SKRIPSI

DETEKSI *Mycobacterium leprae* DALAM SWAB NASOFARING NARAKONTAK SERUMAH DAN TIDAK SERUMAH PENDERITA KUSTA DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Disusun dan diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr. Kes) Pada Program Studi Diploma Empat (D-IV) Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky

VALEN TIWA PATANDUK
B1D324084

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2025

SKRIPSI

DETEKSI *Mycobacterium leprae* DALAM SWAB NASOFARING NARAKONTAK SERUMAH DAN TIDAK SERUMAH PENDERITA KUSTA DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

DETECTION OF *Mycobacterium leprae* IN NASOPHARYNGEAL SWABS OF HOUSEHOLD AND NON-HOUSEHOLD CONTACTS OF LEPROSY PATIENTS USING THE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHOD

VALEN TIWA PATANDUK
B1D324084

Dibimbing Oleh

Ka'bah, S.Si., M.Kes
Pembimbing I

Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si
Pembimbing II

Dr. Handayani H, S.Si., M.Kes
Penguji

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2025

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

DETEKSI *Mycobacterium leprae* DALAM SWAB NASOFARING NARAKONTAK SERUMAH DAN TIDAK SERUMAH PENDERITA KUSTA DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Disusun dan diajukan oleh
Valen Tiwa Patanduk
Nomor Induk Mahasiswa B1D324084
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Pada Tanggal 09 September 2025
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Tim Penguji	**Tanda Tangan**
1. Ka'bah, S.Si., M.Kes	(.....)
2. Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si	(.....)
3. Dr. Handayani H, S.Si., M.Kes	(.....)

Mengetahui,

Dekan **Fakultas Teknologi Kesehatan**	**Ketua Program Studi** **D-IV Teknologi Laboratorium Medis**
(Prof.Dr.Dra.apt.Hj. Asnah Marzuki, M.Si) NUPTK. 1350727628230010	(Dr. Murnawati Angria, S.Si., M.Kes) NUPTK. 6950765666230332

SURAT KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MEGAREZKY
SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT
Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id E-mail: info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN
No. 019 /T/07.091056/ X /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Syamsyuriyana Sabar, S.Kep., Ns., M.Kep

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Valen Tiwa Patanduk

NIM : B1D324084

Prodi : D-IV Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : Deteksi *Mycobacterium leprae* Dalam Swab Nasofaring Narakontak Serumah Dan Tidak Serumah Penderita Kusta Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 17%** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 28 Oktober 2025
Ketua,

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep
NIDN: 09 151186 02

HALAMAN PERSEMBAHAN

Soli Deo Gloria

In the name of Jesus Christ, yang telah menganugerahkan kesempatan ini. Skripsi ini merupakan sebuah karya yang ditulis sejak Mei 2025 dan diselesaikan hingga September 2025. Skripsi ini adalah saksi bisu atas perjuangan yang saya jalani, lelah, doa, dan pengharapan yang tak pernah berhenti.

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Pertama, diri sendiri yang luar biasa berusaha keras, bertahan dan mau terus bangkit menyelesaikan masalah, melawan ketakutan, mampu mengendalikan diri dari berbagai tekanan, dan akhirnya tidak memutusukan untuk menyerah. Entah mengapa jalan ini rasanya dipersulit, namun Tuhan selalu memberikan kekuatan baru di setiap waktu.

Kedua, orang tua tercinta, Papa Herianto Sampe Patanduk dan Mama Esliana Tiwa. Orang hebat yang selalu menjadi penyemangat saya sebagai sandaran terkuat dari kerasnya dunia. Terima kasih selalu berjuang untuk kehidupan anak satu-satunya ini. Sehat selalu dan hiduplah lebih lama lagi. Papa Mama harus selalu ada di setiap perjalanan dan pencapain hidup Valen.

Ketiga, Snowy dan Fluffy yang selalu duduk di atas *keyboard* saat saya sedang menyusun skripsi. Meskipun lebih banyak berkontribusi tidur di samping laptop, namun kehadirannya sudah cukup membuat perjalanan ini terasa lebih hangat dan tidak sendiri.

MOTTO

if you never bleed, you're never gonna grow

-Taylor Swift-

CURRICULUM VITAE



Valen Tiwa Patanduk
B1D324084

Program Studi	:	D-IV Teknologi Laboratorium Medis
Alamat	:	Jalan Antang Raya Perumahan Beverly Hills
Orang Tua		
Ayah	:	Herianto Sampe Patanduk
Ibu	:	Esliana Tiwa
Alamat Orang Tua	:	Jalan Hasanuddin, Timika-Papua
Riwayat Pendidikan		
SD	:	SD Inpres Kwamki II Timika
SMP	:	SMP YPPK St. Bernardus
SMA	:	SMK Negeri 3 Kesehatan Timika
Prinsip Hidup	:	*The past can hurt but you can either run or learn from it.*
Pesan dan Kesan	:	*First you learn, then you remove the L*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul **"Deteksi *Mycobacterium leprae* Dalam Swab Nasofaring Narakontak Serumah dan Tidak Serumah Penderita Kusta Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)"**

Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana Terapan Kesehatan pada Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky Makassar. Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, skripsi ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta **Bapak Herianto Sampe Patanduk dan Ibu Esliana Tiwa**, yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moral maupun materi tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu, penyusunan Skripsi ini tidak akan pernah terwujud.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. **Bapak Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi pondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.
2. **Ibu Alm. Hj. Suryani, SH., MH sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. **Bapak Moch. Noer Alim Qalby SH., LLM sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.

4. **Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky**, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. **Ibu Prof. Dr. Dra. apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si sebagai Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan**, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. **Ibu Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes sebagai Ketua Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Kesehatan dan Pembimbing Akademik (PA)**, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Bapak Ka'bah, S.Si., M.Kes sebagai Dosen Pembimbing I**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Ibu Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si sebagai Dosen Pembimbing II**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
9. **Ibu Dr. Handayani H, S.Si., M.Kes sebagai Dosen Penguji**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
10. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
11. **Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* sebagai tempat penelitian**, atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
12. **Rekan-rekan kelas RPL 2024 B** yang tak dapat penulis sebutkan satu persatu yang secara langsung maupun tidak langsung telah memberikan dukungan selama perkuliahan sampai menyelesaikan pendidikan.
13. **Teman-teman seperjuangan dan semua pihak** yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang.

Akhir kata, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, September 2025

Valen Tiwa Patanduk

ABSTRAK

Valen Tiwa Patanduk. B1D324084. Deteksi *Mycobacterium leprae* Dalam Swab Nasofaring Narakontak Serumah Dan Tidak Serumah Penderita Kusta Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). (Dibimbing oleh Ka'bah dan Nurfitri Arfani).

Kusta merupakan penyakit akibat infeksi *Mycobacterium leprae* yang menyerang saluran pernapasan atas. Gejala kusta berupa bercak kulit, mati rasa, kering, tidak berkeringat, dan tidak ditumbuhi rambut. Penularan terjadi melalui udara, air, serta tanah. Kelompok berisiko tinggi adalah narakontak yang tinggal di daerah endemis dan berinteraksi dengan penderita. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya *Mycobacterium leprae* dalam swab nasofaring narakontak serumah dan tidak serumah penderita kusta berdasarkan metode PCR menggunakan primer spesifik terhadap gen *RLEP* sebagai target. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasi laboratorik dengan menggunakan 15 sampel narakontak serumah dan 5 sampel narakontak tidak serumah menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Sampel dari penelitian ini berupa swab nasofaring yang diperoleh dari Kompleks Kusta Jongaya dan dilakukan pemeriksaan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC). Hasil visualisasi elektroforesis menunjukkan tidak terbentuk pita pada target 129 bp. Temuan ini mengindikasikan bahwa *Mycobacterium leprae* tidak terdeteksi pada sampel swab nasofaring narakontak serumah maupun tidak serumah penderita kusta.

Kata Kunci : Kusta, *Mycobacterium leprae*, Narakontak, PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

ABSTRACT

Valen Tiwa Patanduk. B1D324084. *Detection of Mycobacterium leprae in Nasopharyngeal Swabs of Household and Non-Household Contacts of Leprosy Patients Using the Polymerase Chain Reaction (PCR) Method. (Supervised by Ka'bah and Nurfitri Arfani).*

Leprosy is a disease caused by Mycobacterium leprae infection that attacks the upper respiratory tract. Symptoms of leprosy include skin patches, numbness, dryness, lack of sweating, and the absence of hair growth. Transmission occurs through air, water, and soil. High-risk groups included contacts living in endemic areas and interacting with patients. This study aimed to detect Mycobacterium leprae in nasopharyngeal swabs of household and non-household contacts of leprosy patients using the PCR method using specific primers targeting the RLEP gene. The method used in this study was laboratory observation using 15 samples from household contacts and 5 samples from non-household contacts using the PCR (Polymerase Chain Reaction) method. The samples were nasopharyngeal swabs obtained from the Jongaya Leprosy Complex and examined at the Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC) Laboratory. Electrophoresis visualization results showed no band formation at the 129 bp target. This finding indicates that Mycobacterium leprae was not detected in the nasopharyngeal swab samples from both household and non-household contacts of leprosy patients.

Keywords: Leprosy, Mycobacterium leprae, Contacts, PCR (Polymerase Chain Reaction).



DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL ..... **i**
HALAMAN JUDUL ..... **i**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iii**
SURAT KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN ..... **iv**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **v**
MOTTO.. ..... **vi**
CURRICULUM VITAE ..... **vii**
KATA PENGANTAR ..... **viii**
ABSTRAK ..... **xi**
ABSTRACT ..... **xii**
DAFTAR ISI ..... **xiii**
DAFTAR TABEL ..... **xvi**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xvii**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xviii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 4
C. Tujuan Penelitian 5
D. Manfaat Penelitian 5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **7**
A. Tinjauan Umum Kusta 7
B. Tinjauan Umum *Mycobacterium leprae* 20
C. Tinjauan Umum Narakontak 24
D. Tinjauan Umum *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 26
E. Kerangka Teori 34
F. Kerangka Konsep 35
G. Definisi Operasional 35
BAB III METODE PENELITIAN **36**
A. Jenis Penelitian 36

B. Lokasi dan Waktu Penelitian 36
C. Populasi dan Sampel 36
D. Kriteria Sampel 37
E. Alat dan Bahan 37
F. Prosedur Kerja 38
G. Pengumpulan dan Analisis Data 42
H. Alur Penelitian 43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 44
A. Hasil Penelitian 44
B. Pembahasan 47
BAB V PENUTUP 56
A. Kesimpulan 56
B. Saran 56
DAFTAR PUSTAKA 57
LAMPIRAN 60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Lesi Pada Penderita Kusta 8
Gambar 2 Patogenesis Kusta 10
Gambar 3 Morfologi *Mycobacterium leprae* di Bawah Mikroskop 21
Gambar 4 Proses Amplifikasi Dengan Metode PCR 31
Gambar 5 Kerangka Teori 34
Gambar 6 Kerangka Konsep 35
Gambar 7 Alur Penelitian 43
Gambar 8 Hasil Visualisasi Elektroforesis 47

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Penilaian BI Menurut Skala Logaritma Ridley 17
Tabel 2 Karakteristik Sampel Berdasarkan Usia 44
Tabel 3 Karakteristik Sampel Berdasarkan Jenis Kelamin..... 45
Tabel 4 Karakteristik Sampel Berdasarkan Hubungan Dengan Penderita 45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kuesioner Penelitian…….	60
Lampiran 2	Surat Izin PTSP…….	62
Lampiran 3	Surat Izin Kelurahan……..	63
Lampiran 4	Surat Izin RSUP Dr Tadjuddin Chalid Makassar……..	64
Lampiran 5	Surat Kode Etik……..65	
Lampiran 6	Kit Ekstraksi DNA (Geneaid)..……..66	
Lampiran 7	Protokol Enzym Taq Polymerase.…….	68
Lampiran 7	Surat Selesai Penelitian…….….	70
Lampiran 8	Dokumentasi Penelitian…….	71
Lampiran 9	Tabel Karakteristik Responden……..74	

DAFTAR SINGKATAN

A : Adenina
ADP : *Adenosine Diphosphate*
ATP : *Adenosine Triphosphate*
BB : *Mid Borderline*
BI : *Bacterial Index*
BL : *Borderline Lepromatous*
Bp : *Base Pair*
BT : *Borderline Tuberculoid*
BTA : Basil Tahan Asam
BTP : *Ballpoint Pent Test*
C : *Cytosine*
CIAA : *Chloroform Isoamil Alcohol*
CO_2 : *Carbon Dioxide*
Ct : *Cycle Threshold*
dATP : *Deoxyadenine Triphosphate*
dCTP : *Deoxycytosine Triphosphate*
ddH_2O : *Double Destilled Hydrogen Oxide*
dGTP : *Deoxyguanine Triphosphate*
DNA : *Deoxyribonucleic Acid*
dNTPS : *Deoxyribonucleoside triphosphates*
dTTP : *Deoxythymidine Triphosphate*
ELISA : *Enzym Linked Immunosorbent Assay*
GF : *Growth Factor*
G : *Guanine*
GSB : *Genomic Seprataion Buffer*
HE : *Hematoxylin Eosin*
I : *Indeterminate*
KCl : Kalium Klorida
LL : *Lepromatous*

MB : *Multibacillary*

MDT : *Multi Drug Therapy*

Mg^{+} : Magnesium

$MgCl_2$: Magnesium Klorida

MI : *Morfology Index*

NFW : *Nuclease Free Water*

OH : Hidroksil

PB : *Paucibacillary*

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

PDIM : *Phtiocerol Dimycocerosate*

PGL-1 : *Phenolic Glycolipid-1*

pH : *Potential of Hydrogen*

P2M : Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Menular

PNL : *Pure Neuritis Leprosy*

RNA : *Ribonucleic Acid*

SDS : *Sodium Dodecyl Sulfate*

SWM : *Semmes Weinstein Monofilament*

T : *Thymine*

TBE : *Tris Boric EDTA*

Tm : *Temperature Melting*

TT : *Tuberculoid*

VMT : *Voluntary Muscle Test*

WHO : *World Health Organization*

W1 : *Wash Buffer 1*

ZN : *Ziehl Neelsen*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Morbus hansen atau lebih dikenal sebagai penyakit kusta merupakan penyakit yang ditemukan oleh G. A. Hansen pada tahun 1873 di Norwegia. Penyakit ini akan menyerang saraf-saraf, saluran pernapasan bagian atas, mata, bahkan testis. Seseorang dengan penyakit kusta akan menyadari adanya perubahan pada kulit mereka berupa bercak-bercak yang tampak berbeda dengan kulit di sekitarnya, seringkali terasa mati rasa, kering, tidak berkeringat, dan tidak ditumbuhi rambut. Penyakit ini disebabkan karena infeksi *Mycobacterium leprae* (Yusuf *et al*., 2018).

Prevalensi penyakit kusta menurut WHO pada tahun 2023 terdeteksi 182.815 kasus, termasuk di dalamnya 72.845 (39,8%) wanita dan 10,322 (5,6%) anak-anak. Di Indonesia menurut data dari Kementerian Kesehatan tahun 2022 kasus kusta sebesar 0,55% per 10.000 orang. Pada tahun 2023, Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Menular (P2M) Kementerian Kesehatan mencatat penderita kusta di Indonesia berkisar 13.000 orang sehingga menempati urutan ketiga jumlah penderita kusta terbanyak di dunia setelah India dan Brazil. Menurut Saleh *et al* (2024), terjadi peningkatan kasus kusta di Sulawesi Selatan sebanyak 1.271 kasus baru. Kota Makassar merupakan salah satu kota dengan angka kasus tinggi di Sulawesi Selatan dengan jumlah kasus yang mencapai 194 kasus dan 16,57% diantaranya mengalami kecacatan tingkat 2 pada tahun 2022 yaitu 6 orang

dan pada kasus tipe *multibacillary* (MB) sebanyak 75 orang. Indonesia merupakan negara tropis dengan kelembapan udara yang tinggi hingga 95% sehingga kondisi ini cocok untuk perkembangbiakan *Mycobacterium leprae.*

Mycobacterium leprae pertama kali akan menyerang sistem saraf tepi kemudian menyerang kulit, mukosa, saluran pernafasan bagian atas, sistem retikulo endotelial, mata, otot, tulang dan testis. Oleh karena itu diperlukan skrining untuk deteksi dini pada penderita kusta maupun kelompok yang memiliki risiko tinggi terkena kusta. Skrining kusta dapat dilakukan dengan cara pemeriksaan fisik, pemeriksaan fungsi saraf, dan pemeriksaan laboratorium. Klasifikasi pada penderita kusta digolongkan menjadi dua jenis yaitu *paucibacillary* (PB) memiliki lesi yang sedikit dan *multibacillary* (MB) memiliki lesi yang banyak (Bangun *et al*., 2023).

Penularan *Mycobacterium leprae* melalui udara (*airbone* disease) ketika penderita batuk atau bersin lalu dihirup oleh orang lain, air (*water disease*) yang digunakan untuk mandi dan mencuci, serta tanah ketika keluarga atau masyarakat terpapar oleh penderita pada saat bekerja di sawah maupun saat kontak sosial di luar rumah. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi penyebaran dan penularan bakteri *Mycobacterium leprae* yaitu intensitas kontak dengan penderita kusta, ada tidaknya kontak, dan lamanya kontak dengan penderita (Ahmad, 2020).

Kelompok yang memiliki risiko tinggi untuk terinfeksi kusta adalah seseorang yang tinggal di daerah endemis kusta dan melakukan kontak dengan penderita kusta atau yang biasa disebut dengan narakontak.

Narakontak dapat dibedakan menjadi narakontak serumah dan tidak serumah. Narakontak serumah merupakan orang yang hidup berdampingan dan memiliki interaksi dengan penderita kusta selama minimal 6 bulan. Sedangkan narakontak tidak serumah merupakan orang yang memiliki interaksi dengan penderita kusta tetapi tidak tinggal dalam satu rumah. Tingginya angka insidensi kusta pada narakontak serumah hampir sepuluh kali dibanding mereka yang tidak kontak serumah. Menurut Akbar (2020), hal ini disebabkan narakontak akan menghirup *droplet* ketika penderita batuk, bersin atau berbicara dalam jangka waktu yang lama. Selain itu juga ketika narakontak bersentuhan langsung dengan penderita khususnya jika terdapat luka pada kulit narakontak, maka bakteri bisa mudah masuk mencapai permukaan kulit melalui folikel rambut, kelenjar keringat, dan diduga melalui air susu (Zainuddin, 2020).

Deteksi *Mycobacterium leprae* dapat dilakukan dengan beberapa pemeriksaan yaitu bakteriologis, histopatologi, serologi, dan molekuler. Pemeriksaan bakteriologis menggunakan metode *Ziehl Neelsen* (ZN) untuk mendeteksi basil tahan asam untuk menegakkan diagnosis penyakit kusta, menyokong penentuan klasifikasi atau tipe penyakit kusta, dan menunjukkan potensi penularan dari penderita. Pemeriksaan histopatologi dapat membantu diagnosis jika gejala klinis dan pemeriksaan bakteriologis tidak jelas. Pemeriksaan serologis sebagai uji antigen-antibodi pada infeksi subklinis yang dianggap sebagai fase awal atau fase peralihan dari sehat menuju sakit. Salah satu pemeriksaan molekuler yang dapat digunakan adalah metode PCR

(*Polymerase Chain Reaction*) konvensional. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ahmad pada tahun 2020 dengan metode *literature review* di mana terdapat 1 dari 4 penelitian yang memiliki hasil positif tertinggi yaitu 49% (51/104) menggunakan metode PCR pada populasi kontak erat dengan penderita kusta. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Warka *et al* pada tahun 2024 menggunakan sampel nasal swab dengan metode PCR menunjukkan hasil positif pada pasien yang baru terinfeksi kusta yaitu 31,25% (5/16), pasien dalam pengobatan yaitu 8,69% (2/23), dan pasien dengan pengobatan yang telah selesai yaitu 4% (1/25). Metode PCR konvensional bersifat sangat sensitif dan spesifik untuk mendeteksi dan menentukan distribusi *Mycobacterium leprae* dalam berbagai populasi terutama digunakan sebagai skrining dini atau pada infeksi kusta subklinis dan sampel dengan beban bakteri yang rendah.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka hal ini menarik perhatian peneliti untuk mendeteksi *Mycobacterium leprae* dalam swab nasofaring narakontak serumah dan tidak serumah penderita kusta dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian ini terdapat rumusan masalah yaitu:

1. Apakah terdeteksi *Mycobacterium leprae* dalam swab nasofaring narakontak serumah penderita kusta berdasarkan metode PCR?

2. Apakah terdeteksi *Mycobacterium leprae* dalam swab nasofaring narakontak tidak serumah penderita kusta berdasarkan metode PCR?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang penelitian ini terdapat tujuan penelitian yaitu

1. Bertujuan untuk mendeteksi adanya *Mycobacterium leprae* dalam swab nasofaring narakontak serumah penderita kusta berdasarkan metode PCR.
2. Bertujuan untuk mendeteksi adanya *Mycobacterium leprae* dalam swab nasofaring narakontak tidak serumah penderita kusta berdasarkan metode PCR.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber pengetahuan dan referensi baru bagi peneliti selanjutnya.

2. Manfaat Praktis

a. Manfaat bagi peneliti

Sebagai tambahan ilmu pengetahuan serta pengalaman bagi penulis dalam mengaplikasikan ilmu selama proses perkuliahan khususnya di bidang molekuler.

b. Manfaat bagi institusi

Sebagai referensi pengetahuan baru bagi akademi mengenai deteksi *Mycobacterium leprae* dalam swab nasofaring narakontak serumah dan tidak serumah penderita kusta dengan metode PCR.

c. Manfaat bagi tenaga kesehatan

Sebagai tambahan informasi agar dapat menjadi pedoman bagi tenaga kesehatan setempat untuk dapat melakukan edukasi pada masyarakat terkait pentingnya perilaku melindungi diri serta menjaga perilaku hidup bersih dan sehat untuk mencegah infeksi *Mycobacterium leprae*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Penyakit Kusta

1. Definisi Kusta

Kusta, lepra, atau *Morbus Hansen*'*s Disease* merupakan penyakit menular granulomatosa kronik yang terutama menyerang kulit dan saraf tepi yang disebabkan oleh organisme intraseluler obligat *Mycobacterium leprae*. Bila tidak dilakukan penanganan, penyakit kusta akan menyebabkan kerusakan pada kulit, saraf-saraf, anggota gerak, dan mata. Penanganan kasus kusta yang buruk dapat menyebabkan kusta menjadi berkembang sehingga menyebabkan kerusakan permanen pada kulit, saraf, anggota gerak, dan mata (Grace *et al*., 2024).

Mycobacterium leprae hanya dapat menyebabkan penyakit kusta pada manusia, bukan pada hewan. Infeksi terjadi melalui kontak yang lama akibat interaksi yang intens dan berulang melalui sistem pernapasan dan kulit. Bakteri mencapai permukaan kulit melalui folikel, rambut, dan keringat. Penyakit kusta menimbulkan permasalahan sosial, ekonomi, dan budaya. Sebab, selain kerugian yang ditimbulkan, rasa takut yang berlebihan terhadap penyakit kusta (*leptophobia*) akan memperkuat permasalahan ekonomi penderita kusta. Program Penanggulangan Penyakit (P2) yang dilakukan di Indonesia memiliki tujuan jangka panjang yaitu menghilangkan penyakit kusta di Indonesia. Terdapat dua jenis penyakit kusta yang dikenal, yaitu tipe MB (*Multibacillary*) atau

kusta basah dan tipe PB (*Paucibacillary*) atau kusta kering (Tuturop *et al*., 2022).J



Gambar 2.1 Lesi Pada Kulit Penderita Kusta (Grace *et al*., 2024)

2. Epidemiologi Kusta

Penyakit kusta banyak ditemukan di negara-negara berkembang karena berhubungan dengan rendahnya tingkat pendidikan dan statusi sosial ekonomi. Pada tahun 2016, *World Health Organization* (WHO) merilis laporan global kusta tahun 2016-2020 untuk mempercepat kehidupan bebas kusta yang bertujuan tidak adanya kecacatan stadium 2 pada anak yang terdiagnosis kusta, penurunan kasus baru kecacatan stadium 2 di bawah 1/1000.000 penduduk dan tidak ada diskriminasi kusta yang dilakukan antar negara. Indonesia merupakan negara dengan angka kejadian kusta yang relatif tinggi, yaitu terdapat 11 provinsi dengan prevalensi lebih dari 1 kasus per 10.000 penduduk (Mellaratna, 2022).

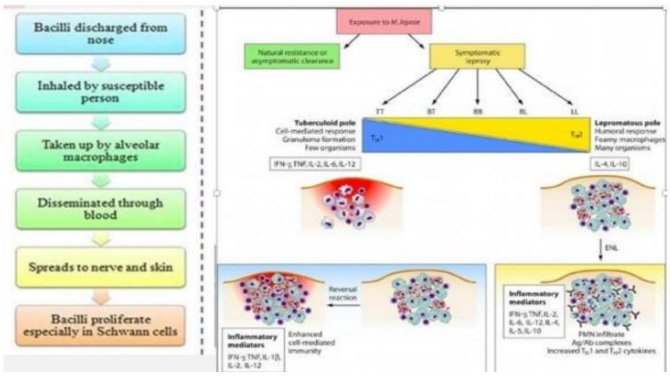
Menurut Saleh *et al* (2024), kasus kusta di Sulawesi Selatan bertambah menjadi 1.271 kasus baru. Kota Makassar merupakan salah satu kota dengan jumlah kasus tertinggi di Sulawesi Selatan, dimana

jumlah kasusnya mencapai 194 kasus, 16,57% di antaranya mengalami kecacatan stadium 2 sebanyak 6 orang dan kasus dengan tipe angka kasus *multibacillary* (MB) sebanyak 75 pada tahun 2022. Indonesia merupakan negara tropis dengan kelembaban udara yang tinggi hingga 95% sehingga kondisi tersebut ideal untuk perkembangbiakan dan penyebaran *Mycobacterium leprae,* termasuk kondisi lingkungan penderita yang sangat buruk di rumah dapat mempercepat penyebaran bakteri tersebut.

3. Patogenesis Kusta

Penyakit kusta disebabkan oleh *Mycobacterium leprae* yang keluar melalui *droplet* saat penderita batuk atau bersin lalu masuk ke tubuh orang yang rentan bila terhirup. Bakteri ini difagositosis oleh makrofag alveolar di paru-paru. Namun, *Mycobacterium leprae* akan terus menyebar ke seluruh tubuh melalui aliran darah karena bakteri ini memiliki kemampuan bertahan hidup di dalam makrofag. Hal ini disebabkan adanya mekanisme yang melibatkan *phenolic glycolipid-1* (PGL-1) pada bakteri. Pada akhirnya, *Mycobacterium leprae* akan mencapai saraf dan kulit. Setelah terpapar bakteri, tubuh bisa melakukan dua respon. Jika penderita memiliki imunitas yang baik, maka bakteri dapat difagositosis secara alami tanpa menimbulkan gejala. Namun jika penderita memiliki imunitas yang buruk, maka bakteri tersebut akan berkembang dan menyebar yang akan memicu penyakit sistemik (Sibero, 2021).

Spektrum penyakit kusta tergantung pada respon imun individu. Pada spektrum tuberkuloid (TT), respon imun seluler sangat kuat. Tubuh membentuk granuloma dan hanya terdapat sedikit bakteri. sitokin seperti IFN-γ, TNF-α, IL-2, dan IL-12 (tipe Th1) mendominasi. Hal ini bisa menimbulkan reakse tipe 1 yaitu peningkatan peradangan lokal akibat aktivasi imunitas seluler. Pada spektrum lepromatosa (LL), imunitas seluler sangat lemah dan tubuh lebih mengandalkan imunitas humoral. Bakteri banyak ditemukan dalam makrofag sehingga sitokin seperti IL-4 dan IL-10 (tipe Th2) mendominasi. Hal ini dapat memuci reaksi tipe 2 yaitu ENL (*Erythema Nodosum Leprosum*) yaitu reaksi peradangan sistemik akibat terbentuknya kompleks antigen-antibodi dan peningkatan sitokin inflamasi dari kedua jalur yaitu Th1 dan Th2 (Sibero, 2021).



Gambar 2.2 Patogenesis Kusta
(Sibero, 2021).

4. Klasifikasi Kusta

Klasifikasi kusta menurut Ridley dan Jopling berdasarkan gambaran klinis, bakteriologis, histologi, dan imunologis yang dikutip dari Mellaratna (2022), yaitu:

a. Tipe *Tuberculoid* (TT)

Lesi ini mengenai kulit maupun saraf. Lesi kulit bisa satu atau lebih, bisa berbentuk makula atau plak, batasnya jelas dan di bagian tengahnya terdapat luka yang regresi atau *central* healing. Permukaan lesi bisa bersisik dengan tepi yang terangkat, dan mungkin juga seperti *psoriasis* atau *tinea sirsinata*. Hal ini bisa disertai penebalan saraf tepi yang biasanya teraba, kelemahan otot dan rasa gatal yang ringan. Adanya inflitrat tuberkuloid dan tidak adanya kuman merupakan tanda terdapatnya respon imun penjamu yang adekuat terhadap *Mycobacterium leprae*.

b. Tipe *Borderline Tuberculoid* (BT)

Lesi pada tipe ini mirip tipe TT, yakni berupa makula atau plak yang sering disertai lesi pada bagian tepinya. Jumlah lesi bisa satu atau lebih. Namun gambaran hipopigmentasi, kulit kering atau mengelupas tidak sejelas tipe tuberkuloid. Adanya gangguan saraf tidak seberat tipe tuberkuloid dan biasanya tidak simetris. Lesi biasanya muncul dan terletak di dekat saraf tepi yang menebal.

c. Tipe *Mid Borderline* (BB)

Tipe BB atau disebut juga bentuk diploid merupakann jenis kusta yang paling tidak stabil di antara semua jenis kusta dan bentuk ini jarang ditemukan. Lesi bisa berbentuk makula infiltrat. Permukaan lesi bisa mengkilap, tepi lesi tidak setajam dengan jumlah lesi yang melebihi tipe BT dan cenderung simetris, ukuran,

bentuk, dan distribusi lesi sangat bervariasi dan dapat ditemukan lesi menonjol yang menjadi ciri khas tipe ini.

d. Tipe *Borderline Lepromatous* (BL)

Awalnya lesi dalam jumlah sedikit dan cepat menyebar ke seluruh tubuh. Bentuk makula lebih jelas dan lebih bervariasi. Meskipun masih kecil, papul dan nodus lebih tegas dengan distribusi lesi yang hampir simetris dan beberapa nodus seperti melekuk pada bagian tengah, lesi bagian tengah biasanya tampak normal dengan pinggir dalam infiltrat lebih jelas dibandingkan dengan pinggir luarnya. Dari beberapa plak tampak seperti *punched out*. Gejala kerusakan saraf antara lain hilangnya sensasi, hipopigmentasi, anhidrosis, dan rambut rontok dibandingkan tipe LL.

e. Tipe *Lepromatous* (LL)

Tipe LL memiliki jumlah lesi yang sangat banyak, simetris, permukaan halus, lebih kemerahan, mengkilap, batas tegas dan pada stadium awal tidak ditemukan *anasthesi* dan *anhidrosis*. Penyebaran lesi khas, yaitu pada wajah mengenai dahi, pelipis, dagu, dan cuping telinga. Sedangkan di tubuh mengenai bagian tubuh yang dingin, seperti lengan, punggung tangan, dan permukaan ekstensor tungkai bawah. Pada stadium lanjut terlihat kulit menebal secara progresif, cuping telinga menebal, garis muka menjadi kasar dan cekung membentuk *faciesleonina* yang dapat disertai *madarosis*, iritasi, dan keratitis, selain itu dapat terjadi kelainan struktur pada hidung,

didapatkan pembesaran kelenjar limfe, orkitis yang selanjutnya dapat menjadi atrofi testis. Kerusakan saraf yang luas menyebabkan gejala *stocking* dan *glove anasthesia*. Bila penyakit ini menjadi progresif akan muncul makula dan papul baru, sedangkan lesi lama menjadi plak dan nodus. Pada stadium lanjut, saraf-saraf tepi mengalami degenerasi *hialin* atau *fibrosis* yang menyebabkan anastesi dan pengecilan otot tangan dan kaki.

Dalam penggunaan obat kombinasi (MDT) untuk pemberantasan penyakit kusta, maka WHO mengklasifikasikan penderita kusta berdasarkan jumlah lesi kulit dan pemeriksaan apusan lesi kulit yaitu:

a. *Paucibacillary* (PB)

   Terdiri dari tipe *Indeterminate* (I), *tuberculoid* (TT), dan sebagian besar *borderline tuberculoid* (BT) dengan hasil negatif pada pemeriksaan mikroskopis pemeriksaan basil tahan asam (BTA). Jumlah lesi sebanyak 1-5 lesi, hipopigmentasi atau eritema, dan penyebarannya ansimetris.

b. *Multibacillary* (MB)

   Terdiri dari tipe *lepromatous* (LL), *borderline lepromatous* (BL), dan *mid borderline* (BB) dengan hasil positif pada pemeriksaan mikroskopis pemeriksaan basil tahan asam (BTA). Jumlah lesi sebanyak >5 lesi dan penyebarannya simetris.

5. Diagnosis Kusta

Penyakit kusta memiliki spektrum klinis yang luas sehingga biasanya didiagnosis berdasarkan pengamatan gejala klinis. Tanda-tanda utama yang dapat dilihat Menurut Amalia (2022) adalah:

a. Kelainan kulit yang mati rasa

Terdapat kemerahan pada kulit (eritema) yang mati rasa (anastesi) serta muncul bercak putih (hipopigmentasi).

Pemeriksaan dapat dilakukan dengan memeriksa seluruh tubuh di bawah pencahayaan yang cukup (sebaiknya sinar matahari), lesi bisa muncul di mana saja, sehingga perlu diketahui lokasi dan morfologinya. Lesi yang muncul pada saat pemeriksaan dapat berupa:

1) *Single* atau *multiple*
2) Berbatas tegas atau tidak
3) Ukuran yang bervariasi
4) Makula (lesi datar)
5) Papula (lesi menonjol)
6) Nodul
7) Hipopigmentasi
8) Eritematosa, kemerahan atau warna seperti tembaga
9) Hipoanastesi
10) Kulit kering yang disebabkan anhidrosis dan rambut rontok

b. Penebalan saraf tepi yang disertai gangguan fungsi saraf

Hal ini terjadi karena peradangan kronis pada saraf tepi (*neuritis perifer*). Gangguan fungsi dapat berupa:

1) Gangguan sensoris
2) Gangguan motorik: Kelemahan (*paresis*) dan kelumpuhan (*paralisis*)
3) Gangguan otonom: Kulit kering dan retak-retak

Penyakit kusta dapat didiagnosis dengan cara palpasi atau meraba sarafnya. Perlu diingat bahwa salah satu gejala utama penyakit kusta adalah penebalan saraf. Saraf yang paling berdampak adalah *nervus ulnaris* di siku, *nervus peroneal* di lutut, *nervus tibialis posterior* di pergelangan kaki, *nervus medianus* di pergelangan tangan, dan *nervus facialis* di telinga. Sebagai alternatif, tes fungsi saraf dapat dilakukan dengan cara:

1) Tes sensorik, sentuhan, nyeri, dan suhu. Tes fungsi saraf sensorik dapat dilakukan menggunakan beberapa jenis pemeriksaan yaitu menggunakan kapas, air dingin dengan suhu 25°C dan air hangat dengan rentang suhu 40°C-45°C dalam tabung reaksi, *ballpoint pen test* (BPT) cara konvensional namun tidak terstandarisasi untuk mengetahui gangguan fungsi sensorik. Terdapat tes lain yang sensitif dan objektif untuk mendeteksi gangguan sensorik pada penyakit kusta yaitu *Semmes Weinstein Monofilament* (SWM). SWM tersusun atas 6

monofilamen yang dikalibrasi secara tepat dengan panjang yang sama. Berisi kode dan warna untuk menghasilkan tekanan saat diaplikasikan pada permukaan kulit.

2) Tes motorik, pemeriksaan untuk diagnosis dini dan pengobatan gangguan fungsi neurologis sangat penting untuk penyakit kusta. Selain pemeriksaan yang sudah direkomendasikan WHO yaitu BPT, kapas, SWM, dan *pin prick test*, ada juga pemeriksaan pergerakan otot untuk menilai gangguan saraf motorik yang disebut *voluntary muscle test* (VMT).

3) Tes otonom, gangguan saraf otonom biasanya terdapat pada pasien kusta yang disebabkan oleh serat kecil bermielin. Saraf otonom yang mempersarafi berbagai sistem di tubuh bisa terpengaruh sehingga menyebabkan gangguan fungsi otonom.

c. Adanya hasil bakteri tahan asam (BTA)

Sampel diambil dari insisi kulit cuping telinga dan bagian lesi yang aktif.

6. Pemeriksaan Kusta

Menurut Prakoeswa (2022), diagnosis kusta ditegakkan berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan fisik. Selain itu dapat ditunjang dengan pemeriksaan bakteriologis, histopatologi, serologi, dan molekular.

a. Pemeriksaan Bakteriologis

Pemeriksaan bakteriologis atau mikroskopis dilakukan untuk mencari BTA dengan pewarnaan tahan asam seperti *Ziehl-Neelsen*. Pemeriksaan dilakukan dengan mengambil sampel dari insisi jaringan kulit melalui sayatan kecil. Pemeriksaan ini sangat berguna dalam mempercepat diagnosis karena lesi PB (*paucibacillary*) terjadi pada sekitar 7-10% pasien. Oleh karena itu, jika ditemukan kasus mencurigakan, perlu dilakukan pemeriksaan insisi jaringan kulit. Sebaiknya terdapat enam area yang harus diambil, yaitu cuping telinga kanan dan kiri, serta 2-4 lesi kulit lainnya yang aktif. Adanya bakteri berbentuk basil solid menunjukkan adanya organisme hidup dan mudah ditemukan pada pasien yang belum berobat atau pasien kambuh. Selama pemeriksaan mikroskipis akan dievaluasi *Bacterial Index* (BI) dan *Morphologycal Index* (MI). BI adalah ukuran semikuantitatif konsentrasi BTA dalam sediaan apus. BI bertujuan untuk menentukan jenis kusta dan mengevaluasi pengobatan. BI dievaluasi menurut skala logaritma Ridley. Sedangkan MI adalah bentuk utuh (solid) dari masing-masing BTA. MI bertujuan untuk mengetahui infektivitas bakteri, mengevaluasi pengobatan, dan menentukan resistensi obat.

Tabel 2.1 Penilaian BI Menurut Skala Logaritma Ridley

Indeks Bakteri	
-	0 BTA dalam 100 LP, hitung 100 lapangan pandang
1+	1-10 BTA dalam 100 LP, hitung 100 lapangan pandang
2+	1-10 BTA dalam 10 LP, hitung 100 lapangan pandang
3+	1-10 BTA dalam rata-rata 1 LP, hitung 25 lapangan pandang
4+	10-100 BTA dalam rata-rata 1 LP, hitung 25 lapangan pandang
5+	100-1000 BTA dalam 1 LP, hitung 25 lapangan pandang
6+	> 1000 BTA atau 5 clumps ditemukan dalam rata-rata 1 LP, hitung 25 lapangan pandang

b. Pemeriksaan Histopatologi

Pemeriksaan Histopatologi dilakukan untuk mencari BTA dengan mengambil spesimen jaringan atau saraf dari lesi kulit lalu diwarnai dengan Hematoksilin-Eosin (HE) dan Fite-Faraco (FF). Spesimen jaringan lesi kulit diambil dari bagian paling aktif yang menunjukkan ciri ciri berwarna merah, terdapat infiltrat dan/atau membesar yang biasanya terletak di bagian tepi. Pemeriksaan histopatologi ditentukan menggunakan kriteria dari Ridley dan Jopling. Meskipun spesifisitas pemeriksaan histopatologi tinggi, namun sulit membedakan kasus pasien kambuh dengan pasien PB atau membedakan kasus penyakit kusta dengan penyakit granulomatosa yang lain seperti sarkoidosis, tuberkulosis, dan penyakit granulomatosa non infeksi lainnya.

c. Pemeriksaan Serologi

Pemeriksaan serologi menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk mendeteksi antibodi terhadap antigen *Mycobacterium leprae* (PGL-1). Selain metode ELISA, terdapat juga metode lain yang dapat digunakan untuk pemeriksaan serologi, antara lain yaitu *lateral flow test, dipstick,* dan uji hemaglutinasi. Pemeriksaan terbaik untuk mendiagnosis pasien dengan imunitas selular rendah dan pasien dengan imunitas humoral baik seperti kusta MB jika dideteksi adanya antibodi anti PGL-1. Sedangkan pada pasien kusta PB, hasil serologisnya terkadang

negatif dan di wilayah endemis kusta cenderung hasil positif yang tinggi. Seropositifitas antibodi anti PGL-1 akan mengikuti dengan antigen *clearance* yang berkaitan dengan *Bacterial Index* (BI). Penanda resistensi terhadap pengobatan yaitu jika antibodi anti PGL-1 yang persisten. Di sisi lain, jika pasien yang sudah diobati memperlihatkan kadar antibodi anti PGL-1 yang meningkat maka hal ini mengindikasikan terjadinya kasus kekambuhan pada pasien. Pemeriksaan serologi lain yang didasarkan pada respon imun selular sedang ditinjau yaitu pengukuran produksi interferon gamma dan indikator tidak langsung dari imunitas seluler.

d. Pemeriksaan Molekular

Perkembangan metode molekular berdasarkan ampilifikasi asam nukleat yaitu PCR yang dikembangkan sejak tahun 1989. Pemeriksaan ini sangat sensitif serta spesifik dan telah dimanfaatkan untuk mendeteksi *Mycobacterium leprae*. Metode ini dapat digunakan untuk menghitung, mendeteksi, dan menetapkan viabilitas terhadap bakteri *Mycobacterium leprae*. Selain itu dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi kusta subklinis yang terjadi pada orang yang berinteraksi dengan penderita kusta, mengkonfirmasi kasus kusta tipe PB, menunjang pengobatan, dan mendeteksi resistensi terhadap obat.

Dasar dari metode pemeriksan ini adalah mengamplifikasi beberapa sekuens dari genom *Mycobacterium leprae* dan menentukan

deoxyribonucleid acid (DNA) atau *ribonucleic acid* (RNA) yang diamplifikasi. Spesimen bisa diambil dari berbagai lokasi seperti insisi jaringan kulit, biopsi kulit, swab mukosa hidung, swab atau biopsi mukosa mulut, saliva, sputum, nodus limfatikus, darah, saraf, rambut, dan urine.

B. Tinjauan Umum *Mycobacterium leprae*

1. Morfologi *Mycobacterium leprae*

Mycobacterium leprae merupakan bakteri gram positif tahan asam berbentuk basil penyebab penyakit kusta atau *Morbus hansen* yang ditemukan oleh G. A. Hansen pada tahun 1873 di Norwegia. Bakteri ini berukuran 0,3-0,5 µm x 1-8 µm, *Mycobacterium leprae* merupakan organismen aerob dengan massa *Mycobacterium leprae* $3,9 \pm 1,0 \times 10^{-14}$, biasanya berkelompok atau tersebar satu per satu, hidup di dalam sel khususnya jaringan yang memiliki suhu rendah. *Mycobacterium leprae* umunya tampak intraseluler khususnya pada makrofag dan sel Schwann di saraf perifer. Bakteri ini dapat terlihat pada pemeriksaan histopatologi jaringan dengan pewarnaan khusus seperti Ziehl-Neelsen atau Fite-Faraco. Dinding selnya tebal dan kaya akan glikolipid fenolik (PGL-1) yang berperan penting dalam patogenesis terutama adhesi ke sel saraf. *Mycobacterium leprae* tidak dapat dibiakkan dalam media buatan sehingga identifikasi morfologi biasanya dilakukan melalui pewarnaan histologis atau deteksi molekuler (Yusuf *et al*., 2018).

Menurut NCBI (2020), klasifikasi *Mycobacterium leprae* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phyllum : Actinomycetota

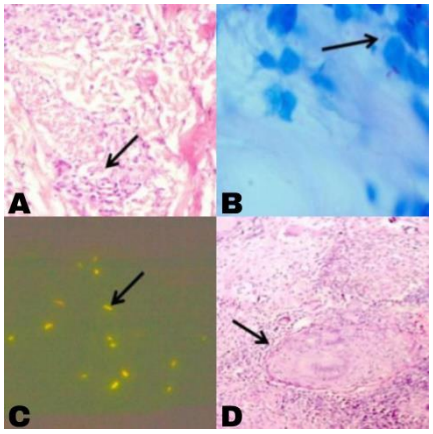
Class : Actinomycetes

Order : Mycobacteriales

Family : Mycobacteriaceae

Genus : Mycobacterium

Species : *Mycobacterium leprae*



Gambar 2.3 Morfologi *Mycobacterium leprae* di Bawah Mikroskop
Ket: A = Pengamatan Histopatologi *Multiple* Granuloma, B = Pengamatan Bakteriologi, C = Pengamatan Fluoresensi, D = Pengamatan Histopatologi Infiltrat Mononuklear Perineural
(Soni *et al*, 2025)

Mycobacterium leprae menyebabkan gejala klinis berupa kerusakan saraf tepi, kulit, dan organ tubuh kecuali sistem saraf pusat. Bakteri intraseluler obligat ini menghasilkan eksotoksin dan dapat hidup di makrofag. *Mycobacterium leprae* dapat menyerang saraf perifer karena mempunyai kecenderungan yang tinggi terhadap sel Schwann dan sel retikuloendotelial. *Mycobacterium leprae* dapat berkembang biak

dalam waktu 14-21 hari dan memiliki masa inkubasi rata-rata 2-5 tahun, namun ada yang menyebutkan bahwa masa inkubasi dapat bertahan hingga 40 tahun sebelum gejala klinis muncul (Yusuf *et al*., 2018).

2. Struktur *Mycobacterium leprae*

Menurut Zainuddin (2020), struktur *Mycobacterium leprae* terdiri dari:

a. Kapsul

Sekitar organisme terdapat zona elektron transparan seperti busa atau bahan vesikular. Kapsul terdiri dari dua lapisan lipis yaitu *phtiocerol dimycocerosate* (PDIM) yang bertindak sebagai pertahanan pasif dan *phenolic glycolipid-1* (PGL-1) yang tersusun atas gugus *phenol glikosilasi* dengan trisakarida yang sangat spesifik untuk mendeteksi *Mycobacterium leprae*. Bakteri akan terlindungi dari efek toksik enzim lisosom dan reaksi metabolisme oksigen yang dihasilkan oleh makrofag inang selama infeksi berlangsung karena terdapat peran dari susunan lipid pada kapsul.

b. Dinding sel

Dinding sel berperan sebagai pembentuk sel bakteri dan pelindung dari lingkungan luar. Terstruktur secara baik dan terdiri dari pola dinding sel yang tidak teratur yang hanya terdapat pada *Mycobacterium leprae*. Pada mikroskop elektron, tampak dinding sel dari bakteri ini tersusun atas dua lapisan.

Lapisan luar terlihat transparan, tersusun atas lipopolisakarida yang terdiri dari cabang *arabinogalaktan* yang terikat dengan asam mikolik rantai panjang melalui ikatan ester. Jenis struktur ini juga ditemukan pada spesies *Mycobacterium* lainnya, oleh karena itu tidak secara spesifik untuk *Mycobacterium leprae*.

Lapisan dalam tersusun atas polimer umum yang ditemukan pada bakteri yaitu peptidoglikan. Namun *Mycobacterium leprae* mempunyai susunan yang spesifik, terdiri dari rantai disakarida berulang dengan peptida pendek di mana *glisin* menggantikan *L-alanine*, sehingga dapat digunakan untuk deteksi antigen spesifik.

c. Membran sel

Membran sel berada di bawah dinding sel dan berperan sebagai kontrol pergerakan molekul masuk dan keluar sel, membran sel tersusun atas protein dan lipid. Protein berperan sebagai kontrol pergerakan aktif dan pasif molekul dan enzim yang berfungsi sebagai penyusun kapsul dan dinding sel. Antigen protein permukaan akan dibentuk oleh protein membran dan merupakan target utama kemoterapi.

d. Sitoplasma

Sitoplasma mengandung butiran-butiran. DNA *Mycobacterium leprae* memiliki ukuran yang hampir sama dengan *Mycobacterium tuberculosis*, namun kandungan basanya berbeda sehingga masih

dapat dideteksi. Basa guanin dan sitosin pada *M. leprae* sebanyak 54-58%. Sedangkan *Mycobacterium* lain antara 65-69%.

3. Gen *RLEP* (*Repetitive Element*)

Secara genetik, *Mycobacterium leprae* memiliki genom yang relatif kecil dibandingkan spesies mikobakteri lain, dengan banyak gen yang mengalami pseudogenisasi sehingga menyebabkan keterbatasan kemampuan hidupnya di luar sel inang. Salah satu ciri khas dari genom *Mycobacterium leprae* adalah adanya elemen genetik berulang (*repetitive sequence*), di antaranya *Repetitive Element* (*RLEP*). Keberadaaan *RLEP* yang terdistribusi dalam jumlah salinan tinggi pada genom *Mycobacterium leprae* menjadikannya sebagai target yang dapat digunakan dalam pemeriksaan molekuler. Gen *RLEP* (*Repetitive Element*) yaitu elemen berulang spesifik pada genom *Mycobacterium leprae* yang memiliki salinan tinggi sehingga meningkatkan sensitivitas, spesifisitas, dan positivity pada kasus *low bacillary index*. Sekuens berulang *RLEP* pada genom *Mycobacterium leprae* bisa mencapai 19-37 salinan sehingga dapat menjadi target yang lebih sensitif daripada salinan tunggal gen target lainnya. Selain itu, penargetan *RLEP* juga diketahui dapat mendeteksi DNA *Mycobacterium leprae* pada 73% pasien dengan indeks bakteri (BI) 0 (Wirayasa, 2022).

C. Tinjauan Umum Narakontak

Dalam sistem penularan penyakit kusta, kelompok risiko tinggi tertular penyakit kusta adalah orang yang tinggal di daerah endemis penyakit

kusta dan mempunyai kontak dengan penderita kusta atau yang biasa disebut sebagai narakontak. Narakontak dapat dibedakan menjadi narakontak serumah dan tidak serumah. Narakontak serumah merupakan orang yang tinggal berdampingan dan berinteraksi dengan penderita kusta minimal 6 bulan. Sedangkan narakontak tidak serumah merupakan orang yang berinteraksi dengan penderita kusta namun tidak tinggal serumah. Narakontak serumah berisiko lebih tinggi tertular akibat kontak dekat dan berkepanjangan dengan penderita kusta. Kusta subklinis dapat menyerang beberapa narakontak jika tidak dideteksi sejak dini. Sebab, penyakit kusta subklinis tidak menunjukkan gejala klinis, namun ditemukan antibodi spesifik yang tinggi di dalam darah terhadap *Mycobacterium leprae*. Diagnosis dini penyakit kusta subklinis sangat penting dilakukan karena dapat bertindak dalam pemberantasan penyakit kusta, karena jika sebagian besar penyakit kusta subklinis tidak diobati akan berkembang menjadi kusta subklinis (Priyadarshini *et al*., 2022).

Adanya kemungkinan penularan kepada narakontak serumah dan tidak serumah pada saat kasus indeks belum terdiagnosis karena belum menampakkan gejala. Selain itu, terdapat faktor-faktor lain yang dapat menyebabkan penularan penyakit kusta. Faktor antar kulit, kontak intim, kontak berulang juga merupakan risiko untuk terjadinya penyakit kusta ini. Penularan dapat terjadi melalui kontak langsung maupun kontak tidak langsung, dapat juga melalui saluran pernapasan (Sari, 2023).

D. Tinjauan Umum *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

1. Definisi *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

PCR pertama kali ditemukan pada tahun 1983 oleh Kary Mullis yang digunakan secara luas dalam bidang biologi molekuler, genetika molekuler, diagnostik medis, dan forensik. PCR adalah pemeriksaan secara in vitro untuk mengamplifikasi sekuen DNA. *Polymerase* merupakan enzim yang mempercepat reaksi sintesis molekul DNA dari *nucleotide triphosphates* (NTPs). *Chain Reacion* atau reaksi berantai merupakan produk dari satu reaksi menghasilkan reaksi berikutnya dengan banyak rantai yang berlipat ganda (Pertiwi *et al*., 2021)

Prosedur PCR membutuhkan DNA murni untuk amplifikasi yang diperoleh melalui tahapan ekstraksi DNA yang memisahkan dan memurnikan molekul DNA dari sel atau jaringan. Proses ekstraksi DNA terdiri atas tiga langkah yaitu lisis sel yaitu menghancurkan membran, purifikasi yaitu memisahkan DNA dari sel atau jaringan, dan presipitasi yaitu menghilangkan air dari DNA. Setelah DNA murni diperoleh selanjutnya dilakukan proses amplifikasi DNA (Reski, 2023).

Prinsip dasar PCR adalah mengamplifikasi fragmen DNA spesifik dari *Mycobacterium leprae* agar jumlahnya berlipat ganda dan dapat divisualisasikan sebagai pita pada medan elektroforesis. Dibutuhkan suatu zat yang disebut *primer* yang digabung dengan enzim *polymerase* serta beberapa zat tertentu untuk mengampilifikasi rantai DNA tersebut. Untuk mengamplifikasi untai DNA. Ketika selesai dimasukkan ke dalam

mesin PCR lalu dilakukan satu siklus maka salinan untai DNA akan dihasilkan. Mesin PCR akan terus berlanjut hingga siklus selesai dan akan divisualisasi pada medan elektroforesis. Hal ini disebabkan karena untai DNA *Mycobacterium leprae* bersifat spesifik, sehingga apa yang diamplifikasi dan diamati dalam medan elektroforesis adalah bakteri tersebut (Adhiyanto *et al*., 2020).

2. Komponen *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Menurut Kusnadi dan Arumingtyas (2020), untuk melakukan proses PCR diperlukan komponen PCR yaitu:

a. DNA *template*

DNA *template* digunakan sebagai cetakan untuk perbanyakan DNA. Cetakan ini dapat terdiri atas DNA kromoson, DNA plasmid ataupun fragmen DNA. DNA *template* dapat diperoleh melalui metode lisis sel atau ekstraksi DNA berdasarkan metode standar yang ada untuk mendapatkan DNA murni dan berkualitas tinggi.

b. *Primer*

Hasil PCR didasarkan dari *primer* yang digunakan. *Primer* berperan sebagai pembatas untuk amplifikasi fragmen DNA target dan menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3’ yang dibutuhkan dalam proses eksistensi DNA.

Primer dapat dirancang berdasarkan urutan DNA yang diketahui. Urutan DNA dapat diperoleh dari *database GenBank*. Jika urutan DNA target tidak diketahui, maka penyusunan *primer* dapat

didasarkan pada hasil analisis homologi dari urutan DNA yang paling erat hubungannya. Dalam melakukan penyusunan *primer* harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut:

1) Panjang *primer*

   Panjang *primer* yang dipilih harus dipertimbangkan. Panjang *primer* biasanya antara 18 hingga 30 basa. Panjang *primer* kurang dari 18 basa menghasilkan spesifisitas yang lebih rendah dan memungkinkan terjadi *mispriming* (*primer* menempel di area yang tidak diinginkan). Sebaliknya, jika panjang *primer* lebih dari 30 basa tidak mempengaruhi spesifisitas *primer* secara signifikan namun hanya membuat harganya lebih mahal.

2) Komposisi *primer*

   Urutan nukleotida yang berulang harus dihindari. Hal ini dapat dapat mengurangi spesifisitas *primer* dan mengakibatkan terjadinya *mispriming*. Persentase komposisi G dan C harus sama atau komposisi G dan C pada *primer* lebih besar dari DNA target. *Primer* dengan persentase G dan C yang rendah cenderung tidak dapat berikatan secara efektif dengan target. Sebaiknya G atau C pada ujung 3’ karena jika A atau T dapat terhadap terjadi *mismatch* dibandingkan dengan G atau C. Hal ini dapat mengurangi spesifisitas *primer*.

3) *Temperature melting* (Tm)

Temperatur melting merupakan temperatur dimana 50% untai ganda DNA terpisah. Pemilihan Tm suatu *primer* sangat penting karena akan berpengaruh dalam pemilihan suhu annealing. Sebaiknya Tm berkisar antara 50-65°C.

4) Interaksi *primer-prime*

Self homology dan *cross homology* pada interaksi *primer-prime* harus dihindari. Begitu pula *mispriming* pada area yang tidak diinginkan.

c. *Deoxynucleotide triphosphates* (dnTPs)

dNTPs merupakan campuran yang meliputi dATP (*deoxyadenine triphosphate*), dTTP (*deoxythymidine triphosphate*), dCTP (*deoxycytosine triphosphate*), dan dGTP (*deoxyguanine triphosphate*). dNTPs berperan sebagai *building block* DNA yang dibutuhkan pada tahap ekstensi atau pemanjangan DNA. dNTP mengikat gugus –OH pada ujung 3’ *primer* menciptakan untai baru yang lengkap dengan untai DNA *template*.

d. *buffer* PCR dan $MgCl_2$

Reaksi PCR hanya terjadi pada pH tertentu. Oleh karena itu, diperlukan *buffer* yang untuk menetralkan pH. ion Mg^{2+} yang berasal dari $MgCl_2$ juga diperlukan. $MgCl_2$ berperan sebagai kofaktor yang akan menstimulasi reaksi DNA *polymerase*. Keberadaan $MgCl_2$

dapat meningkatkan ikatan antara *primer* dengan *template* sehingga membentuk kompleks yang larut dengan dNTP (senyawa antara).

e. Enzim DNA *polymerase*

Reaksi polimerisasi DNA diperankan oleh Enzim DNA *polymerase*. Dalam proses PCR, enzim ini penting untuk tahap ekstensi atau pemanjangan DNA. Enzim DNA *polymerase* berasal dari isolat bakteri termofilik atau hipertermofilik sehingga tahan panas hingga suhu 95°C.

3. Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Proses PCR melibatkan tiga tahap menurut Adhiyanto *et al* (2020) (Hidayat, 2020) yaitu:

a. Denaturasi

Pada tahap denaturasi, sampel DNA beruntai ganda akan diubah menjadi untai tunggal pada suhu 95°C. Ikatan hidrogen dalam DNA terputus pada suhu tinggi. Tahap denaturasi berlangsung sekitar 1-2 menit setelah itu suhu diturunkan menjadi 55°C.

b. Annealing (Penempelan *Primer*)

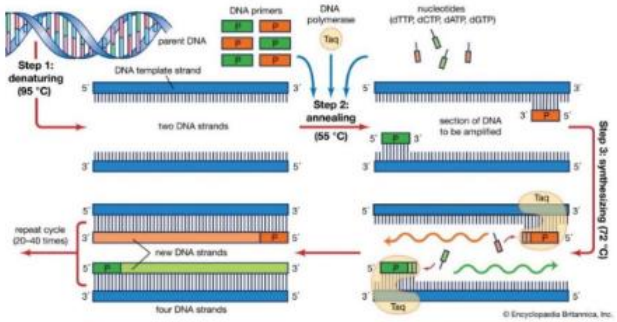
Pada DNA *template primer* akan menempel pada area tertentu melalui ikatan hidrogen (suhu yang tepat bergantung pada suhu Tm *primer* yang digunakan). Sangat penting menentukan suhu annealing yang tepat karena berdampak signifikan pada efisiensi dan spesifisitas. Suhu annealing biasanya efektif pada suhuh rendah misalnya 37°C, tetapi suhu yang lebih rendah dapat menyebabkan

misprimimg. Suhu yang lebih tinggi dapat menyebabkan tingginya spesifisitas reaksi amplifikasi dan menurunkan efisiensi. Sebaiknya suhu annealing berkisar 3°C hingga 5°C lebih rendah dari suhu Tm *primer*. Suhu annealing dapat dihitung menggunakan rumus Tm = 4 (G-C) + 2(A-T).

c. Extension/Elongation (Pemanjangan Primer)

Extension adalah tahap di mana DNA *polymerase* mempolimerisasi untai DNA baru berdasarkan informasi yang terkandung dalam DNA *template* menggunakan suhu 72°C.

Proses PCR diulangi selama 20-32 siklus sampai menghasilkan jumlah DNA untai ganda yang terpolimerisasi lebih banyak daripada jumlah DNA *template* awal.



Gambar 2.4 Proses Amplifikasi Dengan Metode PCR (Hidayat, 2020)

4. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi PCR

Keberhasilan PCR menurut Hidayat (2020) ditentukan oleh beberapa faktor yaitu:

a. dNTP

Sebelum digunakan, larutan stok dNTP harus dinetralkan hingga 7,0. Konsentrasi dNTP juga harus diperiksa dengan spektrofotometri. Proses PCR membutuhkan konsentrasi sekitar 20 – 200 µM untuk setiap dNTP. Hal ini mengurangi kesalahan nukleotida selama reaksi reaksi berantai polimerase.

b. *Primer*

Pada reaksi PCR digunakan konsentrasi *primer* yang optimal antara 0,1-0,5 µM. Jika konsentrasi *primer* yang digunakan lebih tinggi makan dapat menyebabkan akumulasi non spesifik terhadap hasil polimerisasi. *Primer* yang biasanya mengandung oligonukleotida sepanjang 18 – 28 nukleotida dengan komposisi G dan C 50 – 60%. *Primer forward* dan *reverse* yang digunakan harus memiliki Tm yang sama. Tm didefinisikan sebagai suhu di mana separuh molekul DNA terdenaturasi.

c. DNA *template*

Sebaiknya jumlah DNA *template* yang optimal adalah sekitar 10^5-10^6 molekul. Kompleksitas sampel DNA akan mempengaruhi keefektifan jumlah DNA *template* yang dibutuhkan untuk amplifikasi.

d. Komposisi larutan *buffer*

Sebagian besar *buffer* mengandung *buffering agent* yang terdiri atas *tri based buffer*, garam, dan KCl. pH pada aktivitas dan akurasi DNA *polymerase* dikontrol oleh *Buffer* selama reaksi. Aktivitas DNA *polymerase* akan meningkat sebesar 50 – 60 % dengan konsentrasi KCl yang sesuai yaitu 50 mM dibandingkan tanpa menggunakan KCl.

e. Jumlah siklus dan reaksi

Dua tahap PCR yang biasanya diubah adalah suhu annealing dan waktu ekstensi. Umumnya, tidak ada perbedaan yang signifikan antara waktu dan suhu. Namun, proses denaturasi dapat dipersingkat atau suhu denaturasi dapat diturunkan dalam beberapa kasus agar jumlah depurinasi dapat berkurang yang dapat menyebabkan mutasi.

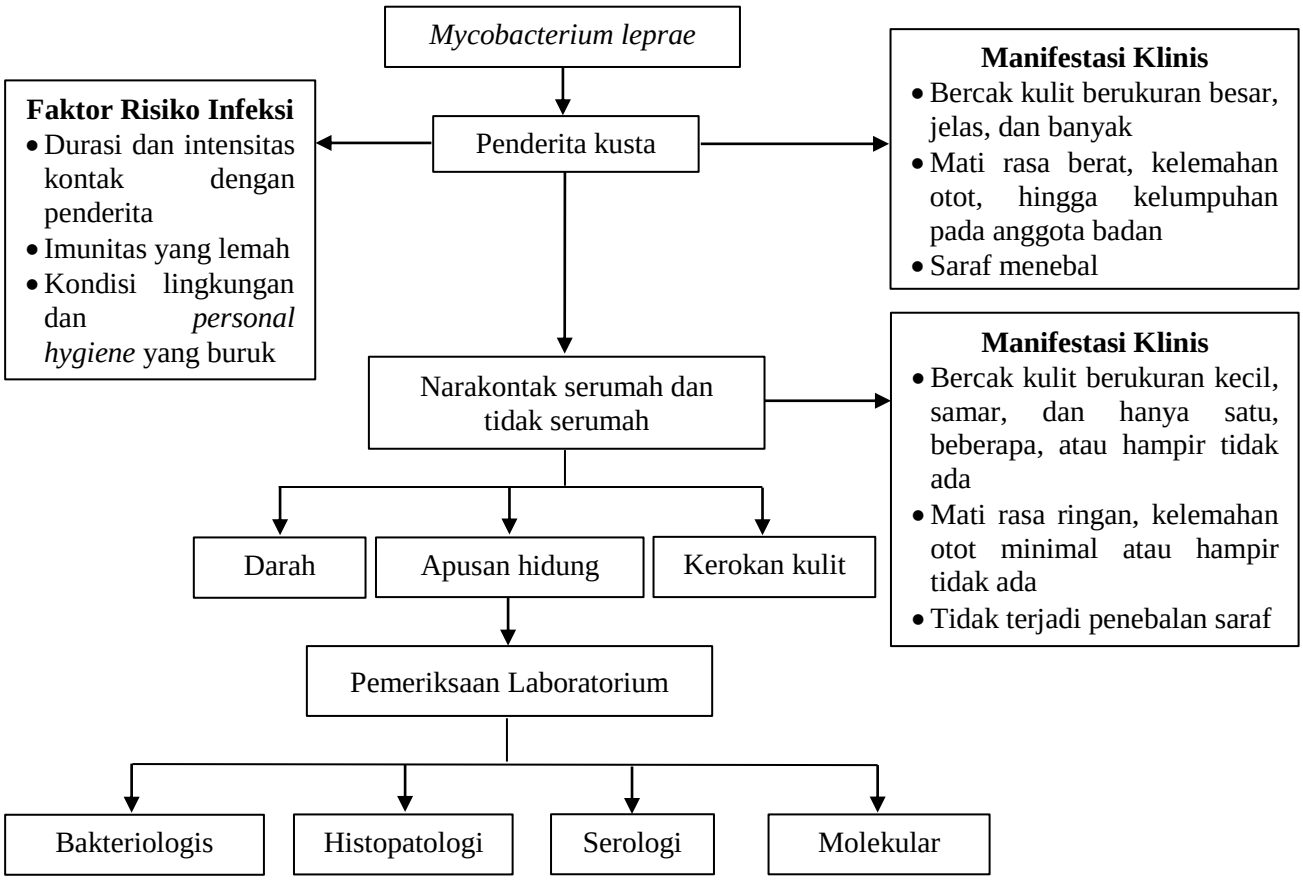
f. Enzim yang digunakan

Konsentrasi Taq DNA *polymerase* yang digunakan dalam campuran PCR yaitu 50 µL berkisar 1-1,25 unit. Kelebihan enzim sering kali disebabkan oleh kesalahan pemipetan. Sulit untuk menambahkan larutan enzim dalam jumlah kecil secara akurat, sehingga disarankan untuk mempersiapkan campuran aktivasi yang membutuhkan jumlah reagen yang lebih besar untuk mengurangi kesalahan pemipetan.

g. Kontaminasi asam nukelat

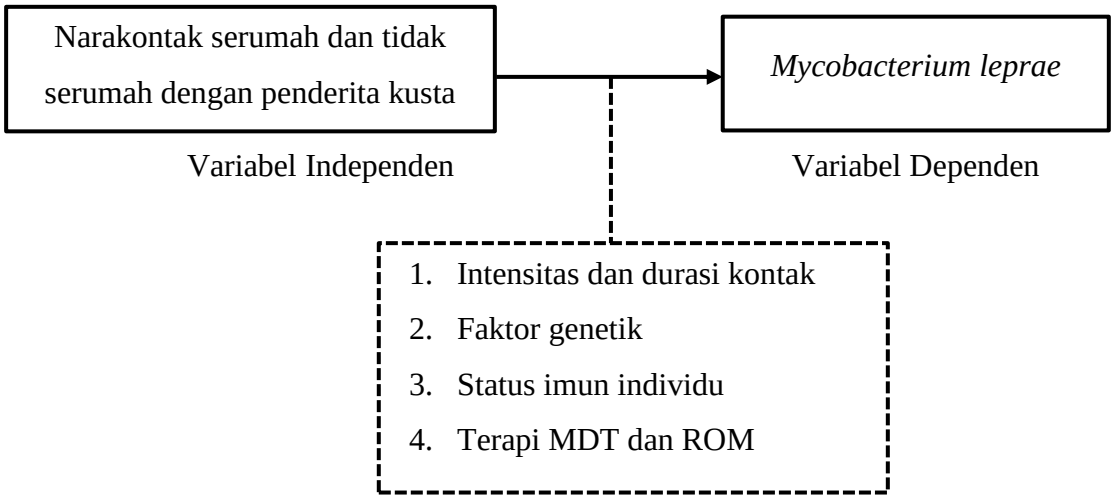
Perlu diperhatikan untuk menghindari pemindahan DNA dari satu sampel ke sampel lainnya dan meminimalisir kontaminasi silang antar sampel. Selama proses pra dan pasca amplifikasi sebaiknya gunakan *handscoon* dan ganti secara berkala, area kerja yang steril dan pipet terpisah untuk menghindari kontaminasi pada sampel yang akan diuji.

E. Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori

F. Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep

G. Definisi Operasional

1. Penderita kusta merupakan penderita yang memenuhi 3 tanda utama (*cardinal sign*) dalam pemeriksaan kelainan kulit, penebalan saraf tepi, dan adanya bakteri tahan asam (BTA).
2. Narakontak serumah merupakan individu atau kelompok yang setiap harinya tinggal serumah dengan penderita selama minimal 6 bulan berturut-turut. Intensitas dan lama kontak serumah merupakan tingkat kedekatan, frekuensi, dan durasi interaksi antara narakontak dengan penderita kusta dihitung beradasarkan saat penderita merasa sakit dan/atau sejak lahir.
3. *Mycobacterium leprae* merupakan bakteri tahan asam, gram positif, dan berbentuk basil yang menyebabkan infeksi kusta.
4. PCR konvensional merupakan teknik mendeteksi DNA target *Mycobacterium leprae* pada sampel secara kualitatif.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat observasional laboratorik yang bertujuan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri *Mycobacterium leprae* pada narakontak serumah dan tidak serumah dalam swab nasofaring dengan metode PCR. Jenis desain waktu yang digunakan adalah *cross sectional*, di mana data dan sampel swab nasofaring akan dikumpulkan dari populasi narakontak serumah yang memenuhi kriteria inklusi pada satu titik waktu.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Kompleks Kusta Jongaya, Jalan Dangko, Kecamatan Tamalate, Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC), Jalan Perintis Kemerdekaan, Kecamatan Tamalanrea, Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli – Agustus 2025.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah narakontak serumah dan narakontak tidak serumah penderita kusta di Kompleks Kusta Jongaya.

2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel swab nasofaring dari 15 sampel narakontak serumah dan 5 sampel narakontak tidak serumah penderita kusta di Kompleks Kusta Jongaya.

D. Kriteria Sampel

1. Kriteria Inklusi

a. Responden yang tinggal bersama penderita kusta selama minimal 6 bulan
b. Sering menggunakan peralatan pribadi secara bersama
c. Memiliki riwayat kontak erat dengan penderita kusta namun tidak tinggal serumah
d. Responden yang tinggal di rumah dengan ventilasi buruk, sanitasi tidak layak, dan kepadatan penghuni tinggi

2. Kriteria Eksklusi

a. Mengalami obstruksi hidung
b. Mendapatkan terapi MDT dan ROM

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah rak tabung, mikropipet (Bio-rad), *centrifuge (*Mini Biofuge Pico), inkubator (Heidolph Titramax – 100), *laminary air flow* (ESCO), *Biosafety Cabinet Class A2*, *vortex* (Genie-2), *thermal cycler* (MiniAmp), neraca analitik (Kern 440-47 N), gelas ukur, botol schott duran, *microwave* (Electrolux),

cetakan gel elektroforesis, sisir cetakan (Com), *chamber* elektroforesis (Bio-rad), *powerpac*, *GelDoc UV transluminator (*Biorad), *freezer* (Electrolux), *Power pac* (Bio-rad), *cool box* (Wthb Outdoor), dan *timer*.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel swab nasofaring, sampel swab insisi kuping, *alcohol swab* (OneMed), *cotton swab* steril (OneMed), tip, *microtube* 1.5 mL, PBS (*Phosphat Buffer Saline*), kit ekstraksi DNA (Geneaid), etanol absolut 96%, *enzym* PCR MyTaq^{TM} HS Red Mix (Meridian Biosience^{TM}), NFW (*Nuclease Free* Water) tabung PCR, bubuk agarosa (*Molecular Grade*), Etbr (*Ethidium bromide*), TBE (*Tris Boric EDTA*) 0.5x, DNA *ladder*, primer gen *RLEP* mengacu pada penelitian Mohanty *et al* (2020): *primer forward* 10mM 5’ TGCATGTCATGGCCTTGAGG 3’, *primer reverse* 10mM 5’ CACCGATACCAGCGGCAGAA 3’.

F. Prosedur Kerja

1. Prosedur Pengambilan Swab Nasofaring

Alat dan bahan disiapkan untuk prosedur pengambilan swab nasofaring. Pasien diposisikan pada posisi duduk dalam keadaan relaks dengan kepala bersandar dan menengadah sekitar 45°-70° dan pastikan obstruksi pada hidung tidak ada. *Cotton swab* steril dikeluarkan dari pembungkus dengan cara menggunting ujung atas pembungkus. *Cotton swab* steril dimasukkan ke dalam lubang hidung sekitar 1 – 2,5 cm dengan posisi sejajar langit-langit mulut hingga terasa seperti menyentuh

nasofaring. *Cotton swab* diputar secara perlahan sebanyak 5 kali dan *cotton swab* didiamkan di nasofaring selama beberapa detik agar dapat menyerap sekresi dengan optimal. *Cotton swab* dikeluarkan secara perlahan kemudian dimasukkan ke dalam *microtube* yang berisi PBS (*Phosphate Buffer Saline*). Bagian lidi *cotton swab* dipatahkan agar *microtube* dapat ditutup dengan rapat (Agustina *et al*., 2025).

2. Prosedur Ekstraksi DNA Metode *Spin Column*

Alat dan bahan disiapkan untuk proses ekstraksi DNA metode *spin coloumn*. Sampel swab nasofaring dimasukkan ke dalam *microtube* steril sebanyak 200 µL. Proteinase K ditambahkan sebanyak 20 µL lalu dihomogenkan dengan cara *pipetting*. Campuran larutan diinkubasi menggunakan suhu 60°C selama 5 menit. *buffer* GSB ditambahkan sebanyak 200 µL lalu divortex kemudian diinkubasi kembali menggunakan suhu yang sama selama 2 menit. Etanol aboslut 96% ditambahkan sebanyak 200 µL lalu divortex selama 10 detik. Semua campuran tersebut dipindahkan ke dalam *spin coloumn* lalu disentrifus menggunakan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. *collection tube* yang berada di bawah *spin coloumn* dibuang lalu diganti dengan *collection tube* baru. *Buffer* W1 ditambahkan sebanyak 400 µL *buffer* lalu disentrifus dengan kecepatan yang sama selama 30 detik. Cairan yang ada pada *collection tube* dibuang. *Wash buffer* ditambahkan sebanyak 600 µL lalu disentrifus selama 30 detik. Cairan pada *collection tube* dibuang dan disentrifus kembali selama 3 menit. *Collection tube*

dibuang lalu tabung *microtube* steril di bagian bawah *spin coloumn*. *Elution buffer* ditambahkan sebanyak 100 µL lalu didiamkan selama 3 menit kemudian disentrifus selama 30 detik. Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung mikrosentrifus disimpan pada suhu -20°C untuk digunakan sebagai *template* PCR (Ladju *et al*., 2025).

3. Prosedur Amplifikasi DNA

Alat dan bahan dipersiapkan untuk proses amplifikasi DNA. *Enzy taq polymerase ready to use* dimasukkan ke dalam *microtube* sebanyak 12,5 (12,5 µL x 24 sampel). *Primer forward* 10 mM dan *primer reverse* 10 mM ditambahkan masing-masing sebanyak 0,5 µL (0,5 µL x 24 sampel). NFW (*Nuclease Free Water*) ditambahkan sebanyak 6,5 µL (6,5 µL x 24 sampel). Campuran PCR *Mix* divortex ± 5 detik lalu larutan dpipet ke dalam masing-masing tabung PCR sebanyak 20 µL. DNA murni hasil ekstraksi ditambahkan ke dalam tabung PCR sebanyak 5 µL. Tabung PCR dihomogenkan dan pastikan seluruh tabung tertutup rapat. *Thermal Cycler* diatur suhu dan waktu sesuai protokol. *Pre heat* pada suhu 95°C selama 2 menit, *denaturation* pada suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 58°C selama 20 detik, dan *extention* pada suhu 72°C selama 20 detik, diikuti dengan *post extention* pada suhu 72°C selama 8 menit. Amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus. Tabung PCR dimasukkan ke dalam *thermal cycler* lalu alat ditutup dan dimulai *running* sampel (Mohanty *et al*., 2020).

4. Prosedur Elektroforesis Gel

Alat dan bahan dipersiapkan untuk proses elektroforesis gel. Bubuk agarosa ditimbang sebanyak 1,5 gr lalu dimasukkan ke dalam tabung schott duran. TBE 0,5x ditambahkan sebanyak 100 mL untuk membuat agarosa 1,5 %. Larutan dipanaskan dalam *microwave* selama 3 menit hingga seluruh bubuk agarosa larut sempurna. Larutan didiamkan selama 3 menit hingga panasnya sekitar 60°C lalu *ethidium bromide* ditambahkan sebanyak 5 µL. Larutan dituang ke dalam cetakan yang telah disiapkan lalu didiamkan selama 1 jam atau sampai gel memadat sempurna. Sisir elektroforesis dilepaskan sehingga akan terbentuk *well*. Gel yang telah memadat dipindahkan ke dalam *chamber elektroforesis* yang berisi TBE 0,5x. DNA sampel dimasukkan ke dalam *well* sebanyak 10 µL. DNA *ladder* dimasukkan sebanyak 5 µL sebagai penanda. *Power pac* dinyalakan dari aliran negatif ke positif. Proses elektroforesis ditunggu sampai 60 menit sehingga warna *loading buffer* yang biru berpindah ke tengah gel. *Power pac* dimatikan *power pac*. Gel diletakkan dalam *drawer* GelDoc UV lalu Trans UV dinyalakan. Hasil running elektroforesis kemudian divisualisi menggunakan GelDoc (Ladju *et al*., 2025).

G. Pengumpulan dan Analisis Data

1. Pengumpulan Data

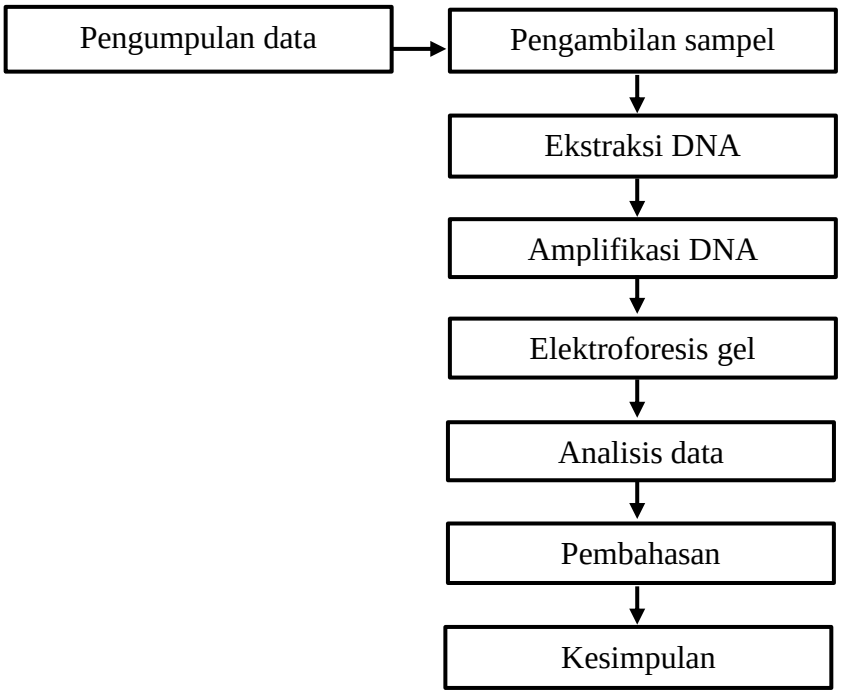
Pengumpulan data pertama akan dilakukan dengan metode *purposive sampling* beradasarkan kriteria inklusi dan pengisian kuesioner. Pengambilan *swab nasofaring* dilakukan sesuai dengan SOP kemudian dianalisis menggunakan metode PCR untuk mendeteksi keberadaan *mycobacterium leprae* dalam *nasofaring*.

Pengumpulan data kedua dilakukan dengan cara menelusuri literatur dari artikel ilmiah yang relevan dan akan dijadikan acuan dalam penulisan skripsi ini.

2. Analisis Data

Data yang diperoleh dari sampel *swab nasofaring* narakontak serumah dan tidak serumah penderita kusta akan dideteksi dengan melakukan pemeriksaan PCR. Adanya keberadaan *Mycobacterium leprae* ditunjukkan dengan munculnya pita DNA sepanjang 129 bp.

H. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Pada penelitian ini mendeteksi *Mycobacterium leprae* menggunakan dua variabel yaitu narakontak serumah dan narakontak tidak serumah penderita kusta menggunakan swab nasofaring di Kompleks Kusta Jongaya. Pemilihan kedua variabel tersebut didasarkan pada intensitas dan durasi kontak erat dengan penderita kusta sehingga memiliki risiko tinggi untuk terpapar *Mycobacterium leprae*. Penelitian ini menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang telah dilaksanakan di laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) pada tanggal 16 Juli – 19 Agustus 2025.

1. Karakteristik Sampel Penelitian

a. Karakteristik Sampel Berdasarkan Usia

Tabel 4.1 Karakteristik Sampel Berdasarkan Usia

Karakteristik Sampel Berdasarkan Usia				
Kelompok Usia	**Narakontak Serumah**		**Narakontak Tidak Serumah**	
	Jumlah	**(%)**	**Jumlah**	**(%)**
11 – 20 tahun	2	13.3	1	20
21 – 30 tahun	2	13.3	-	-
31 – 40 tahun	4	26.7	1	20
41 – 50 tahun	3	20	-	-
> 50 tahun	4	26.7	3	60
Total	**15**	**100**	**5**	**100**

Pada narakontak serumah, karakteristik sampel berdasarkan usia terbanyak pada pada usia 30 – 39 tahun dan > 50 tahun masing-masing sebanyak 4 orang (26.7 %), pada usia 40 – 49 tahun

sebanyak 3 orang (20 %), dan terendah pada usia 10 – 19 tahun dan 20 – 29 tahun masing-masing 2 orang (13.3 %). Pada narakontak tidak serumah, karakteristik sampel berdasarkan usia terbanyak pada usia > 50 tahun sebanyak 3 orang (60 %) dan terendah pada usia 10 – 19 tahun tahun dan 30 – 39 tahun masing-masing 1 orang (20 %).

b. Karakteristik Sampel Berdasarkan Jenis Kelamin

Tabel 4.2 Karakteristik Sampel Berdasarkan Jenis Kelamin

Karakteristik Sampel Berdasarkan Jenis Kelamin				
Jenis Kelamin	**Narakontak Serumah**		**Narakontak Tidak Serumah**	
	Jumlah	**(%)**	**Jumlah**	**(%)**
Laki – laki	6	40	-	-
Perempuan	9	60	5	100
Total	**15**	**100**	**5**	**100**

Pada narakontak serumah, karakteristik sampel berdasarkan jenis kelamin terbanyak yaitu perempuan sebanyak 9 orang (60 %) dan terendah pada laki – laki sebanyak 6 orang (40 %). Pada narakontak tidak serumah terdiri dari 5 orang (100 %), seluruhnya berjenis kelamin perempuan.

c. Karakteristik Sampel Berdasarkan Status Hubungan Dengan Penderita Kusta

Tabel 4.3 Karakteristik Sampel Berdasarkan Status Hubungan Dengan Penderita Kusta

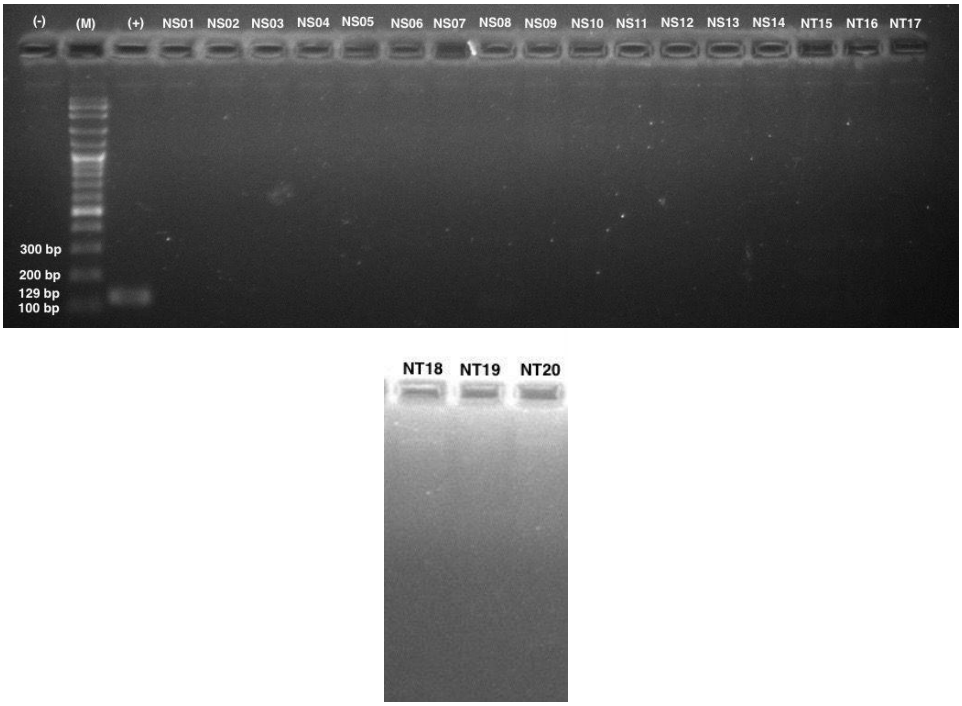
Karakteristik Sampel Berdasarkan Status Hubungan Dengan Penderita Kusta				
Status	**Narakontak Serumah**		**Narakontak Tidak Serumah**	
	Jumlah	**(%)**	**Jumlah**	**(%)**
Suami/Istri	1	6.7	-	-
Anak	11	73.3	-	-
Cucu	3	20	-	-
Tetangga	-	-	5	100
Total	**15**	**100**	**5**	**100**

Pada narakontak serumah, karakteristik sampel berdasarkan status terbanyak pada anak sebanyak 11 orang (73.3 %), cucu sebanyak 3 orang (20 %) dan terendah pada suami/istri sebanyak 1 orang (6.7%). Pada narakontak tidak serumah, sampel diambil dari tetangga sebanyak 5 orang (100 %).

2. Hasil Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel swab nasofaring pada narakontak serumah dan tidak serumah penderita kusta di Kompleks Kusta Jongaya. Total sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 20 sampel yang terdiri dari 15 sampel dari narakontak serumah, 5 sampel dari narakontak tidak serumah, 1 kontrol positif berupa *Reitz serum* yang diperoleh dari insisi cuping telinga penderita kusta di RSUP Dr. Tadjuddin Chalid Makassar, serta 1 kontrol negatif.

Pada pemeriksaan deteksi *Mycobacterium leprae* digunakan DNA hasil ekstraksi lalu dilanjutkan pada proses PCR kemudian visualisasi hasil elektroforesis gel dilakukan menggunakan UV Transilluminator untuk melihat hasil pita DNA sampel dengan sinar UV yang menunjukkan ukuran pita DNA 129 bp yang dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil Visualisasi Elektroforesis
Ket: (-) = Kontrol Negatif, (M) = Marker, (+) = Kontrol Positif, NS = Narakontak Serumah, NT = Narakontak Tidak Serumah

Hasil visualisasi dengan elektroforesis dari sampel swab nasofaring yaitu tidak ditemukan adanya DNA *Mycobacterium leprae* yang ditunjukkan dari pita yang tidak terbentuk pada target 129 bp. Sebanyak 15 sampel dari narakontak serumah dan 5 sampel dari narakontak tidak serumah yang diperoleh dari swab nasofaring menunjukkan hasil negatif terhadap *Mycobacterium leprae*.

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan di laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) pada tanggal 16 Juli – 19 Agustus 2025. Proses pengumpulan sampel menggunakan *cross sectional*, di mana data dan sampel akan dikumpulkan dari populasi narakontak serumah dan tidak serumah yang memenuhi kriteria inklusi pada satu titik waktu. Sampel

yang digunakan yaitu sampel swab nasofaring dari narakontak serumah dan tidak serumah di Kompleks Kusta Jongaya. Sebanyak 20 sampel digunakan dalam penelitian ini yang terdiri atas 15 sampel dari narakontak serumah dan 5 sampel dari narakontak tidak serumah. Penelitian ini menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mendeteksi ada tidaknya *Mycobacterium leprae* yang ditunjukkan dengan kemunculan pita pada saat visualisasi elektroforesis gel menggunakan GelDoc.

Populasi sampel dalam penelitian ini adalah narakontak serumah dan tidak serumah karena kedua kelompok ini memiliki risiko tinggi untuk tertular penyakit kusta yang disebabkan oleh intensitas dan durasi kontak yang dilakukan secara terus menerus dengan penderita kusta. Sampel diperoleh dari swab nasofaring karena lokasi ini merupakan jalur utama masuknya *Mycobacterium leprae* ketika bakteri tersebut keluar melalui *droplet* saat penderita batuk atau bersin lalu akan dihirup oleh narakontak sebelum akhirnya bakteri tersebut mencapai saraf dan kulit lalu menginfeksi yang ditandai oleh kelainan kulit seperti kemerahan, bercak putih, terdapat lesi, penebalan saraf tepi yang disertai gangguan fungsi saraf sensorik seperti kulit mati rasa, gangguan motorik seperti kelemahan otot hingga kelumpuhan pada anggota gerak, serta gangguan saraf otonom seperti anhidrosis dan kerontokan rambut. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sebagai skrining dini untuk mendeteksi *Mycobacterium leprae* terutama pada narakontak yang tidak menimbulkan gejala kusta atau yang biasa disebut sebagai kusta subklinis.

Hal ini disebabkan metode PCR memiliki spesifisitas yang tinggi karena menggunakan primer spesifik yang dapat menempel pada DNA target.

Tahapan awal untuk mendapatkan DNA murni yang akan digunakan pada proses PCR adalah melalui tahapan ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA merupakan proses memisahkan dan memurnikan molekul DNA dari sel atau jaringan termasuk membran seluler, RNA, dan protein. Penting untuk memastikan kualitas DNA pada saat melakukan ekstraksi DNA. Faktor-faktor yang perlu dipertimbangkan saat memilih metode ekstraksi DNA meliputi waktu, biaya, potensi toksisitas, hasil, ketersediaan peralatan laboratorium, dan jumlah sampel (Sari & Restanto, 2022).

Ekstraksi DNA dapat dilakukan menggunakan berbagai metode, mulai dari metode konvensional hingga kit. Dalam penelitian ini menggunakan metode berbasis kit yaitu *spin column* karena dapat menghasilkan DNA yang relatif murni. Langkah utama ekstraksi DNA menggunakan kit adalah lisis sel, pengikatan DNA, pencucian DNA, dan elusi dengan reagen atau *buffer* yang telah disediakan oleh produsen Geneaid. Membran silika yang terdapat pada *spin column* akan mengikat DNA. Prinsip dasar membran silika adalah membran silika di *spin column* akan mengikat DNA dengan bantuan dari garam *chaotrophic* berkonsentrasi tinggi. Kontaminan dihilangkan lalu DNA akan dielusi dari membran silika menggunakan air atau garam penyangga yang berkonsentrasi rendah. Pelepasan DNA dari membran silika yang akan memisahkan DNA dari komponen seluler lainnya akan tertampung dan akan digunakan pada proses PCR (Zakirah *et al*., 2025).

Setelah DNA murni diperoleh, langkah selanjutnya adalah proses PCR untuk mengamplifikasi urutan DNA sebanyak mungkin dari jumlah awal. Molekul kecil terutama asam nukleat akan direaksikan melalui reaksi amplifikasi PCR menjadi jumlah yang lebih banyak dalam rentang mikrogram. Setiap urutan dalam metode PCR terdiri dari tiga tahapan yaitu denaturasi, annealing, dan ekstensi. Ketiga tahapan ini akan diulang dalam waktu tertentu. Pada penelitian ini menggunakan rujukan jurnal dari Mohanty *et al* tahun 2020 berdasarkan primer dari target gen *RLEP* yang digunakan. Tahap pertama dalam amplifikasi DNA yaitu *pre heat* menggunakan suhu 95°C selama 2 menit untuk mencapai suhu yang diperlukan pada saat proses denaturasi DNA. Tahap denaturasi menggunakan suhu 95°C selama 30 detik untuk merusak untai ganda DNA menjadi untai tunggal. Tahap annealing menggunakan suhu 58°C selama 20 detik untuk menempelkan primer pada urutan nukleotida yang sesuai dengan urutan primer dan menempel pada posisi ujung 5’ dari untai DNA target yang telah terurai sebelumnya. Tahap ekstensi menggunakan suhu 72°C selama 20 detik untuk pemanjangan untai DNA. Tahap terakhir adalah final ekstensi menggunakan suhu 72°C selama 8 menit untuk memastikan bahwa semua fragmen DNA yang diamplifikasi telah diperpanjang sepenuhnya.

DNA yang telah diamplifikasi, selanjutnya dideteksi DNA targetnya menggunakan elektroforesis dengan gel agarosa sebagai medianya. Elektroforesis adalah metode pemisahan suatu zat berdasarkan pergerakan molekul bermuatan atau mikromolekul di bawah pengaruh medan listrik

dalam gel agarosa. Prinsip dari elektroforesis didasarkan pada makromolekul bermuatan listrik diletakkan ke dalam media yang bermuatan energi listrik. Berdasarkan muatannya, molekul-molekul ini akan berpindah menuju kutub positif atau negatif. Molekul bermuatan negatif (anion) akan bergerak menuju kutub positif, sementara molekul bermuatan positif (kation) akan bergerak menuju kutub negatif. Pergerakan molekul DNA dipengaruhi oleh ukuran molekul DNA, kepadatan gel yang dilaluinya, dan arus listrik yang digunakan. Semakin kecil ukuran DNA maka pergerakannya semakin lambat. Jika arus yang digunakan semakin besar maka semakin cepat juga pergerakan DNA. Setelah elektroforesis selesai, hasilnya dapat divisualisasi pada pita yang terbentuk (Rahmawati *et al*., 2024).

Berdasarkan tabel 4.1 dapat diketahui bahwa karakteristik sampel berdasarkan usia pada narakontak serumah terbanyak pada usia 30 – 39 tahun dan > 50 tahun masing-masing sebanyak 4 orang (26.7 %) dan terendah pada usia 10 – 19 tahun dan 20 – 29 tahun masing-masing 2 orang (13.3 %). Pada narakontak tidak serumah, terbanyak pada usia > 50 tahun sebanyak 3 orang (60 %) dan terendah pada usia 10 – 19 tahun dan 30 – 39 tahun masing-masing 1 orang (20 %). Menurut penelitian Amaliah *et* al tahun 2023, *Mycobacterium leprae* dapat menyerang di kalangan usia. Namun usia rentan untuk terkena infeksi ini adalah usia muda dan usia produktif karena usia ini masuk ke dalam fase yang memiliki aktivitas dan pergaulan yang lebih tinggi sehingga rentan terpapar *Mycobacterium leprae*.

Berdasarkan tabel 4.2 dapat diketahui bahwa karakteristik sampel berdasarkan jenis kelamin pada narakontak serumah terbanyak pada perempuan sebanyak 9 orang (60 %) dan terendah pada laki-laki sebanyak 6 orang (40 %). Pada narakontak tidak serumah terdiri dari 5 orang (100 %), seluruhnya berjenis kelamin perempuan. Menurut penelitian Maulina *et al* tahun 2023, laki-laki lebih berisiko terpapar *Mycobacterium leprae* dibandingkan perempuan karena laki-laki jarang memperhatikan *personal hygiene* dan sering beraktivitas di luar rumah sehingga meningkatkan peluang terpapar bakteri tersebut.

Berdasarkan tabel 4.3 dapat diketahui bahwa karakteristik sampel berdasarkan status pada narakontak serumah terbanyak pada anak sebanyak 11 orang (73.3 %) dan terendah pada suami/istri sebanyak 1 orang (6.7 %). Pada narakontak tidak serumah, sampel diperoleh dari tetangga sebanyak 5 orang (100 %). Menurut penelitian Priyadarshini *et al* tahun 2022, narakontak serumah terutama anak-anak berisiko lebih tinggi terpapar *Mycobacterium leprae* karena kontak dekat dan berkepanjangan dengan penderita kusta serta belum memiliki imunitas yang baik

Meskipun seseorang memiliki faktor tersebut, penularan *Mycobacterium leprae* tetap dipengaruhi oleh faktor utama yaitu intensitas dan durasi kontak yang lama dengan penderita, kondisi sistem imun yang melemah, *personal hygiene* yang buruk, dan faktor genetik dapat meningkatkan kerentanan terhadap *Mycobacterium leprae* berupa

polimorfisme gen seperti *NRAMP1*, *PARK2*, dan *LTA* (Rimbawati & Wulandari, 2025).

Hasil pemeriksaan dinyatakan positif apabila terbentuk pita di 129 bp dan sejajar dengan kontrol positif *Mycobacterium leprae*. Berdasarkan gambar 4.1, hasil pemeriksaan PCR pada sampel menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuknya pita di 129 bp. Oleh karena itu, tidak ditemukan bakteri *Mycobacterium leprae* pada sampel yang digunakan. Berdasarkan hasil kuesioner, responden tidak pernah mengalami gejala klinis kusta, seperti kulit berwarna merah atau putih yang kehilangan rasa atau mati rasa, kulit nyeri dan melepuh, kulit menebal dan bengkak, gangguan pada anggota gerak, sehingga kemungkinan besar responden memang tidak terinfeksi. Selain itu, penderita yang menjadi sumber narakontak telah rutin menjalani pengobatan dalam 3 kali seminggu sehingga risiko penularan semakin menurun. Narakontak dengan usia > 50 tahun juga sebelumnya pernah mendapatkan pengobatan preventif dengan obat DDS (*Diamino Dipheyl Sulfone*) yang diberikan pemerintah pada saat masih duduk di bangku SD hingga SMP ketika terjadi peningkatan kasus kusta, sehingga turut memperkecil kemungkinan adanya infeksi kusta. Menurut Kemenkes RI yang dikutip dari Anjarsari dan Indrahti pada tahun 2023, DDS telah digunakan sebagai monoterapi atau pengobatan tunggal sejak tahun 1949. Selama pemberian obat, terdapat kemungkinan munculnya resistensi yang dapat menyebabkan bakteri bertahan atau persister. Pada tahun 1964, kasus resistensi pernah terjadi terhadap penggunaan obat DDS. Sehingga pada

tahun 1982, WHO (*World Health Organization* merekomendasikan pengobatan MDT (*Multi Drug Therapy*) yang menggabungkan dua atau lebih obat anti kusta, salah satunya adalah obat rifampisin dengan sifat bakterisida yang sangat kuat.

Temuan pada penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilaporkan dalam studi literatur yang dilakukan oleh Ahmad pada tahun 2020, dimana sampel positif *Mycobacterium leprae* pada narakontak serumah menggunakan swab nasofaring sebanyak 47/2.992 (1,5 %). Pada penelitian tersebut dilakukan *follow up* selama 10 tahun terhadap narakontak serumah penderita kusta. Tahun pertama *follow up* menunjukkan responden sebanyak 32/47 (68%) mengalami gejala kusta, diikuti pada tahun kedua dan ketiga *follow up* sebanyak 9/47 (19%). Mayoritas narakontak serumah yang terdiagnosis kusta memiliki kontak erat dengan penderita kusta MB (*Multibacillary*) tipe LL (*Lepromatous*) selama 5 tahun terakhir dan juga kebanyakan dari narakontak yang terkena adalah individu yang tidak memiliki bekas luka vaksin BCG pada lengan kanan atas.

Keterbatasan pada penelitian ini yaitu penderita kusta yang telah menjalani pengobatan sehingga berpotensi memengaruhi hasil deteksi karena beban bakteri *Mycobacterium leprae* pada penderita yang sudah mendapatkan pengobatan menjadi berkurang sehingga risiko penularan kepada narakontak semakin menurun. Ketidaktepatan teknik pengambilan sampel swab nasofaring jika tidak mengenai bagian nasofaring menyebabkan sampel tidak representatif dan terjadi hasil negatif palsu. *Pipetting error* menyebabkan

volume tidak tepat dan terdapat gelembung udara dapat memengaruhi hasil penelitian. Penggunaan *elution buffer* 100 µL dapat memengaruhi konsentrasi DNA karena volume besar dapat menyebabkan DNA menjadi lebih encer sehingga sensitivitas PCR menurun. Sebaiknya menggunakan *elution buffer* sebanyak 30-50 µL untuk sampel swab nasofaring yang sebelumnya telah diisi PBS agar DNA yang diperoleh lebih terkonsentrasi.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Tidak terdeteksi *Mycobacterium leprae* dalam swab nasofaring narakontak serumah dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang ditandai dengan tidak munculnya pita DNA pada ukuran 129 bp saat visualisasi elektroforesis gel menggunakan GelDoc.
2. Tidak terdeteksi *Mycobacterium leprae* dalam swab nasofaring narakontak tidak serumah dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang ditandai dengan tidak munculnya pita DNA pada ukuran 129 bp saat visualisasi elektroforesis gel menggunakan GelDoc.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diharapkan penelitian selanjutnya meningkatkan jumlah dan variasi sampel sehingga hasil yang diperoleh lebih representatif dan mengkombinasikan dengan pemeriksaan lain seperti pemeriksaan bakteriologis, histopatologi, atau serologi untuk memperkuat validitas hasil penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Adhiyanto, C., Hendarmin, L., & Puspitaningrum, R. (2020). *Pengenalan Dasar Teknik Bio-Molekuler*. Yogyakarta: Deepublish.

Agustina, P., Novipuspitasari, L., Nilasari, H., Setiawaty, V., Firmansyah, I., Nehwan, E. J., & Lokida, D. (2025). *Surveilans Sentinel Penyakit Infeksi di Rumah Sakit*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.

Ahmad, A. (2020). *Gambaran Penularan Mycobacterium leprae Melalui Udara Melalui Identifikasi Carrier Lepra Menggunakan Pemeriksaan Nasal Swab PCR Pada Populasi Dengan Riwayat Kontak Erat Dengan Pasien Lepra : Literature Review*. Universitas Hasanuddin.

Akbar, H. (2020). Faktor Risiko Kejadian Kusta Di Wilayah Kerja Puskesmas Juntinyuat. *Jurnal Wiyata:*, *7*(1), 37–47.

Amalia, A. N. (2022). *Stigma Masyarakat Pada Penderita Kusta Di Dusun Kedung Peluk Desa Kahuripan Sari Kecamatan Pacet Kabupaten Mojokerto*. Universitas Bina Sehat.

Amaliah, R., Yuniati, L., Roem, N. R., Vitayani, S., & Setiawati, S. (2023). Karakteristik Penderita Lepra (Kusta) Yang Menjalani Pengobatan Rawat Jalan Di Puskesmas Tamalate Makassar Periode 2018-2021. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, *3*(5), 358–365.

Anjarsari, H., & Indrahti, S. (2023). Unit Rehabilitasi Kusta Donorojo: Perkembangan Dan Pengelolaannya Dalam Melawan Kusta. *Historiografi*, *4*(2), 125–133.

Bangun, S. R., Napitupulu, D. S., & Sinaga, Y. A. (2023). Uji Ekstrak Daun Sirih Merah Terhadap Pertumbuhan Mycobacterium Leprae Dengan Pendekatan Daya Kasih Kristus Pada Penderita Morbus Hansen Di Panti Rehabilitasi Kusta Gema Kasih Galang Desa Jaharun Tahun 2023. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, *4*(3), 2526–2533.

Grace, J., Triana, G., Saragih, M., & Stevany, N. (2024). Wanita 33 Tahun Dengan Morbus Hansen. *Jurnal Ners Research & Learning in Nursing Science*, *8*(2), 1325–1329.

Hidayat, M. H. (2020). *Penelitian Biomedik Dan Ilmu Kedokteran*. Bandung: Alfabeta CV.

Kusnadi, J., & Arumingtyas, E. (2020). *Polymerase Chain Reaction (PCR): Teknik Dan Fungsi*. Malang: UB Press.

Ladju, R. B., Halik, H., Aswad, H., Usman, M. Y., Ali, M. B., Samsi, N., … Septiani, A. F. S. (2025). *Penegakan Diagnosis Penyakit Infeksi Dengan*

Pendekatan Molekuler Genomik Dan Serologi. Makassar: Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC).

Maulina, N., Zakiyya, N., & Mellaratna, W. P. (2023). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Tingkat Kecacatan Penderita Kusta Di Puskesmas Wilayah Kerja Kota Lhokseumawe Tahun 2016 - 2020. *Jurnal Ilmiah Manusia Dan Kesehatan*, *6*(1), 100–108.

Mellaratna, W. P. (2022). Penegakan Diagnosis Kusta Secara Dini Untuk Pencegahan Kecacatan Yang Ditimbulkan. *Jurnal Ilmiah Sains, Teknologi, Ekonomi, Sosial Dan Budaya*, *6*(2), 58–62.

Mohanty, P. S., Naaz, F., Bansal, A. K., Kumar, D., Sharma, S., Arora, M., … 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.

NCBI. (2020). Taksonomi Mycobacterium leprae. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=1297123&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock

Pertiwi, M., Wulandari, K. K., Rodja, H. A., Urjiyah, U. G., Fibriani, E., & Putri, F. A. (2021). Teknik Diagnostik Konvensial Dan Lanjutan Untuk Infeksi Bakteri Dan Resistensi Antibakteri Di Indonesia. *Jurnal Widya Biologi*, *12*(02), 98–116.

Prakoeswa, F. R. S. (2022). *Buku Ajar Kusta*. Surakarta: Muhammadiyah University Press.

Priyadarshini, I. A. U., Nyoman Suryawati, & Luh Made Mas Rusyati. (2022). Kadar IL-10 Plasma Berkorelasi Positif Dengan Kadar IgM Anti PGL-1 Pada Narakontak Serumah Pasien Kusta Tipe Multibasiler. *Intisari Sains Medis*, *13*(1), 243–250.

Rahmawati, A. W., Setyawati, A. N., Firdausi, R. F., Dewi, L. M., Akmalia, S. D., Rahmawati, P. D., & Fasya, A. H. (2024). Examination Technique of KHV In Cyprinus rubrofuscus By PCR Method At BKIPM Surabaya I, East Java. *JAGO TOLIS : Jurnal Agrokompleks Tolis*, *4*(3), 223–233.

Reski, N. P. S. (2023). *Identifikasi Isolat Bakteri Probiotik Dari Ayam Buras Gallus domesticus Asal Pesisir Kabupaten Pangkep Menggunakan Metode Gen 16SrRNA*. Universitas Hasanuddin.

Rimbawati, Y., & Wulandari, R. (2025). Analisis Faktor Risiko Penularan Pasien Kusta. *Jurnal Kesehatan Dan Pembangunan*, *15*(1), 224–231.

Saleh, A. A., Mutmainna, A., & Sabil, F. A. (2024). Analisis Faktor Risiko Yang Berhubungan Dengan Kejadian Kusta di Puskesmas Tamalanrea Jaya Kota Makassar. *JIMPK Jurnal Ilmiah Mahasiswa & Penelitian Keperawatan*,

4(1), 44–50.

Sari, A. I. (2023). *Kadar Imunoglobulin G Dan Imunoglobulin M Pada Penderita Kusta Dengan Kontak Serumah*. Universitas Hasanuddin.

Sari, V. G., & Restanto, D. P. (2022). Metode Ekstraksi DNA Genom Untuk Tanaman Tinggi Kandungan Polisakarida dan Metabolit Sekunder. *Agroteknika*, *5*(2), 118–129.

Sibero, H. T. (2021). Diagnosis dan Penatalaksanaan Kusta. *Medula*, *11*(2), 247–251.

Soni, S., Walke, V., Asati, D., Maurya, A., & Mukhopadphyay, S. (2025). Fluorescent Microscopy: A Useful And Adjunct Tool In Leprosy Diagnosis: A Cross Sectional Study. *Iranian Journal Of Pathology*, *20*(1), 33–41.

Tuturop, K. L., Adimuntja, N. P., & Borlyin, D. E. (2022). Faktor Risiko Kejadian Penyakit Kusta Di Puskesmas Kotaraja. *Jambura Journal of Epidemiology*, *1*(1), 1–10.

Warka, U. L., Hatta, M., Muslich, L. T., Syamsuri, F., Hamid, F., & Sultan, A. R. (2024). Molecular Identification Of Mycobacterium leprae In The Leprosy Patients. *International Journal of Mycobacteriology*, *13*(3), 288–292.

Wirayasa, A. (2022). Nasal Swab Multiplex PCR (MPCR) Sebagai Metode Diagnosis Dini pada Narakontak Serumah Penyandang Lepra. *Jurnal Sosial Dan Sains*, *2*(5), 638–647.

Yusuf, Z. K., Paramata, N. R., Dulahu, W. Y., Mursyidah, A., & Soelis, Yuniar Mansye Pomalango, Z. B. (2018). *Kupas Tuntas Penyakit Kusta*. Gorontalo: Ideas Publishing.

Zainuddin, A. N. (2020). *Analisis Respon Imunoglobulin G Terhadap Protein MCE1A Pada Penderita Kusta Dan Narakontak Serumah Di Makassar*. Universitas Hasanuddin.

Zakirah, F., Razak, M. S. bin M., & Suci, A. n N. N. (2025). Teknik Ekstraksi DNA Ikan Sidat (Anguila spp.) Di Laboratorium Bioteknologi Akuakultur Universiti Malaysia Terengganu. *Prosiding Seminar Nasional Kelautan Dan Perikanan*, 418–424.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kuesioner Penelitian

KUESIONER DATA DEMOGRAFI

1. Hari/Tanggal :
2. Nama Responden :
3. Usia :
4. Jenis Kelamin :
5. Status Hubungan Dengan Penderita Kusta
   - Orang Tua
   - Anak
   - Saudara kandung
   - Pasangan
   - Lainnya (Sebutkan)

     _____
6. Pendidikan :
7. Pekerjaan :

KUESIONER KUSTA

Petunjuk pengisian

- Pilihlah salah satu jawaban yang menurut anda benar dan sesuai dengan yang anda ketahui.
- Semua pertanyaan jangan ada yang terlewat.
- Jika adayang tidak mengerti bisa menanyakan pada peneliti.
- Beri tanda silang (X) pada opsi jawaban yang sudah disediakan.

Etiologi

1. Apakah anda tahu penyebab kusta adalah bakteri *Mycobacterium leprae*?
   a. Ya b. Tidak

Manifestasi Klinis

2. Apakah ada masalah pada kulit berupa warna merah atau putih yang kehilangan rasa/mati rasa?

a. Ya b. Tidak

3. Apakah ada masalah pada kulit berupa kulit kering dan pecah-pecah?
   a. Ya b. Tidak

4. Apakah ada masalah pada kulit berupa kulit yang nyeri dan melepuh?
   a. Ya b. Tidak

5. Apakah ada masalah pada kulit berupa kulit menebal dan bengkak?
   a. Ya b. Tidak

6. Apakah ada masalah berupa gangguan pada anggota gerak/badan?
   a. Ya b. Tidak

7. Apakah ada masalah pada mata, kulit, dan otot?
   a. Ya b. Tidak

Tempat Penularan

8. Apakah kondisi rumah anda lembab?
   a. Ya b. Tidak

Riwayat Kontak

9. Berapa lama anda tinggal serumah dengan penderita kusta?
   a. Kurang dari 6 bulan b. Lebih dari 6 bulan

10. Apakah anda memiliki kontak fisik/langsung (misalnya, bersentuhan, dan lain-lain) dengan penderita kusta?
    a. Ya b. Tidak

11. Apakah anda memiliki kontak tidak langsung (misalnya, berbagi tempat tidur, kamar mandi, makan bersama, meminjamkan pakaian/handuk, berbagi peralatan pribadi lainnya) dengan penderita kusta?
    a. Ya b. Tidak

12. Jika ya, seberapa sering kontak tersebut terjadi?
    a. Setiap hari b. Beberapa kali seminggu c. Jarang

13. Apakah anda sedang mengonsumsi obat MDT (*Multi Drug Therapy*) atau ROM (*Rifampicin, Ofloxacin, and Minocycline*)?
    a. Ya b. Tidak

Informasi Tambahan

Apakah anda memiliki hal lain yang ingin anda bagikan dengan peneliti?

Lampiran 2. Surat Izin PTSP

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

Nomor : **13516/S.01/PTSP/2025**
Lampiran : -
Perihal : **Izin penelitian**

Kepada Yth.
Direktur HUM-RC RSP Universitas Hasanuddin Makassar

di-
Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 1808/07.091056/VI/2025 tanggal 10 Juni 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	:	**VALEN TIWA PATANDUK**
Nomor Pokok	:	B1D324084
Program Studi	:	Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga	:	Mahasiswa (D4)
Alamat	:	Jl. Antang Raya No. 43 Makassar

dpmptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

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

" DETEKSI Mycobacterium leprae DALAM SWAB NASOFARING NARAKONTAK SERUMAH DAN TIDAK SERUMAH PENDERITA KUSTA DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***23 Juni s/d 23 Juli 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 20 Juni 2025

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

ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA UTAMA MUDA (IV/c)
Nip : 19750321 200312 1 008

Tembusan Yth
1. Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar di Makassar;
2. *Pertinggal.*

Lampiran 3. Surat Izin Kelurahan

PEMERINTAH KOTA MAKASSAR
KECAMATAN TAMALATE
KELURAHAN BALANG BARU
Jalan Tanggul Patompo No. 18 Makassar
Telepon : 0411 - 856271

Makassar, 04 Juli 2025

Kepada

Nomor : 400/059/KBB/VII/2025
Lampiran : --
Perihal : **Rekomendasi Penelitian**

Yth. **Ketua RW 04 Kel. Balang Baru**
di –
Makassar

Berdasarkan Surat dari Lembaga Penilitian Dan Pengembangan Mayarakat (LPPM) Univeritas Megaresky nomor : 1993/07.091056/VII/2025 tanggal 03 Juli 2025 perihal Pengambilan Data Awal Penilitian ,oleh :

Nama : VALEN TIWA PATANDUK
Instansi : Fakultas teknologi kesehatan program studi D-IV
Alamat : Jl. Antang Raya

Bermaksud melakukan penelitian di wilayah Saudara dengan judul **"Deteksi Mycobacterium Leprae Dalam Swab Nasofaring Narakontak serumah dan tidak serumah penderita kusta dengan metode polymerase chain reaction (PCR) Kel. Balang Baru Kec. tamalate Kota Makassar"** selama 1 (satu) hari pada bulan Juli 2025 dan pada prinsipnya pemerintah kelurahan menyetujui olehnya itu diharapkan diberikan bantuan seperlunya.

Demikian disampaikan untuk dimaklumi.

Plt. Lurah Balang Baru

SOFYAN ,SE
Pangkat : Penata muda Tingkat 1
NIP. 197801302009011003

Lampiran 4. Surat Izin RSUP Dr. Tadjuddin Chalid Makassar

Kemenkes
RS Tadjuddin Chalid

Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal Kesehatan Lanjutan
RSUP Dr. Tadjuddin Chalid Makassar
Jalan Paccerakkang Nomor 67
Pajjaiang Daya Makassar, 90241
(0411) 512902
https://www.rstc.co.id

Nomor : DP.04.03/D.XXVII/9272/2025 15 Juli 2025
Hal : **Izin Penelitian**

Yth.
Bapak / Ibu
.....
RSUP dr. Tadjuddin Chalid

Berdasarkan surat Direktur Utama RSUP dr. Tadjuddin Chalid nomor: DP.04.03/D.XXVII/9272/2025 Tanggal 15 Juli 2025 perihal izin penelitian Mahasiswa/Peneliti berikut ini :

N a m a	:	**VALEN TIWA PATANDUK**
NIM	:	**B1D324084**
Program Studi	:	**D-IV Teknologi Laboratorium Medis**
Institusi	:	**Universitas Megarezky**
Judul Penelitian	:	**Deteksi Mycobacterim Leprae dalam Swab Nasofaring Narakontak Serumah dan Tidak Serumah Penderita Kusta dengam Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)**
Waktu Penelitian	:	**15 Juli s/d 15 Agustus 2025**

Maka kami memohon kepada bapak / ibu kiranya berkenan mendampingi dan membantu mahasiswa tersebut dalam mengumpulkan data yang dibutuhkan pada penelitiannya.
Demikian permohonan ini, atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Manajer Penelitian

Kemenkes

ERNI AMSI, S.Sos, M.Si

Lampiran 5. Surat Kode Etik

Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal Kesehatan Lanjutan
RS Mata Makassar
Jalan Jalur Lingkar Barat, Tallasa City
Makassar
0811555123
https://www.rsmatamakassar.org

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"

No.DP.04.03/D.XLV.9.2/045/2025

Protokol penelitian versi 4 yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti utama : Valen Tiwa Patanduk
Principal In Investigator

Nama Institusi : Universitas Megarezky
Name of the Institution

Dengan judul:
Title

"Deteksi Mycobacterium Leprae Dalam Swab Nasofaring Narakontak Serumah dan Tidak Serumah Penderita Kusta dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)"

"Detection of Mycobacterium leprae in Nasopharyngeal Swabs of Household and Non Household Contacts of Leprosy Patients Using the Polymerase Chain Reaction (PCR) Method"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan 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 Concent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 23 Juni 2025 sampai dengan tanggal 23 Juni 2026.

This declaration of ethics applies during the period June 23, 2025 until June 23, 2026.

June 23, 2025
Chairperson,

Dr.dr.Purnamanita Syawal, Sp.M., MARS

00011/EA/2025/0261257371

Lampiran 6. Kit Ekstraksi DNA (Geneaid)

Geneaid

3. Wash

Add **400 µl of W1 Buffer to the GS Column**. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Add **600 µl of Wash Buffer (make sure absolute ethanol was added)** to the GS Column. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Centrifuge again for 3 minutes at 14-16,000 x g to dry the column matrix.

4. Elution

Transfer the dried GS Column to a clean 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **100 µl of pre-heated Elution Buffer**, TE Buffer or water into the **CENTER** of the column matrix. Let stand for at least 3 minutes to allow Elution Buffer, TE Buffer or water to be completely absorbed. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds to elute purified DNA.

Blood, Cultured Cell, Amniotic Fluid Protocol Procedure

1A. Blood Sample Preparation

Transfer up to **200 µl of whole blood, serum, plasma, buffy coat or body fluids to a 1.5 ml microcentrifuge tube**. **Adjust the volume to 200 µl with PBS**. Add **20 µl of Proteinase K** then mix by pipetting. Incubate at 60°C for 5 minutes.

1B. Cultured Cell Sample Preparation

Trypsinze adherent cells prior to harvesting. Transfer **cells (up to 1 x 10^7)** to a 1.5 ml microcentrifuge tube then centrifuge for 5 minutes at 300 x g. Discard the supernatant then resuspend cells in **200 µl of PBS** by pipette. Add **20 µl of Proteinase K** then mix by pipetting. Incubate at 60°C for 5 minutes.

1C. Amniotic Fluid Sample Preparation

Transfer up to **15 ml of amniotic fluid** to a 15 ml centrifuge tube. Centrifuge for 3 minutes at 14-16,000 x g then discard the supernatant. Add **200 µl of GST Buffer** to resu[illegible]d the pellet and transfer the mixture to a 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **10 µl of Proteinase K** [illegible]rously. Incubate at 60°C for 30 minutes. During *incubation, invert the tube every 5 minutes.*

2. Cell Lysis

Add **200 µl of GSB Buffer** then mix by shaking vigorously. For blood and cell samples, *incubate at 60°C for 5* minutes, inverting the tube every 2 minutes. For amniotic fluid samples, incubate at 60°C for at least 20 minutes, inverting the tube every 5 minutes. During incubation, transfer required volume of Elution Buffer (200µl/sample) to a 1.5 ml microcentrifuge tube and heat to 60°C (for Step 5 DNA Elution).

Optional RNA Removal Step

For RNA-free gDNA, following GSB Buffer addition and 60°C incubation, add 5 µl of RNase A (50 mg/ml) and mix by shaking vigorously. Incubate at room temperature for 5 minutes to ensure efficient RNA degradation.

3. DNA Binding

Add **200 µl of absolute ethanol** to the sample lysate and mix **IMMEDIATELY** by shaking vigorously for 10 seconds. If precipitate appears, break it up as much as possible with a pipette. Place a **GS Column in a 2 ml Collection Tube**. Transfer all of the mixture (including any insoluble precipitate) to the GS Column. Centrifuge at 14-16,000 x g for 1 minute. Following centrifugation, if the mixture did not flow through the GS Column membrane, increase the centrifuge time until it passes completely. Discard the 2 ml Collection Tube containing the flow-through then transfer the GS Column to a new 2 ml Collection Tube.

NOTE: It is important that the lysate and ethanol are mixed thoroughly to yield a homogeneous solution.

4. Wash

Add **400 µl of W1 Buffer to the GS Column**. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Add **600 µl of Wash Buffer (make sure absolute ethanol was added)** to the GS Column. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Centrifuge again for 3 minutes at 14-16,000 x g to dry the column matrix.

Geneaid

5. Elution

Transfer the dried GS Column to a clean 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **100 µl of pre-heated Elution Buffer**, TE Buffer or water into the **CENTER** of the column matrix. Let stand for at least 3 minutes to allow Elution Buffer, TE Buffer or water to be completely absorbed. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds to elute purified DNA.

Kit Components

Component	GS004	GS100	GS300
GST Buffer	3 ml	30 ml	75 ml
GSB Buffer	4 ml	40 ml	75 ml
W1 Buffer	2 ml	45 ml	130 ml
Wash Buffer[1] (Add Ethanol)	1 ml (4 ml)	25 ml (100 ml)	50 ml (200 ml)
Proteinase K[2] (Add ddH_2O)	1 mg (0.10 ml)	11 mg x 2 (1.10 ml)	65 mg (6.50 ml)
Elution Buffer	1 ml	30 ml	75 ml
GS Columns	4	100	300
2 ml Collection Tubes	8	200	600

[1]Add absolute ethanol (see the bottle label for volume) to Wash Buffer then mix by shaking for a few seconds. Check the box on the bottle. Be sure and close the bottle tightly after each use to avoid ethanol evaporation.

[2]Add ddH_2O pH7.0-8.5 (see the bottle label for volume) to Proteinase K then vortex to ensure Proteinase K is completely dissolved. Check the box on the bottle. Once it is dissolved completely, centrifuge for a few seconds to spin down the mixture. For extended periods, the ddH_2O and Proteinase K mixture should be stored at 4°C. Use only fresh ddH_2O as ambient CO_2 can quickly cause acidification.

The gSYNC™ DNA Extraction Kit Functional Test Data

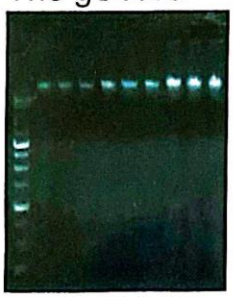


Figure 1. Genomic DNA from 50, 100 and 200 µl whole blood samples was extracted using the gSYNC™ DNA Extraction Kit. 10 µl from 100 µl eluates of purified genomic DNA was analyzed by electrophoresis on a 0.8% agarose gel.
1-3 = 50 µl whole blood sample
4-6 = 100 µl whole blood sample
7-9 = 200 µl whole blood sample
M = Geneaid 1 Kb DNA Ladder

Volume	Yield	260/280
50 µl	1.54 µg	1.85
100 µl	2.70 µg	1.87
200 µl	5.56 µg	1.90

Storage: dry at room temperature (15-25°C)

Lampiran 7. Protokol Enzym Taq Polymerase

MyTaq™ HS Red Mix

Shipping: On Dry/Blue ice

Catalog numbers:

BIO-25047: 200 x 50 µL reactions 4 x 1.25 mL

Batch No.: See vial

BIO-25048: 1000 x 50 µL reactions 20 x 1.25 mL

Concentration: 2x

Store at –20°C

meridian BIOSCIENCE™

Storage and stability:
MyTaq HS Red Mix is shipped on dry/blue ice. On arrival store at -20 °C for optimum stability. Repeated freeze/thaw cycles should be avoided. Thaw, mix, and briefly centrifuge each component before use.

Expiry:
When stored under the recommended conditions and handled correctly, full activity of the kit is retained until the expiry date on the outer box label.

Safety precautions:
Please refer to the material safety data sheet for further information.

Quality control specifications:
MyTaq HS Red Mix and its components are extensively tested for activity, processivity, efficiency, heat activation, sensitivity, absence of nuclease contamination and absence of nucleic acid contamination prior to release.

Notes:
For research or further manufacturing use only.

Trademarks:
HyperLadder and MyTaq are trademarks of Bioline Reagents Ltd.

Description

MyTaq™ HS Red Mix is a ready-to-use 2x mix for fast, highly-specific, hot-start PCR. MyTaq HS Red Mix is powered by antibody mediated hot-start and does not possess polymerase activity during the reaction set-up, thus reducing non-specific amplification. The advanced formulation of MyTaq HS Red Mix allows fast cycling conditions to be used, greatly reducing the reaction time without compromising PCR specificity and yield. Thanks to its speed and high specificity MyTaq HS Red Mix is also highly suitable to end point multiplex PCR.

The specially designed MyTaq Red Mix formulation does not interfere with the PCR reaction and allows users to load samples directly onto a gel after the PCR without the need to add loading buffer.

MyTaq HS Red Mix only requires the addition of template, primers and water, reducing the risk of pipetting errors and contamination as well as reducing the set-up time.

Components

	200 Reactions	1000 Reactions
MyTaq HS Red Mix, 2x	4 x 1.25 mL	20 x 1.25 mL

Standard MyTaq HS Mix Red Protocol

The following protocol is for a standard 50 µL reaction and can be used as a starting point for reaction optimization. Please refer to the Important Considerations and PCR Optimization section.

PCR set-up:

Template	200 ng
Primers (20 µM each)	1 µL
MyTaq HS Red Mix, 2x	25 µL
Water (dH_2O)	up to 50 µL

PCR cycling conditions:

Step	Temperature	Time	Cycles
Initial denaturation	95 °C	1 min	1
Denaturation	95 °C	15 s	25-35
Annealing*	User determined	15 s	
Extension*	72 °C	10 s	

* These parameters may require optimization, please refer to the Important Considerations and PCR Optimization section if needed.

Colony PCR Protocol

MyTaq HS Red Mix can be used for amplification of plasmid DNA directly from liquid cultures or from colonies on agar plates:

- From liquid culture: up to 8 µL of the overnight culture can be directly added to the final reaction mix.
- From colonies: we recommend using a sterile tip to stab the colony and resuspend it directly in the 50 µL reaction mix.

Recommended cycling conditions for colony PCR of fragment up to 1 kb

Step	Temperature	Time	Cycles
Initial denaturation	95 °C	1 min	1
Denaturation	95 °C	15 s	25-35
Annealing*	User determined	15 s	
Extension*	72 °C	10 s	

* These parameters may require optimization, please refer to the Important Considerations and PCR Optimization section if needed.

Multiplex PCR Protocol

MyTaq HS Red Mix is suitable for multiplex PCR; adjustment of the annealing temperature and extension time may be required. As a starting point we recommend using the following conditions:

Recommended standard cycling conditions for multiplex PCR

Step	Temperature	Time	Cycles
Initial denaturation	95 °C	2 min	1
Denaturation	95 °C	30 s	25*
Annealing/Extension*	User determined	4 min*	

* These parameters may require optimization, please refer to the Important Considerations and PCR Optimization section if needed.

Important Considerations and PCR Optimization

The optimal conditions may vary from reaction to reaction and are dependent on the template/primers used.

Primers: Forward and reverse primers are generally used at the final concentration of 0.2-0.6 µM each. As a starting point, we recommend using 0.4 µM final concentration (*i.e.* 20 pmol of each primer per 50 µL reaction volume). Too high a primer concentration can reduce the specificity of priming, resulting in non-specific products.

When designing primers we recommend using primer-design software such as Primer3 (http://frodo.wi.mit.edu/primer3) or visual OMP™ (http://dnasoftware.com) with monovalent and divalent cation concentrations of 10mM and 3mM respectively. Primers should have a melting temperature (Tm) of approximately 60 °C.

Template: The amount of template in the reaction depends mainly on the type of DNA used. For templates with low structural complexity, such as plasmid DNA, we recommend using 50 pg-10 ng DNA per 50 µL reaction volume. For eukaryotic genomic DNA, we recommend a starting amount of 200 ng DNA per 50 µL reaction, this can be varied between 5 ng-500 ng. It is important to avoid using template resuspended in EDTA-containing solutions (***e.g.*** TE buffer) since EDTA chelates free Mg^{2+}.

Initial denaturation: The initial denaturation step is required to activate the enzyme and fully melt the template. We recommend 1 minute of initial denaturation at 95 °C, however for more complex templates such as eukaryotic genomic DNA, longer initial denaturation times of up to 3 minutes may be required.

Denaturation: Our protocol recommends a 15 s cycling denaturation step at 95 °C, which is also suited to GC-rich templates (>55%). For low GC content amplicons (40-45%), the denaturation step can be decreased to 5 s.

Annealing temperature and time: The optimal annealing temperature is dependent upon the primer sequences and is usually 2-5 °C below the lower Tm of the pair. We recommend starting with a 55 °C annealing temperature and, if necessary, running a temperature gradient to determine the optimal annealing temperature. Depending on the reaction the annealing time can also be reduced to 5 s.

Extension temperature and time: The extension step should be performed at 72 °C. The extension time depends on the length of the amplicon and the complexity of the template. An extension time of 10 s is sufficient for amplicons under 1 kb or up to 5 kb for low complexity template such as plasmid DNA. For amplification of fragments over 1 kb from high complexity template, such as eukaryotic genomic DNA, longer extension times are recommended. In order to find the fastest optimal condition, we suggest increasing the extension time up to 30 s/kb.

Multiplexing: When doing multiplex PCR the recommended 2-step cycling protocol may be optimized as follows:

- Annealing/extension temperature: we highly recommend initially using a temperature gradient to determine the optimal annealing temperature needed for the primer set used.
- Annealing/extension time: in most cases a 4 min annealing/extension step is largely sufficient. However in order to reduce the overall cycling time this step can be reduced down to 1 min, especially in the case of a lower number of multiplex amplicons.
- Cycling number: we recommend starting with 25 cycles and if necessary, optimizing this parameter. An excess of cycles may generate diffuse bands, too few may result in weak or no amplification.

Troubleshooting Guide

Problem	Possible Cause	Recommendation
No PCR product	Missing component	- Check mix set-up and volumes used
	Defective component	- Check the aspect and the concentrations of all components as well as the storage conditions. If necessary test each component individually in control reactions
	Cycling conditions not optimal	- Decrease the annealing temperature - Run a temperature gradient to determine the optimal annealing temperature - Increase the extension time, especially if amplifying a long target - Increase the number of cycles
	Difficult template	- Increase the denaturation time
Smearing or Non-Specific products	Excessive cycling	- Decrease the number of cycles
	Extension time too long	- Decrease the extension time
	Annealing temperature too low	- Increase the annealing temperature
	Primer concentration too high	- Decrease primer concentration
	Contamination	- Replace each component in order to find the source of contamination - Set up the PCR and analyze the PCR product in separate areas.

Technical Support

If the troubleshooting guide does not solve the difficulty you are experiencing, please contact your local distributor or our Technical Support with details of reaction set-up, cycling conditions and relevant information.

Email: mbi.tech@meridianlifescience.com

Associated Products

Product Name	Pack Size	Cat No
Agarose	500 g	BIO-41025
Agarose tablets	300 g	BIO-41027
HyperLadder™ 1kb	200 Lanes	BIO-33025
SureClean Plus	1 x 5 mL	BIO-37047

Bioline Reagents Ltd
UNITED KINGDOM
Tel: +44 (0)20 8830 5300
Fax: +44 (0)20 8452 2822

Meridian Life Science Inc.
USA
Tel: +1 901 382 8716
Fax: +1 901 382 0027

Bioline GmbH
GERMANY
Tel: +49 (0)3371 60222 00
Fax: +49(0)3371 60222 01

Bioline (Aust) Pty. Ltd
AUSTRALIA
Tel: +61 (0)2 9209 4180
Fax: +61 (0)2 9209 4763

Website: www.bioline.com/ email: info@meridianlifescience.com

Lampiran 8. Surat Selesai Penelitian

HUM-RC science for a better future	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 470/08/FR2/2025	Tanggal : 26 Agustus 2025

SURAT KETERANGAN
SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Valen Tiwa Patanduk
NIM : B1D324084
Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky
Judul Penelitian : **Deteksi Mycobacterium Leprae Dalam Swab Nasofaring Narakontak Serumah dan Tidak Serumah Penderita Kusta dengan Metode Polymerase Chain Reactiom (PCR).**

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 26 Agustus 2025
Jumlah subjek : ± 15 sampel Swab Nasofaring
Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Muhammad Yusuf Usman, S.Si.
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

Muhammad Yusuf Usman, S.Si
NIP

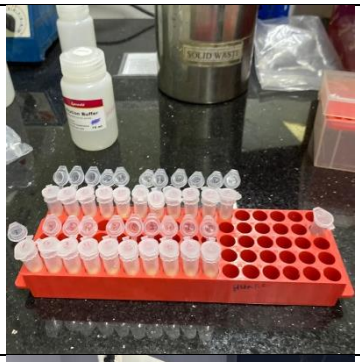
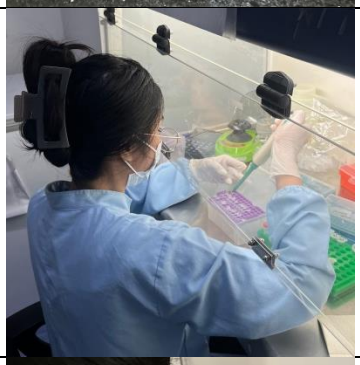
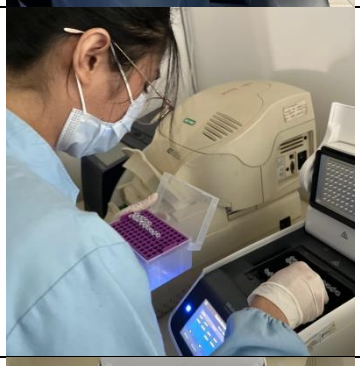
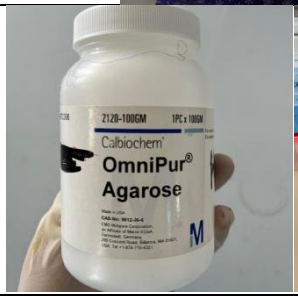
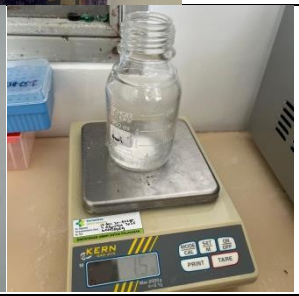
Mengetahui,
Kepala Laboratorium,

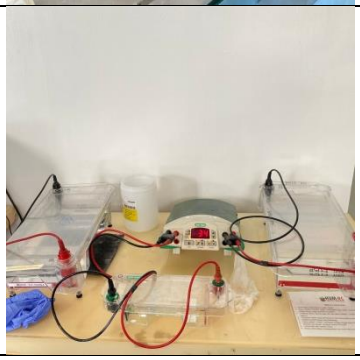
HUM-RC science for a better future

dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D
NIP 198108302012122002

Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

No	Gambar	Keterangan
1.		Pengambilan data awal dan observasi dilakukan di Kompleks Kusta Jongaya
2.		Pembuatan izin penelitian di Kantor Kelurahan Balang Baru
3.		Pengisian kuesioner pada responden narakontak
4.		Pengambilan swab nasofaring pada responden narakontak

5.		Proses ekstraksi DNA pada sampel swab nasofaring
6.		Proses PCR *Mix* pada sampel swab nasofaring
7.		Proses PCR pada sampel swab nasofaring
8.		Pengaturan suhu dan waktu pada *thermal cycler*
9.	 	Proses pembuatan gel agarosa

10.			Proses pencetakan gel agarosa pada cetakan elektroforesis
11.			Proses elektroforesis

Lampiran 10. Tabel Karakteristik Responden

Kode Sampel	Karakteristik Responden											Hasil PCR	Ket
	Usia	JK	Status	Mengetahui Penyebab Kusta	Memiliki Gangguan Pada Kulit	Memiliki Gangguan Pada Anggota Gerak	Kondisi Rumah Lembab	Lama Tinggal Atau Berinteraksi Dengan Penderita Kusta	Memiliki Kontak Fisik Dengan Penderita	Memiliki Kontak Tidak Langsung Dengan Penderita	Menjalani Terapi MDT Atau ROM		
NS01	42	P	Anak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS02	34	P	Anak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS03	55	P	Anak	Ya	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS04	10	L	Cucu	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS05	53	P	Istri	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS06	21	P	Anak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS07	22	P	Anak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS08	14	L	Cucu	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS09	54	L	Anak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS10	55	L	Anak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS11	38	P	Anak	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS12	48	P	Anak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS13	30	P	Cucu	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS14	40	L	Anak	Ya	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NS15	39	L	Anak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NT16	38	P	Tetangga	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NT17	17	P	Tetangga	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif

NT18	55	P	Tetangga	Ya	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NT19	51	P	Tetangga	Ya	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif
NT20	59	P	Tetangga	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	> 6 bulan	Ya	Ya	Tidak	(-)	Negatif