

**PENGENDALIAN DAN PENINGKATAN KUALITAS HIDUP
PENDERITA LEPROA BERBASIS TEKNOLOGI MOLEKULER
DI UNIT UJI TROPICAL DISEASE DIAGNOSTIC CENTRE
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Oleh: Bimo Aksono
Universitas Airlangga

Abstract

The aim of community service activities through a U-UJI TDDC will be conducted strain mapping *M. leprae* (genetic mapping) and TTC-based mapping region mutation patterns of drug rifampin *rpoB* gene-based regions. The benefits of this activity is an increase in quality of life for the leprosy both socially and economically because of the application of molecular technology could help early detection of regional-based Variable Number Tandem Repeat (VNTR) of the TTC and rifampin-resistant gene (*rpoB* gene) and is expected to occur later therapeutic action will accelerate the decline in the incidence and cure the patient.

Materials in this study isolates *M. leprae* from skin incision swabs, nasal mucosa and skin lesions biopisi of leprosy who come from a few enclaves leprosy in Sumberaji-Lamongan District. Criteria for patient sample is still relatively new or are in treatment. Based on these criteria finally set 17 sample patients, whether included Pseudobasiler type (1 sample) and Multibasiler (16 samples). The method used is a nested PCR using specific primers from the region of the TTC, LP and *rpoB*. The results of nucleotide sequencing of both the sequence of the region of TTC, LP and *rpoB* region using GENETIX Mac software ver. 9.0.

Community service activities based on the application of molecular technology by U-Uji TDDC, Airlangga University in endemic areas, especially infectious diseases in leprosy Sumberaji Lamongan District, from the results of PCR and nucleotide sequence analysis of a sample selected patients indicates that the bacteria *M. leprae* in Sumberaji consists of three strains of *M. leprae* based on TTC-15, TTC-23 and TTC-28, while the analysis of the *rpoB* region of the mutation was not found either in CAG513-Gln, GAT516-Asp, CAC526-His, and TCG531-Ser-Leu CTG533, this indicates that the isolates of *M. leprae* found in the leprosy in Sumberaji Lamongan district are sensitive to rifampin treatment. The results of this mapping can be used as a reference that rifampin treatment can be used for therapy MDT on leprosy in Sumberaji Lamongan district.

Keywords : *Leprosy, TTC region, LP region, and rpoB region, PCR*

A. PENDAHULUAN

1. Analisis Situasi

Meskipun secara nasional Indonesia sudah mencapai eliminasi, namun demikian sampai akhir tahun 2003 masih terdapat 12 propinsi di Indonesia yang angka prevalensinya di atas target eliminasi. Menurut Depkes (2004) ke dua belas propinsi di Indonesia yang masih merupakan daerah endemik penyakit kusta terutama menyebar di Kawasan Indonesia Timur. Daerah endemik kusta tersebut adalah terdiri dari propinsi Papua, Maluku Utara, Maluku, DKI Jakarta, Sulawesi Selatan, Sulawesi Utara, Nanggroe Aceh Darussalam, Gorontalo, Jawa Timur, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara dan Nusa Tenggara Timur. Ke dua belas propinsi ini mempunyai jumlah penderita terdaftar 11.373 (62%) dari 18.312 kasus yang terdaftar akhir tahun 2003. PR di daerah endemik ini berkisar 1,0 dan 5,6 per 10.000 penduduk.

Propinsi Jawa Timur sendiri menempati urutan ke delapan dimana hingga pertengahan tahun 2004, angka prevalensi kusta di Propinsi Jawa Timur sebesar 1,39 per 10.000 penduduk yang menyebar pada 38 kabupaten/kota dengan jumlah penderita terdaftar sebanyak 4.298 penderita. Dari seluruh kabupaten/kota tersebut Kabupaten Sampang menduduki urutan pertama prevalensi kusta yaitu 6,41, kemudian diikuti Sumenep 6,29, Pamekasan 4,01, Lamongan 3,94 dan Tuban 3,54 per 10.000 penduduk (Dinkes Jatim, 2004).

Selama dekade terakhir pemberantasan kusta di Jawa Timur pada umumnya telah berhasil menurunkan prevalensi kusta, namun insidens kusta baru tetap bertahan terutama di daerah endemis (daerah kantong) walaupun kasus aktif sebagai sumber infeksi telah diobati. Kondisi ini mungkin disebabkan antara lain karena: (1) adanya *backlog case*, yakni adanya kasus yang tidak terdeteksi dan tidak mendapat terapi; (2) adanya infeksi subklinis yang tidak terdeteksi pada populasi; (3) adanya kasus mutasi; (4) kemungkinan adanya sumber penularan/*reservoir* di luar manusia, yang menyebabkan kontrol, eliminasi dan eradikasi kusta pada manusia menjadi sulit (Noordeen, 1994); (5) lingkungan yang tidak sehat. Hal ini bukan berarti program tidak berjalan dengan baik namun dapat pula karena kemungkinan kedua yakni fenomena kasus kusta sub klinik dan mutasi (Agusni, 2003).

Sampai saat ini diagnosis penyakit kusta masih berdasarkan prinsip yang digunakan sejak beberapa abad yang lalu, yaitu pemeriksaan klinis, adanya Basil Tahan Asam (BTA) pada hapusan sayatan kulit dan pemeriksaan histopatologi yang sifatnya subjektif. Pemeriksaan penunjang lainnya seperti biakan pada media artificial, inokulasi pada binatang coba dan tes serologi sampai saat ini belum terbukti memberi hasil yang memuaskan dalam mendeteksi *M. leprae* pada penderita kusta (Carston, 2001 dan Chae *et al.* 2002). Pada dasawarsa ter-

akhir, ilmu biologi molekuler telah dipergunakan untuk mendeteksi basil *M. leprae*, diantaranya adalah dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan suatu cara *in vitro* untuk memperbanyak DNA suatu organisme dengan menggunakan enzim polimerase yang diarahkan oleh potongan urutan DNA yang spesifik bagi DNA organisme tersebut (Brown, 2002).

Informasi yang cepat tentang strain dan kepekaan suatu obat merupakan hal yang terpenting sebagai upaya pengobatan terhadap suatu individu terutama penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium* dengan menggunakan rifampin. Oleh karena itu dari kegiatan pengabdian kepada masyarakat melalui unit UJI TDDC ini akan dilakukan pemetaan strain *M. leprae* (*genetic mapping*) berbasis regio TTC dan pemetaan pola mutasi terhadap obat rifampin berbasis regio gen *rpoB*.

Manfaat kegiatan ini adalah adanya peningkatan kualitas hidup penderita lepra baik secara sosial maupun ekonomi karena aplikasi teknologi molekuler dapat membantu deteksi dini berbasis daerah *Variable Number Tandem Repeat* (VNTR) yaitu daerah TTC dan gen resisten rifampin (*rpoB* gen) sekaligus diharapkan terjadi tindakan terapi yang nantinya akan mempercepat penurunan angka kejadian dan kesembuhan penderita.

2. Tinjauan Pustaka

Tahun 1970-an Rifampin diperkenalkan pertama kali dan merupakan

pilihan pengobatan yang paling penting sebagai pengobatan penyakit lepra (Musser, 1995). Penelitian dengan menggunakan *Escherichia coli*, memperlihatkan bahwa mekanisme molekuler dari aktivitas rifampin dipengaruhi oleh *DNA-dependent RNA polymerase* yang selanjutnya dikenal sebagai gen *rpoB*. Gen *rpoB* tersebut telah dapat diidentifikasi, terdiri atas 306 pasangan basa dengan menggunakan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) (Gale *et al*, 1981; Ovchinnikov *et al*, 1983; Kapur *et al* 1994). Enzim ini merupakan suatu senyawa oligomer yang kompleks terdiri atas beberapa subunit antara lain α , β , β^1 , δ yang dikode oleh gen *rpoA*, *rpoB*, *rpoC* dan *rpoD*. Dimana sebagai inti enzim adalah $\alpha_2\beta\beta^1$ atau sebagai holoenzim adalah $\alpha_2\beta\beta^1\delta$. Di mana rifampin kemudian akan berikatan dengan subunit β dari *RNA polymerase E. coli* sehingga terjadilah proses penghambatan proses transkripsi dari bakteri (McClare dan Chech, 1978).

Kapur *et al* (1994) melaporkan bahwa DNA dari daerah *gen rpoB* telah dapat diidentifikasi sejumlah 306 pasangan basa dengan menggunakan teknik PCR, apabila dilanjutkan dengan teknik sekuensing terlihat bahwa terdapat beberapa urutan nukleotida yang mengalami mutasi yang kemudian dikaitkan dengan kejadian resisten dari strain kuman *Mycobacterium leprae*.

Penelitian genetik terhadap strain *E. coli* yang resisten terhadap rifampin pertama kali dilakukan pada tahun 1980-an, yaitu dikaitkan de-

ngan adanya *missence mutation* dan *short deletion* di daerah gen *rpoB* (Ovchinnikov *et al.*, 1983). Beberapa tahun kemudian, Jin dan Gross (1988) melaporkan bahwa terjadi mutasi pada 17 nukleotida yang mempengaruhi ekspresi 14 asam amino dari *subunit β RNA polymerase E. coli* yang diduga berperan dalam timbulnya kasus resistensi.

Honore *et al.* (1993) serta Honore dan Cole (1993) melaporkan bahwa strain mutan dari *M. leprae* diketahui meningkat pada penderita yang menerima pengobatan tunggal rifampin. *Missence mutation* yang terjadi pada Ser-425 pada *M. leprae* (analog dengan Ser-531 pada *M. tuberculosis*), teridentifikasi bahwa terdapat delapan sampel dari sembilan sampel yang mengalami insersi sejumlah enam pasangan basa di daerah yang sama tersebut, sedangkan di daerah His-526 dimana sering terjadi mutasi pada *M. TBC* ternyata tidak ada perubahan pada *M. leprae*.

Penelitian dan pengabdian kepada masyarakat yang sudah dan sedang dikerjakan oleh kelompok studi lepra di Unit Uji TDDC Unair antara lain di Jawa Timur khususnya Sumenep, Pamekasan, Sampang dan beberapa daerah lain di seluruh Indonesia

Potongan gen yang dapat diamplifikasi dan spesifik terhadap basil *M. leprae* bisa bermacam-macam, seperti daerah 18kDa, 36 kDa, 65 kDa yang merupakan protein penyusun dinding sel basil *M. leprae* (Katoch and Sharma, 2000). Beberapa peneliti telah melaporkan keberhasilan meng-

gunakan PCR untuk mendeteksi *M. leprae* secara spesifik dan sensitif pada berbagai macam sampel (biopsi lesi, hapusan mukosa hidung (*nasal swab*), hapusan sayatan lesi kulit (*slit skin smear*) dan darah. PCR mempunyai sensitifitas dan spesifitas yang hampir sempurna dalam mendeteksi *M. Leprae* yakni dapat mendeteksi 1-100 kuman (Santos, *et al.*, 1997). Keterbatasan uji diagnostik pada masa lalu, saat ini dapat diatasi dengan metode ini (Shin *et al.*, 2000 dan Young, 2003).

Kini telah berkembang lagi teknik biologi molekuler yang sangat pesat untuk mensekuens potongan DNA secara cepat untuk mengetahui genotipe suatu organisme serta kasus resistensi yang sering terjadi pada kasus lepra. Salah satu cara untuk mengetahui genotipe untuk organisme prokariotik atau eukariotik dapat dilakukan dengan metode *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR) yang bertujuan untuk mengetahui penyebaran suatu organisme berdasarkan pengulangan sekuens nukleotidanya (van Balkum *et al.*, 2001; van Balkum, 2002 dan Zang *et al.*, 2005). Berdasarkan rekomendasi dari WHO, salah satu jenis pengobatan dalam program *multi-drug therapy* adalah rifampin, meskipun demikian pada beberapa penderita lepra kurang peka terhadap rifampin dan diduga adanya strain *M. lepra* yang resisten. Beberapa literatur menunjukkan bahwa target obat rifampin terletak pada *sub-unit beta* dari *DNA dependent RNA Polymerase*, yang selanjutnya diketahui sebagai *gen rpoB*,

yaitu suatu daerah DNA pada kuman *Mycobacterium leprae* sejumlah 306 pasangan basa yang kemudian disebut dengan gen *rpoB*, gen ini sering dikaitkan dengan penyebab kasus resistensi suatu strain *Mycobacterium leprae* terhadap rifampin. Adanya perubahan urutan nukleotida (*mutasi*) pada daerah tersebut dianggap bertanggung jawab terjadinya kasus resistensi (Williams *et al*, 1994; Honore dan Cole, 1993; Telenti *et al*, 1993 dan Levin *et al*, 1993). Informasi yang cepat tentang kepekaan suatu obat merupakan hal yang terpenting sebagai upaya pengobatan terhadap suatu individu terutama penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium* dengan menggunakan rifampin.

Dengan metode analisis sekuens baik pada regio TTC maupun *rpoB* gen ini akan diketahui dan sangat penting khususnya untuk mempelajari penyebaran atau epidemiologi kusta pada suatu daerah secara geografis serta kasus resistensi yang sering timbul berkaitan dengan program MDT (Matsuoka *et al.*, 2000; Calston *et al.*, 2001; Van Belkum., 2001; Chae *et al.*, 2002 dan Young 2003).

B. METODE PELAKSANAAN

Bahan pada penelitian ini isolat *M. leprae* dari apusan sayatan kulit, mukosa hidung dan biopisi dari lesi kulit penderita kusta yang didapat dari beberapa daerah kantong penderita kusta di Kabupaten Lamongan antara lain: kecamatan Brondong, kecamatan Sumberaji, kecamatan Dradah, Kecamatan Sekaran, Kecamatan Payaman,

Kecamatan Karangbinangun, Kecamatan Turi, kecamatan Babat, Kecamatan Karanggeneng.

Tempat pengambilan sampel di daerah endemik lepra di kecamatan Sumberaji, Kabupaten Lamongan. Tempat pengolahan/pemeriksaan sampel adalah di Laboratorium *Leprosy Study Group, Unit Uji Tropical Disease Diagnostic Center* (TDC) Unair.

Apusan sayatan kulit atau biopsi lesi kulit penderita lepra. Bahan ekstraksi terutama menggunakan kit roche Bahan untuk PCR meliputi primer TTC, *rpoB* dan LP (Takara Shuzo Co Ltd) dengan urutan nukleotida (Tabel IV.1), FailSafe PCR Enzim Mix (taq), 2 x Premix G, *template*, dan *distilled water*. Semua suspensi kuman dilakukan deteksi terhadap kuman *M.leprae* menggunakan metode *nested PCR* dengan mesin *PCR Thermal Cycler* dari PERKIN-ELMER. Bahan elektroforesis meliputi Bahan untuk elektroforesis adalah agarose powder HS 2%, TBE 0,9 (Takara Shuzo LTD, Japan), ethidium Bromide 1 µg/ml, loading buffer yang berisikan Glycerol 30%, EDTA 300 mM, bromphenol blue 0,03% dan Xylene cyanol 0,03%, dan marker ΦX 174-Hinc II digest. Bahan untuk sekuensing meliputi etanol 70% dan 95%, TBE, gel poliakrilamit, G/A sequencing premix, C/T sequencing premix, Enzim premix, Sodium Asetat dan Loading Dye.

Analisis hasil sekuensing. Hasil sekuensing berupa urutan nukleotida baik dari regio TTC, LP dan regio *rpoB* menggunakan *software* GENE-TIX Mac ver. 9.0.

Tabel 1. Perangkat Primer yang Digunakan untuk Menganalisis Regio Pengulangan TTC, Regio LP dan Regio rpoB

REGIO	URUTAN SEKUENS
TTC	TTC A : 5' -GGACCTAAACCATCCCGTTT-3' TTC B : 5' -CTACAGGGGGCACTTAGCTC-3' TTC F3 : 3'-TGGGCTCATACGACGTATC-3' TTC R3 : 5'-CCTATAATATAGCACGCCGA-3'
LP	LP 1 : 5'-TGCATGTCATGGCCTTGAGG-3' LP 2 : 5'-CACCGATACCAGCGGCAGAA-3' LP F : 5'-TATCGATGCAGGCGTGAGTGT-3' LP R : 5'-CTAACACGATACTGCTGCAC-3'
rpoB	rpoB F : 5'-CAGGACGTTCGAGGCGATCAC-3' rpoB R : 5'-CAGCGGTCAAGTATTCGATC-3'

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Karakteristik Lingkungan

Lingkungan yang dijadikan sampel penderita penyakit lepra adalah Kecamatan Sumberaji. Karakteristik lingkungan terutama air hanya mengendalkantadah hujan, masyarakat umumnya petani dengan daerah pertanian yang kering dan tandus (kurang subur).

2. Kriteria Sampel

Kriteria sampel penderita adalah yang masih tergolong baru atau sedang dalam pengobatan. Berdasarkan kriteria tersebut akhirnya ditetapkan 17 sampel penderita, baik yang ter-

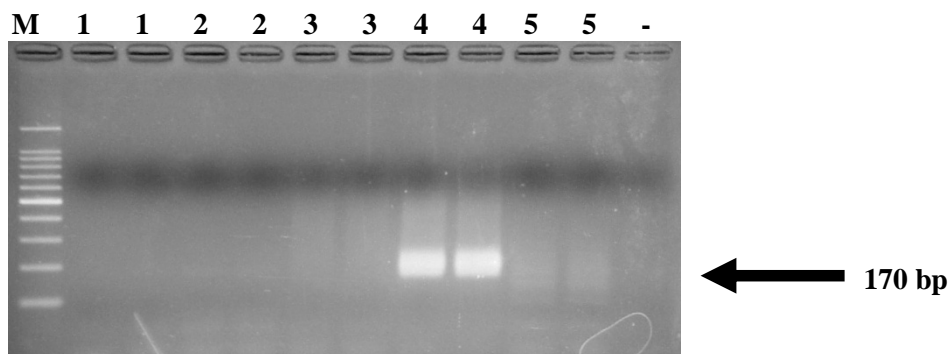
masuk tipe Pseudobasiler (1 sampel) maupun Multibasiler (16 sampel). Semua sampel penderita diambil apusan sayatan kulit dan biopsi dari lesi kulit kemudian dimasukkan dalam buffer, selanjutnya dibawa ke Leprosy-TDC Universitas Airlangga Surabaya.

3. Hasil PCR

PCR dilakukan dengan seperangkat enzim yang sangat spesifik untuk *M. Leprae*, meliputi regio pengulangan TTC (untuk melihat strain *M.leprae*), regio LP (primer spesifik *M.leprae*) dan regio rpoB (untuk melihat kasus resistensi rifampin).

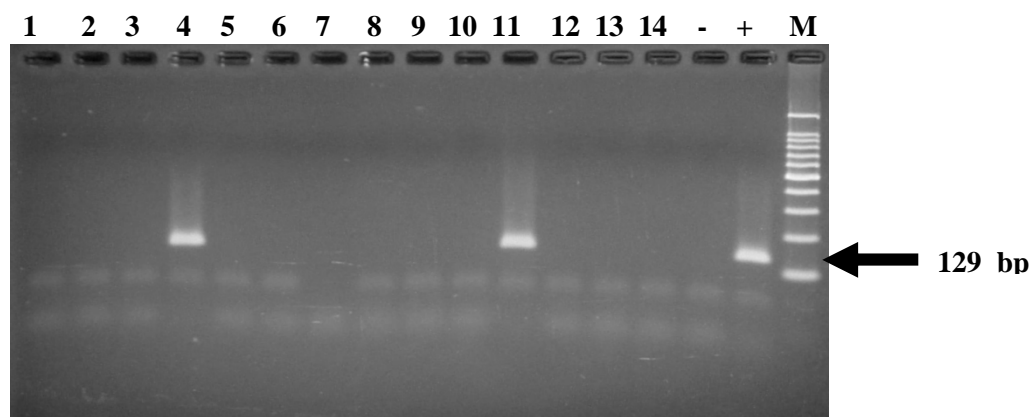
Tabel. V.1 Hasil PCR Berbasis Regio Pengulangan TTC, LP dan rpo B untuk Penderita Lepra

No.	Umur (Tahun)	Alamat	Hasil PCR		
			TTC	LP	rpoB
1.	60	Mbagel-Sumberagung	Negatif	Negatif	Negatif
2.	21	Menongo-Menongo	Negatif	Negatif	Negatif
3.	36	Menongo-Sukodadi	Negatif	Negatif	Negatif
4.	34	Jirekan-Balongtawun	Positif	Positif	Positif
5.	8	Jirekan-Balongtawun	Negatif	Negatif	Negatif
6.	8	Jirekan-Balongtawun	Negatif	Negatif	Negatif
7.	52	Baturono-Baturono	Negatif	Negatif	Negatif
8.	55	Baturono-Baturono	Positif	Negatif	Negatif
9.	4	Menongo-Menongo	Negatif	Negatif	Negatif
10.	27	Tawun-Balongtawun	Negatif	Negatif	Negatif
11.	62	Bulak-Sumberaji	Positif	Positif	Positif
12.	25	Bulak-Sumberaji	Negatif	Negatif	Negatif
13.	36	Besusul-Sumberaji	Negatif	Negatif	Negatif
14.	55	Padang-Sumberaji	Negatif	Negatif	Negatif
15.	45	Balan-Banjarrejo	Negatif	Negatif	Negatif
16.	15	Menaor-Banjarrejo	Negatif	Negatif	Negatif
17.	23	Gempol-Gedangan	Negatif	Negatif	Negatif

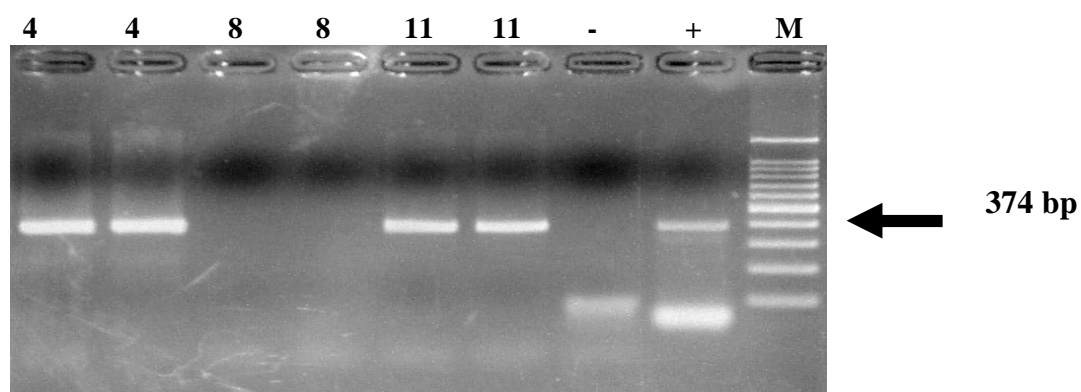


Gambar 1. Hasil PCR Berbasis Regio Pengulangan TTC Pada *M. Leprae* (170 bp)

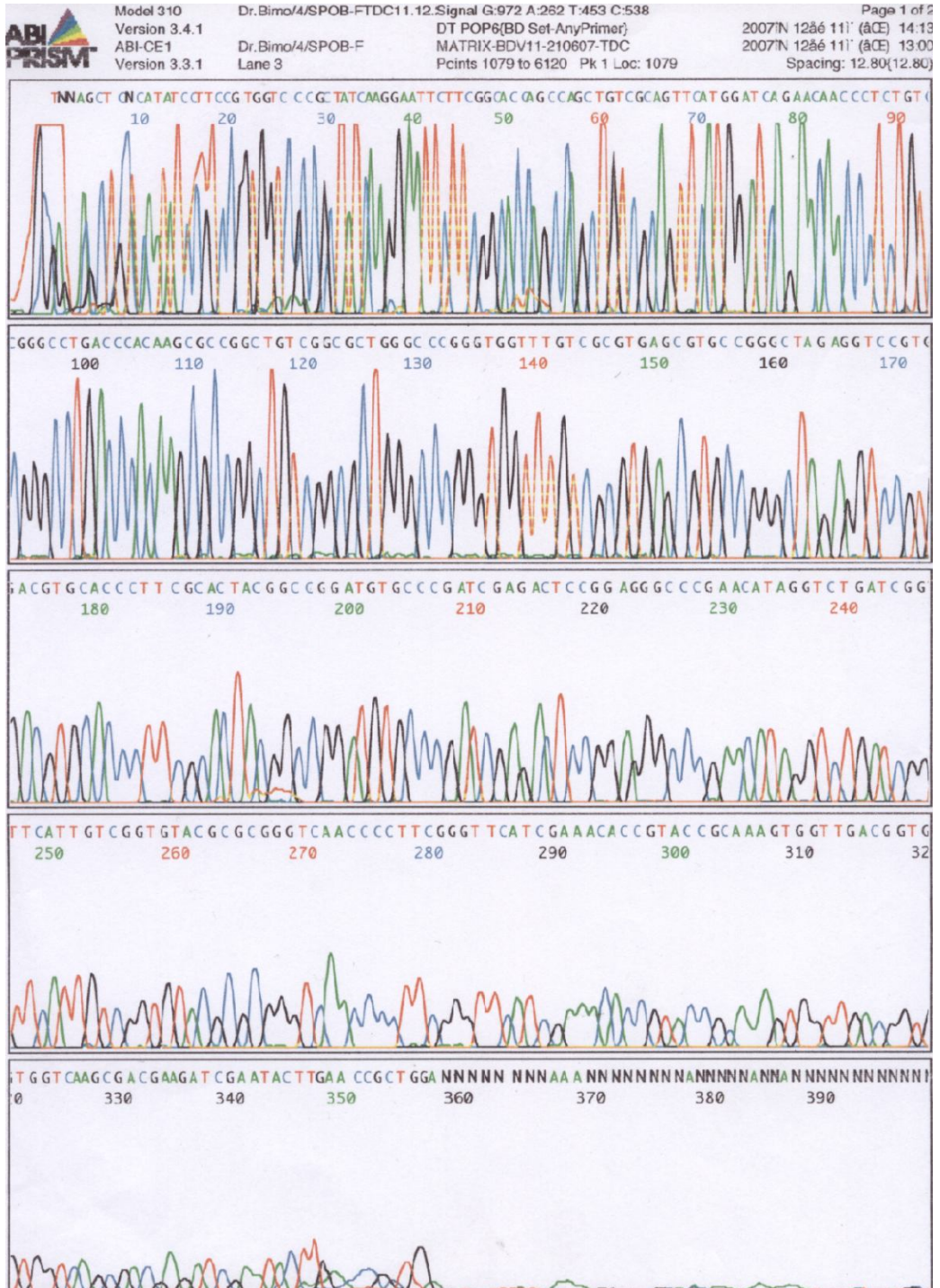
1-5 : sampel; + : kontrol positif; - : Kontrol negatif; M : Marker
Agarose 3% TAE



Gambar 2. Hasil PCR Berbasis Regio LP Pada *M. Leprae* (129 bp); 1-14 : Sampel;
 + : kontrol positif; - : Kontrol negatif; M : Marker .
 Agarose 3% TAE



Gambar 3. Hasil PCR Berbasis Regio rpoB Pada *M. Leprae* (374 bp); 4, 8 dan 11 : sampel; + : kontrol positif; - : Kontrol negatif; M : Marker.
 Agarose 3% TAE



Gambar 5. Pola Sekuens Regio rpoB Sebagai Hasil Sekuensing Nukleotida *M. Leprae* (Sampel No. 4)

Pada kegiatan penentuan sampel, menggunakan penderita baru atau penderita yang sedang dalam pengobatan sebab diharapkan masih ditemukan kuman *M. Leprae* yang cukup aktif sehingga dapat diamati strain kuman berbasis regio pengulangan TTC dan kasus resistensi rifampin berbasis regio rpoB.

Adapun cara pengambilan sampel tidak menggunakan metode swab hidung karena dikuatirkan *M.leprae* yang ditemukan hasil infeksi baru dari lingkungan, sedangkan metode yang dipilih menggunakan biopsi atau smear dari cuping dan lesi kulit karena diharapkan *M. Leprae* yang ditemukan adalah kuman aktif yang sedang menginfeksi penderita.

Dari hasil analisis lingkungan terlihat bahwa umumnya masyarakat di Sumberaji adalah petani dan air yang digunakan untuk kebutuhan hidup sehari-hari menggunakan sumur serta sangat tergantung pada hujan (tadah hujan). Berdasarkan data penderita yang dimiliki oleh Puskesmas Sumberaji tahun 2007, ditetapkan 17 sampel sesuai dengan kriteria yang diharapkan yaitu penderita baru lepra dan penderita lepra aktif yang masih dalam pengobatan. Dari segi usia, sampel yang digunakan memiliki variasi yaitu 4 – 62 tahun sedangkan dari jenis kelamin terdiri dari 10 (58,82%) laki-laki dan 7 (41,18%) perempuan. Semua penderita umumnya memberikan gambaran adanya lesi kulit dan penebalan syaraf. Dilihat dari sumber kontak 15 (88,24 %) sampel tidak per-

nah berhubungan atau kontak dengan penderita secara langsung sedangkan 2 (11,76 %) sampel melakukan kontak dengan penderita lain karena ada anggota keluarga dalam rumah yang terinfeksi *M. leprae*. Dari gambaran klinis tipe penyakit lepra adalah multibasilier (MB) sejumlah 16 (94,12%) kasus dan tipe Psudobasilier (PB) sejumlah 1 (5,88%) kasus.

Dari hasil PCR dengan primer spesifik lepra berbasis regio pengulangan TTC menunjukkan hanya 3 (17,65%) yang positif dari 17 penderita yaitu sampel no. 4, 8 dan 11. Dari hasil sekuensing nuklotida terhadap ketiga sampel tersebut ternyata semuanya berbeda strain yaitu *M leprae* strain berbasis TTC dengan pengulangan 28 untuk sampel no. 8, *M. leprae* strain berbasis TTC dengan pengulangan 23 untuk sampel no.4 dan *M. leprae* strain berbasis TTC dengan pengulangan 15 untuk sampel no. 11. Hasil ini berarti sama dengan hasil yang telah dilaporkan oleh Mudatsir (2006) di pulau Poteran, Sumenep kabupaten Madura yang menunjukkan bahwa kuman *M.leprae* memiliki variasi pengulangan TTC berkisar 10 hingga 60 kali. Menurut Enersen *et al* (2006) penyebaran strain atau tipe suatu mikroba berhubungan erat dengan letak geografis dari suatu daerah atau negara. Oleh karena Kabupaten Lamongan dekat dengan Pulau Madura, maka fenomena variasi pengulangan TTC dari *M. leprae* sampel di Sumberaji Kabupaten Lamongan mirip dengan sampel yang ada di pulau

poteran Sumenep Madura. Walaupun demikian implikasi klinik dari variasi strain *M. leprae* berbasis pengulangan TTC dengan gambaran klinik sebagai upaya pengendalian dan pemberantasan lepra perlu studi lanjut dan mendasar secara komprehensif.

Adapun hasil PCR dengan primer berbasis LP hanya diperoleh 2 (11,76%) yang positif dari 17 sampel, demikian juga hasil PCR dengan primer berbasis regio *rpoB* hanya diperoleh 2 (11,76%) yang positif dari 17 sampel. Analisis lebih lanjut terhadap sekuens nukleotida berbasis regio *rpoB* tidak memperlihatkan adanya mutasi. Menurut Williams, *et al* (1998). Adanya mutasi di regio *rpoB* terutama pada codon 507 hingga 533 memberikan kontribusi terjadinya kasus resistensi terhadap pengobatan rifamicin yang sering digunakan dalam MDT, terutama mutasi CAG513-Gln, GAT516-Asp, CAC526-His, TCG531-Ser dan CTG533-Leu.

D. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Kegiatan pengabdian kepada masyarakat berbasis aplikasi teknologi molekuler oleh Unit Uji TDDC Universitas Airlangga di daerah endemis penyakit menular khususnya penyakit lepra di Sumberaji Kabupaten Lamongan, dari hasil PCR dan analisis sekuens nukleotida terhadap sampel penderita terpilih (penderita baru lepra dan penderita lepra aktif yang masih dalam pengobatan) menunjukkan bahwa kuman *M. leprae* di Sumberaji terdiri dari tiga strain yaitu strain *M.*

leprae berbasis TTC-15, TTC-23 dan TTC-28, sedangkan analisis terhadap regio *rpoB* tidak ditemukan adanya mutasi baik pada CAG513-Gln, GAT516-Asp, CAC526-His, TCG531-Ser dan CTG533-Leu, ini menunjukkan bahwa kuman *M. leprae* yang ditemukan pada penderita lepra di Sumberaji Sukodadi Lamongan peka terhadap pengobatan rifamicin.

2. Saran

Hasil pemetaan ini dapat dijadikan acuan bahwa pengobatan rifampin dapat digunakan untuk terapi MDT pada penderita lepra di Sumberaji Sukodadi Lamongan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusni, I. 2001. "Aplikasi Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada Penyakit Kusta". *Berkala I.P. Kulit dan Kelamin*. 13 (1) 28-32.
- Carlston, MJ. 2001. "*Mycobacterium leprae* Genome Sequence: A Landmark Achievement". *Lepr. Rev.* 72: 385-386.
- Chae, GT; Lee, SB; Kabg, TJ; Shin, HK; Kim, JP; Ko, YH; Kim, SH. and Kim, NH. 2002. "Typing of Clinical Isolates of *Mycobacterium leprae* and Their Distribution in Korea". *Lepr. Rev.* 73: 41-46.
- Chin, YC; Lee, H; Walsh, GP; Kim, JD. and Cho, SN. 2000. "Varia-

- ble of TTC Repeats in *Mycobacterium leprae* DNA from Leprosy Patients and Use in Strain Differentiation". *J. Clin. Microbiol.* 38 (12): 537-544.
- Cole, ST; Eigmeier, G and R; Parkhil. 2001. "Massive Gene Decay in the Leprosy Bacillus". *Nature.* 409: 1007-1011.
- Departemen Kesehatan RI. 2004. *Buku Pedoman Pemberantasan Penyakit Kusta.* Jakarta: Direktorat Jenderal PPM dan PL.
- Gale, E.F; E. Cundliffe; P.E. Reynolds; M.H. Richmond; and M.J. Waring. 1981. *The Molecular Basis of Antibiotic Action.* New York: John Willey & Sons. Inc.
- Honore, N and S.T. Cole. 1993. "Molecular Basis of Rifampin Resistance in *Mycobacterium Leprae*". *Antimicrobial Agent and Chemotherapy.* Mar Vol. 37. No.3. pp. 414-418.
- Honore, N; S. Bergh; S. Chanteau; F. Doncet-populaire; K. Eigimeter; T. Garnier; C. Georges; P. Lanois; T. Limpaboon; S. Newton; K. Niang; P. del Portillo; G.R. Ramesh; R. Reddi; P.R. Ridet; N. Sittisombut; S. W. Hunter; and S.T. Cole. 1993. "Nucleotide Sequence of the first Cosmid from the *Mycobacterium Leprae* Genome Project: Structure and Function of the Rif-Str Regions". *Mole. Microbiol.* 7. pp. 207-214.
- Jin, D.J and C.A. Gross. 1988. "Mapping and sequencing of mutation in the *Escherichia coli* rpoB Gene that Leads to rifampicin Resistance". *J. Mol Biol.* 202. pp. 45-58.
- Kapur, V; L.L. Li; S. Iordanescu; M.R. Hamrick; A. Wanger; B.N. Kreiswirth and J.M. Musser. 1994. "Characterization by Automated DNA Sequencing of Mutations in the Gene (gen rpoB) Encoding the RNA Polymerase B Subunit in rifampin-Resistant *Mycobacterium Tuberculosis* Strains from New York City and Texas". *J. Clin. Microbiol.* Vol.32. pp. 1095-1098.
- Levin, M.E and G.F. Hatful. 1993. "*Mycobacterium Smegmatis* RNA Polymerase DNA Supercoiling, Action of Rifampicin and Mechanism of Rifampicin Resistance". *Mol. Microbiol.* Vol. 8. pp.277-285.
- Matsuoka, M; Maeda, S; Kai, M; Nakata, N; Chae, GT, Gillis, TP; Kobayashi, K; Izumi, S; Kashiwabara, Y. 2000. *Mycobacterium leprae* Typing by Genomic Diversity and Global Distribution of Genotypes. *Int. J. Lepr.* 68(2): 122-128.

- Matsuoka, M; Zhang, L; Budiawan, T; Saeki, K and Izumi, S. 2004. Genotyping of *Mycobacterium leprae* on the Basis of the Polymorphism of TTC Repeats for Analysis of Transmission. *J. Clin. Microbiol.* 42(2): 741-745.
- Matsuoka M, Zhang L, Morris MF, Legua P dan Wiens C. 2005. Polymorphism in the rpoT Gene in *Mycobacterium Leprae* Isolates Obtained from Latin American Countries and its Possible Correlation with the Spread of Leprosy. *FEMS Microbiol Lett.* 243(2): 311-3115.
- McClare, W.R; and L. Chech. 1978. On the mechanism of rifampicin inhibition of RNA synthesis. *J. Biol. Chem.* 253. pp. 8949-8956.
- Musser, J. 1995. "Antimicrobial agent Resistance in Mycobacteria: Molecular Genetic Insights. *Clin. Microbiol*". *Review.* Vol. 5. pp. 496-514.
- Ovchinnikov, Y.A; G.S. Monastyrskaya; S.O. Guriev; N.F. Kalinina; E.D. Sverdlov; A.I. Bass; I.F. Kiver; E.P. Moiseyeva; V.N. Igumnov; S.Z. Mindlin; V.G. Nikiforov and R.B. Khesin. 1983. "RNA Polymerase Rifampicin Resistance Mutations in *Escherichia Coli*: Sequence changes and dominance. *Mole*". *Gen. Genet.* Vol.190. pp. 344-348.
- Telenti, A; P. Imboden; F. Marchesi; D. Lowrie; S.T. Cole; M.J. Colston; L. Matter; K. Schoolfer and T. Bodmer. 1993. "Detection of rifampicin-resistant mutations in *Mycobacterium Tuberculosis*". *Lancet.* Vol. 341. pp. 647-650.
- Steiner, P; M. Rao; M. Mitchell and M. Steiner. 1986. "Primary Drug Resistant Strains of *M. Tuberculosis* to Rifampin". *Am. Rev. Respir. Dis.* 134. pp. 446-448.
- Stottmeir, K.D. 1976. Emergence of Rifampin-Resistant *Mycobacterium Tuberculosis* in Massachusetts". *J. Infect. Dis.* 133. pp. 88-90.
- Van Belkum, A; Stuelens, M; de Vissler, A; Verbugh, H. and Tibayrenc, M. 2001. "Role of Genomic Typing in Taxonomy, Evolutionary Genetics, and Microbial Epidemiology". *Clin. Microbiol. Rev.* 14 (3): 547-560.
- Van Belkum, A. 2002. Molecular "Typing of Microorganism". *J. Med. Microbiol.* 51: 7-10.
- Williams, D.L; T.P. Gillis and F. Portaels. 1990. Geographically Distinct Isolates of *Mycobacterium Leprae* Exhibit No Genotypic Diversity by restriction

- Fragment-Length Polymorphism Analysis". *Mol. Microbiol.* 4. pp. 1653-1659.
- Williams, D.L; C. Waguespack; K. Eisenach; J.T. Crawford; F. Portaels; M. Salfinger; C.M. Nola; C. Abe; V.S. Stich-Groh; dan T.P. Gillis. "Characterization of Rifampin Resistance in Pathogenic Mycobacteria". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol.38. No.10. pp.2380-2386.
- World Health Organization. 2005. "Global Leprosy Situation 2005". *Weekly Epidemiological Record*. No.34: 289-296.
- Young, D. 2003. "Prospect for Molecular Epidemiology of Leprosy". *Lepr.Rev.*74:11-17.
- Zang L; Teki B; Matsuoka M. 2005. "Diversity of Potential Short Tandem Repeats in *Mycobacterium Leprae* and Application for Molecular Typing". *J. Clin. Microbiol.* 43 (10): 5221-5229.