltekkes Makassar
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46 Ranta Bantaeng
Makassar, Sulawesi Selatan, 90222
Telp 041 15506609
@ <https://portal.poltekkes-mks.ac.id/>

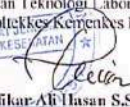
SURAT KETERANGAN BEBAS LABORATORIUM

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan dengan sesungguhnya bahwa mahasiswa :

Nama : Jessy Julio Tuhuleruw
NIM : PO.71.4.203.23.2.018
Prodi : Sarjana Terapan
Alamat : Makassar

Benar Tidak mempunyai pinjaman alat di Laboratorium Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar. Demikian surat ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Makassar, 13 Juni 2025

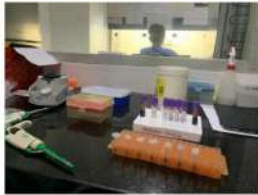
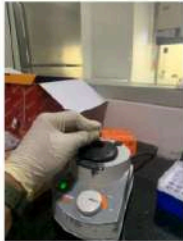
Ka. Unit Laboratorium
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Poltekkes Kemenkes Makassar

Zulfikar Ali Hasan S.ST., M.Kes
NIP.198811142018011001

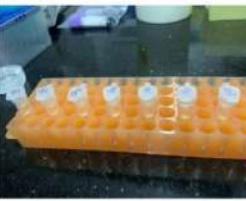
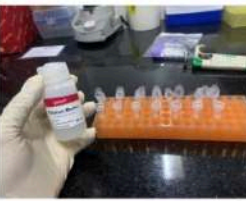
Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian

Pengambilan Sampel

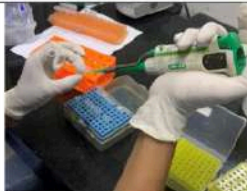


Proses Ekstraksi Sampel

		
Persiapan Alat dan Bahan	Penambahan Proteinase K	Sampel divortex
		
Sampel diinkubasi 60° 5 menit	Penambahan GSB Buffer	Sampel diinkubasi 60° 20 menit
		
Sampel divortex tiap 5 menit	Penambahan Ethanol	Sampel dipindahkan ke GS Column
		
Sampel disentrifus	Penambahan W1 Buffer	Sampel disentrifus

		
Penambahan <i>Wash Buffer</i>	Sampel disentrifus	Ganti <i>collection tube</i> baru
		
Sampel disentrifus	Pindahkan <i>GS Column</i> ke <i>ependorf</i> steril	Penambahan <i>Elution Buffer</i>
		
Sampel disentrifus	<i>GS Column</i> dibuang, sampel siap digunakan	

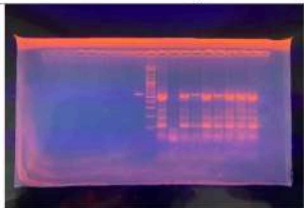
Proses Mix PCR

		
Mix PCR	Sampel siap digunakan	

Proses PCR

	
PCR <i>pra-gene</i>	Pengaturan suhu
	
MAS-PCR Gen <i>rpoB</i>	Pengaturan Suhu

Proses Elektroforesis dan *Gel Documentation*

	
Persiapan alat dan bahan	Proses memasukkan sampel ke sumur <i>gel</i>
	
Proses Elektroforesis	Hasil pembacaan <i>Gel Documentation</i>

Lampiran 14. Biodata Peneliti



⁷⁶
Nama Lengkap : Jessy Julio Tuhuleruw

NIM : PO.71.4.203.23.2.018

Tempat, Tanggal Lahir : Ambon, 17 Juni 1997

Jenis Kelamin : Laki-Laki

Agama : Kristen

No. Telp/Hp : 081344837369

Email : jessyjulio.th@gmail.com

Judul Skripsi (Indonesia) : Deteksi Mutasi Gen *rpoB* Pada Penderita
Kusta Terapi MDT (*Multi Drugs Therapy*)
Metode ¹³ *Multiplex Allele-Specific*
Polymerase Chain Reaction (MAS-PCR)

Pembimbing Skripsi : 1. Rafika, S.Si., M.Kes
2. Hj. Syahida Djasang, SKM., M.MKes

Penguji : M. Askar, S.Kep., Ns., M.Kes

Ayah : Mezaak A. Tuhuleruw

Ibu : Octofina Ririhena, A.Md.Keb

ORIGINALITY REPORT

27%	24%	6%	12%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Badan PPSDM Kesehatan Kementerian Kesehatan Student Paper	2%
2	dinkes.jatimprov.go.id Internet Source	2%
3	repository.unhas.ac.id Internet Source	2%
4	journal.untar.ac.id Internet Source	2%
5	repository.ung.ac.id Internet Source	1%
6	repository.maranatha.edu Internet Source	1%
7	media.neliti.com Internet Source	1%
8	Submitted to Southville International School and Colleges Student Paper	1%
9	isainsmedis.id Internet Source	1%

10	tlm.poltekkesaceh.ac.id Internet Source	1 %
11	repository.uhn.ac.id Internet Source	1 %
12	123dok.com Internet Source	<1 %
13	pmc.ncbi.nlm.nih.gov Internet Source	<1 %
14	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	<1 %
15	Submitted to LL DIKTI IX Turnitin Consortium Part V Student Paper	<1 %
16	Submitted to Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura Student Paper	<1 %
17	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source	<1 %
18	www.researchgate.net Internet Source	<1 %
19	dspace.uii.ac.id Internet Source	<1 %
20	digilib.unila.ac.id Internet Source	<1 %
21	docobook.com Internet Source	<1 %

22	www.scribd.com Internet Source	<1 %
23	docplayer.info Internet Source	<1 %
24	idoc.pub Internet Source	<1 %
25	lontar.ui.ac.id Internet Source	<1 %
26	core.ac.uk Internet Source	<1 %
27	id.intermediapub.com Internet Source	<1 %
28	repository.umj.ac.id Internet Source	<1 %
29	digilib.unhas.ac.id Internet Source	<1 %
30	repository.ugj.ac.id Internet Source	<1 %
31	you-gonever.icu Internet Source	<1 %
32	Atika Jatimi, Holisun Holisun, Ahmadi Ahmadi. "Stigma Pada Penderita Kusta Di Komunitas : A Systematic Review", Indonesian Journal of Professional Nursing, 2023 Publication	<1 %

33	Internet Source	<1 %
34	es.scribd.com Internet Source	<1 %
35	repository.unar.ac.id Internet Source	<1 %
36	eprints.umm.ac.id Internet Source	<1 %
37	repo.stikesperintis.ac.id Internet Source	<1 %
38	Submitted to Universiti Teknologi Petronas Student Paper	<1 %
39	rama.unimal.ac.id Internet Source	<1 %
40	fmj.fk.umi.ac.id Internet Source	<1 %
41	meikelpogalad.blogspot.com Internet Source	<1 %
42	Flora Ramona Sigit Prakoeswa, Yohanes Aditya Adhi Satria, Listiana Masyita Dewi. "BEDAH BUKU SEBAGAI UPAYA PENINGKATAN PENGETAHUAN TATA LAKSANA TERKINI ULKUS PLANTAR KRONIS PADA PENDERITA KUSTA", Jurnal Pengabdian Masyarakat Medika, 2023 Publication	<1 %

43 Submitted to LL DIKTI IX Turnitin Consortium
Part II
Student Paper <1 %

44 Submitted to Universitas Wiraraja
Student Paper <1 %

45 digilibadmin.unismuh.ac.id
Internet Source <1 %

46 pasca.unhas.ac.id
Internet Source <1 %

47 cyber-chmk.net
Internet Source <1 %

48 e-renggar.kemkes.go.id
Internet Source <1 %

49 Ismalia Husna, Sissy Sissy, Novita Indah
Permatasari, Elitha Sundari Pulungan.
"MORBUS HANSEN TIPE BORDERLINE
LEPROMATOSA (BL) DENGAN MORBUS
HANSEN TIPE LEPROMATOSA (LL) DENGAN
ERITEMA NODOSUM LEPROSUM RINGAN DAN
KECACATAN KUSTA TINGKAT : LAPORAN
KASUS", Jurnal Ilmu Kedokteran dan
Kesehatan, 2023
Publication <1 %

50 Submitted to O. P. Jindal Global University
Student Paper <1 %

51 pdfcoffee.com
Internet Source <1 %

52	repository.penerbiteureka.com Internet Source	<1 %
53	web.stfm.ac.id Internet Source	<1 %
54	Latifah Sukma, Wahid Syamsul Hadi, Tri Dyah Astuti. "GAMBARAN CROSSMATCH METODE COLUMN AGGLUTINATION TEST DENGAN INKUBASI DAN TANPA INKUBASI PADA PASIEN TALASEMIA", Jurnal Kesehatan Tambusai, 2024 Publication	<1 %
55	Submitted to Universitas Terbuka Student Paper	<1 %
56	apps.who.int Internet Source	<1 %
57	dokterwikan.com Internet Source	<1 %
58	ecampus.poltekkes-medan.ac.id Internet Source	<1 %
59	ejournal.poltekkes-pontianak.ac.id Internet Source	<1 %
60	inba.info Internet Source	<1 %
61	repository.unimus.ac.id Internet Source	<1 %
62	rikadiantoro.wordpress.com	

Internet Source

<1 %

63

Submitted to King's College

Student Paper

<1 %

64

jusindo.publikasiindonesia.id

Internet Source

<1 %

65

wjbphs.com

Internet Source

<1 %

66

Submitted to Padjadjaran University

Student Paper

<1 %

67

Submitted to Universitas Airlangga

Student Paper

<1 %

68

id.scribd.com

Internet Source

<1 %

69

nanopdf.com

Internet Source

<1 %

70

repo.undiksha.ac.id

Internet Source

<1 %

71

www.indonesian-publichealth.com

Internet Source

<1 %

72

Dimas Rizki Pratama, Henni Wijayanti,
Herman Yulianto. "PENGARUH WARNA
WADAH PEMELIHARAAN TERHADAP
PENINGKATAN INTENSITAS WARNA IKAN
GUPPY (*Poecilia reticulata*)", e-Jurnal Rekayasa
dan Teknologi Budidaya Perairan, 2018

Publication

<1 %

73	Dismo Katiandagho, Samuel Layuk, Agus Rokot, Anselmus Kabuhung, Mokoginta Jusran, Suwarja Suwarja. "IMPELEMENTASI POTENTIAL HAZARDS PELAYANAN RUMAH SAKIT DENGAN MENGGUNAKAN METODE JOB SAFETY ANALYSIS", Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2024 Publication	<1 %
74	digilib.unisayogya.ac.id Internet Source	<1 %
75	eprints.poltekkesjogja.ac.id Internet Source	<1 %
76	pgmi.radenfatah.ac.id Internet Source	<1 %
77	repository.its.ac.id Internet Source	<1 %
78	repository.uniba.ac.id Internet Source	<1 %
79	repository2.unw.ac.id Internet Source	<1 %
80	sinta.unud.ac.id Internet Source	<1 %
81	eprints.undip.ac.id Internet Source	<1 %
82	id.airadeevaskincare.com Internet Source	<1 %

83	repository.poltekkeskupang.ac.id Internet Source	<1 %
84	vital.seals.ac.za:8080 Internet Source	<1 %
85	wiki2.org Internet Source	<1 %
86	www.researchsquare.com Internet Source	<1 %
87	Sri Kurniawati, Kikin Hamzah Mutaqin, Giyanto .. "EKSPLOKORASI DAN UJI SENYAWA BIOAKTIF BAKTERI AGENSIA HAYATI UNTUK PENGENDALIAN PENYAKIT KRESEK PADA PADI", JURNAL HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN TROPIKA, 2016 Publication	<1 %
88	adoc.pub Internet Source	<1 %
89	bmcinfectdis.biomedcentral.com Internet Source	<1 %
90	docslib.org Internet Source	<1 %
91	elearning.medistra.ac.id Internet Source	<1 %
92	repository.hku.hk Internet Source	<1 %
93	repository.poltekkes-denpasar.ac.id	

Internet Source

<1 %

94 repository.usd.ac.id
Internet Source

<1 %

95 academicjournal.yarsi.ac.id
Internet Source

<1 %

96 de.scribd.com
Internet Source

<1 %

97 id.123dok.com
Internet Source

<1 %

98 jurnal.poltekkesbanten.ac.id
Internet Source

<1 %

99 ojs.unud.ac.id
Internet Source

<1 %

100 pt.scribd.com
Internet Source

<1 %

101 repositori.usu.ac.id
Internet Source

<1 %

102 repository.stikeselisabethmedan.ac.id
Internet Source

<1 %

103 repository.uinjkt.ac.id
Internet Source

<1 %

104 repository.unej.ac.id
Internet Source

<1 %

105 rsudajibarang.banyumaskab.go.id
Internet Source

<1 %

106	tede.ufam.edu.br Internet Source	<1 %
107	www.coursehero.com Internet Source	<1 %
108	www.frontiersin.org Internet Source	<1 %
109	www.suara.com Internet Source	<1 %
110	www.unud.ac.id Internet Source	<1 %
111	stutzartists.org Internet Source	<1 %
112	"13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases", Clinical Microbiology and Infection, 2003 Publication	<1 %
113	Abdoulaye Marega, Thomas Hambridge, Yuki P. Stakteas, Anne Schoenmakers et al. "Leprosy indicators and diagnosis delay in Mogovolas, Meconta and Murrupula district of Nampula Province, Mozambique: A baseline survey", Leprosy Review, 2022 Publication	<1 %
114	Islah Salsabila, Cut Khairunnisa, Wizar Putri Mellaratna. "Gambaran Karakteristik Sosiodemografi Penderita Kusta di Kabupaten	<1 %

-
- 115 Lila Gardenia, Isti Koesharyani. "METODE ISOLASI DEOXYRIBO NUCLEIC ACID BAKTERI DARI ORGAN IKAN NILA (Oreochromis niloticus) UNTUK DIAGNOSA Streptococcociasis DENGAN TEKNIK POLYMERASE CHAIN REACTION", Jurnal Riset Akuakultur, 2011

Publication

-
- 116 repository.ar-raniry.ac.id

Internet Source

-
- 117 www.dokternana.com

Internet Source

Exclude quotes On

Exclude matches Off

Exclude bibliography On

Skripsi_Begin_ACC_Rev_Sudah_SEMHAS-1750915931320

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12

PAGE 13

PAGE 14

PAGE 15

PAGE 16

PAGE 17

PAGE 18

PAGE 19

PAGE 20

PAGE 21

PAGE 22

PAGE 23

PAGE 24

PAGE 25

PAGE 26

PAGE 27

PAGE 28

PAGE 29

PAGE 30

PAGE 31

PAGE 32

PAGE 33

PAGE 34

PAGE 35

PAGE 36

PAGE 37

PAGE 38

PAGE 39

PAGE 40

PAGE 41

PAGE 42

PAGE 43

PAGE 44

PAGE 45

PAGE 46

PAGE 47

PAGE 48

PAGE 49

PAGE 50

PAGE 51

PAGE 52

PAGE 53

PAGE 54

PAGE 55

PAGE 56

PAGE 57

PAGE 58

PAGE 59

PAGE 60

PAGE 61

PAGE 62

PAGE 63

PAGE 64

PAGE 65

PAGE 66

PAGE 67

PAGE 68

PAGE 69

PAGE 70

PAGE 71

PAGE 72

PAGE 73

PAGE 74

PAGE 75

PAGE 76

PAGE 77

PAGE 78

PAGE 79

PAGE 80

PAGE 81

PAGE 82

PAGE 83

PAGE 84

PAGE 85

PAGE 86

PAGE 87

PAGE 88

PAGE 89

PAGE 90

PAGE 91

PAGE 92

PAGE 93

PAGE 94

PAGE 95

PAGE 96

PAGE 97

PAGE 98

PAGE 99

PAGE 100

PAGE 101

PAGE 102

PAGE 103

PAGE 104

PAGE 105

PAGE 106

PAGE 107

PAGE 108

PAGE 109

PAGE 110

PAGE 111

PAGE 112

PAGE 113

PAGE 114

PAGE 115

PAGE 116

PAGE 117

PAGE 118

PAGE 119

PAGE 120

PAGE 121

PAGE 122

PAGE 123

PAGE 124

PAGE 125

PAGE 126

PAGE 127
