



NASAL SWAB MULTIPLEX PCR (MPCR) SEBAGAI METODE DIAGNOSIS DINI PADA NARAKONTAK SERUMAH PENYANDANG *LEPRA*

Asep Wirayasa

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

Corresponding Author : Asep Wirayasa

Email : asepi9001@mail.unpad.ac.id

Info Artikel :

Diterima : 20 April 2022

Disetujui : 12 Mei 2022

Dipublikasikan : 15 Mei 2022

ABSTRAK

Kata Kunci:
mPCR, MNP,
Chemiluminescence,
Household,
Leprosy

Latar Belakang: *Lepra* adalah penyakit purba yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). Indonesia masih menjadi penyumbang kasus *lepra* tertinggi kedua di dunia. Kasus *lepra* yang ada di Indonesia kerap kali terdiagnosis ketika pasien sudah memiliki gejala klinis yang parah. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Potensi *Nasal Swab mPCR* yang diperkuat dengan *MNP* dan *CL* dengan target gen *RLEP*, *16SrRNA* dan *sodA* sebagai metode diagnosis dini pada narakontak serumah penyandang *lepra* untuk strategi eradikasi *lepra* di Indonesia. **Metode:** Metode penelitian ini adalah studi literatur ini disusun dengan metode kajian pustaka. Penulis mengumpulkan berbagai jurnal yang dianalisis dan disintesis untuk menyusun penelitian ini. **Hasil:** *Nasal Swab mPCR* yang diperkuat dengan *MNP* dan *CL* dapat mengeradikasi bakteri *M. leprae* dengan cara diagnosis dini narakontak serumah penyandang *lepra*. **Kesimpulan:** *Nasal Swab mPCR* dapat menjadi terobosan baru alat diagnosis dini *lepra* pada narakontak serumah penyandang *lepra*.

ABSTRACT

Keywords:
mPCR, MNP,
Chemiluminescence,
Household,
Leprosy

Background: *Leprosy* is an ancient disease caused by *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). Indonesia is still the second highest contributor to leprosy cases in the world. *Leprosy* cases in Indonesia are often diagnosed when the patient already has severe clinical symptoms. **Purpose:** This study aims to determine the potential of *Nasal Swab mPCR* amplified with *MNP* and *CL* with the target gene *RLEP*, *16SrRNA*, and *SodA* as an early diagnosis method in household contacts with leprosy for leprosy eradication strategies in Indonesia. **Method:** The method of this research is a literature study that was compiled with a literature review method. The author collects various journals which were analyzed and synthesized to compile this research. **Results:** *Nasal Swab mPCR* amplified with *MNP* and *CL* can eradicate *M. leprae* bacteria by means of early diagnosis of household contacts with leprosy. **Conclusion:** *Nasal Swab PCR* can be a new breakthrough tool for early diagnosis of leprosy in household contacts with leprosy.

PENDAHULUAN

Lepra adalah penyakit bakteri purba yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium leprae* (Purba et al., 2021). Bakteri ini menyebabkan infeksi kronis yang tidak hanya memengaruhi saraf perifer dan kulit, tetapi juga dapat memengaruhi bagian lain seperti

mata, selaput lendir, saluran pernapasan bagian atas, tulang dan testis (Amiruddin, 2019). Hal ini mengakibatkan adanya spektrum manifestasi klinis yang beragam.

Penyakit ini masih menjadi masalah besar di Indonesia karena dapat mengakibatkan cacat berat, stigma sosial dan kerugian ekonomi (Fajrin, 2019). Cacat berat dapat berupa gangguan saraf sensorik, motorik dan otonom. Hal ini menyebabkan pasien mengalami mati rasa, kebutaan dan keretakan kulit yang akan berdampak pada kondisi sosial dan ekonomi. Menurut sebuah penelitian di Brazil, 93.6% penyandang lepra mendapatkan stigma sosial dengan 40.4% penyandang mengalami depresi. Penyandang lepra dijauhi karena adanya stigma di masyarakat bahwa penyakit lepra disebabkan oleh kutukan dan dapat menular hanya dengan berdekatan dengan penderita (Amrina Yulita, 2021). Cacat dan stigma tersebut membuat pasien kesulitan melakukan aktivitas sehari-hari dan mendapatkan pekerjaan sehingga menurunkan kesejahteraan ekonomi penyandang lepra (Muthmainnah, Mardhiyah, & Fikri, 2019). Bahkan, suatu penelitian menyebutkan bahwa kerugian satu kabupaten sampai 2016 mencapai 1,9 miliar rupiah.

Menurut *Global Leprosy Strategy 2016-2020*, eliminasi lepra difokuskan pada deteksi dini sebelum kecacatan terjadi. Fokus khusus akan diberikan pada anak-anak sebagai cara untuk mengurangi kecacatan dan mengurangi penularan. Pada tahun 2020, target global penderita baru lepra anak adalah nihil kecacatan (Puspa Satriani, 2021). Hingga awal tahun 2000, secara umum prevalensi lepra di Indonesia menurun sesuai target WHO, yaitu kurang dari 1 per 10.000 penduduk. Namun, jumlah penderita lepra baru tidak menurun bahkan pada beberapa daerah endemis, penderita lepra mengelompok sehingga sering disebut dengan daerah kantong. Indonesia masih menjadi negara dengan penderita lepra tertinggi ke-2 di dunia (Marsanti & Ardiani, 2020). Indonesia masih melaporkan adanya lepra baru dengan 84,5% kasus adalah tipe *multibacillary* (MB) (Hetty, 2019). Kasus lepra paling banyak terjadi pada usia produktif yaitu sebanyak 91,1% yang mengakibatkan kecacatan sebanyak 6,81 tiap 1 juta penduduk. Hal ini disebabkan mobilitasnya yang tinggi (Prakoewa et al., 2021). Kelompok berikutnya yang paling banyak terserang lepra adalah anak-anak dengan 6,7% kasus menyebabkan kecacatan (Catrina, Warjiman, & Rusmegawati, 2016). Lingkungan memiliki potensi reservoir dalam penularan lepra, terutama faktor nonmanusia. Studi epidemiologi lepra memberikan gambaran tentang pentingnya aspek lingkungan dalam pola penularan lepra di daerah endemis (Fadilah, 2013). Seperti kepadatan penduduk, kepadatan hunian, kelembaban dan adanya daerah dengan sanitasi buruk juga berpengaruh terhadap penularan lepra.

Baru-baru ini, WHO merevisi definisi kasus-kasus lepra. Pertama, *paucibacillary* (PB), yaitu kasus lepra dengan 1-5 lesi kulit tanpa menunjukkan adanya basil pada apusan kulit. Kedua, kasus MB yaitu kasus lepra dengan lebih dari 5 lesi kulit, keterlibatan saraf (*neuritis* murni atau sejumlah lesi kulit dan *neuritis*) atau adanya basil pada *Slit-Skin Smear* (SSS) terlepas dari jumlah lesi kulit.

Diagnosis lepra secara rutin dilakukan berdasarkan tanda-tanda kardinal penyakit lepra, yaitu adanya *patch anestesi hipopigmentasi*, penebalan saraf, dan adanya Basil Tahan Asam (BTA) pada SSS. Meskipun adanya BTA pada apusan kulit merupakan diagnostik untuk lepra, sensitivitasnya sangat rendah untuk diagnosis dini lepra. Selanjutnya, uji serologis berdasarkan deteksi spesifik antigen pada *M.leprae* seperti *Phenolic Natural Disaccharide Octyl Bovine Serum Albumin* (NDO-BSA) atau *Glycolipid-1* (PGL-1) dan *Natural Disaccharide Octyl Leprosy IDRI Diagnostic antigen* (NDO-LID) yang digunakan sebelumnya gagal mendeteksi sekitar 60% kasus PB lepra. Hal ini disebabkan tingkat antibodi dikaitkan dengan intensitas pajanan pejamu terhadap patogen, uji serologis ini tidak terbukti efisien dalam mendeteksi kasus PB yang belum mengembangkan tingkat antibodi signifikan. Hal ini menunjukkan kegagalannya untuk mendiagnosis infeksi subklinis.

Metode *imunologi* lain seperti respon imun sel T yang diukur dengan produksi IFN γ digunakan di seluruh *spektrum* pasien *lepra* dan mendapatkan hasil yang sama. Kasus PB memicu respons Cell Mediated Immunity (CMI) untuk menyekresikan IFN γ tingkat tinggi setelah *stimulasi in vitro* dengan antigen spesifik *M. leprae*. Namun, karena narakontak serumah juga menunjukkan pola sekresi IFN γ yang serupa dengan kasus PB, uji berbasis IFN ternyata tidak signifikan. Oleh karena itu, tes berbasis *serologis* dan CMI yang ada sejauh ini gagal dikembangkan sebagai tes diagnostik dini *lepra* sehingga dibutuhkan metode lain, seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

PCR adalah metode *molekuler* yang sangat sensitif dan spesifik untuk amplifikasi dan identifikasi asam *nukleat organisme* tertentu. Sebelumnya, berbagai upaya telah dilakukan untuk mendeteksi DNA *M. leprae* pada sampel klinis penderita *lepra*. Sampel klinis yang digunakan tidak hanya biopsi kulit, juga termasuk berbagai jenis spesimen seperti *SSS, nerve twigs, urine, nasal swab, saliva*, darah dan jaringan mata. Kegunaan PCR dalam identifikasi *lepra* neuritik murni telah terbukti memiliki sensitivitas hingga 50-70%. Target sensitif dan spesifik merupakan elemen penting untuk mengembangkan alat diagnostik dengan menggunakan metode berbasis PCR. Dalam suatu penelitian terbukti sebanyak 73% pasien positif menggunakan PCR berbasis RLEP pada pasien dengan indeks basiler nol. PCR berbasis RLEP telah digunakan oleh banyak peneliti untuk mendiagnosis *lepra*. Pada penelitian sebelumnya, target gen lain seperti 16SrRNA dan *sodA* telah digunakan untuk uji viabilitas dan deteksi spesifik untuk *M. lepra*. Ditemukan pada uji viabilitas 16SrRNA/RLEP RT-PCR *M. leprae* berguna baik untuk tujuan eksperimental jangka pendek dan untuk memprediksi viabilitas *M. leprae* dalam spesimen biopsi untuk memantau efektivitas pengobatan, sedangkan uji viabilitas *sodA/RLEP RT-PCR M. leprae* masih terbatas pada tujuan penelitian eksperimental jangka pendek.

Salah satu dari jenis PCR adalah Multiplex PCR (mPCR) yang memiliki potensi dapat mendiagnosis *lepra* pada fase subklinis termasuk pada narakontak serumah dengan sampel nasal swab. Namun, selain dari penggunaannya yang masih terbatas pada uji coba, mPCR juga masih memiliki kekurangan dari segi spesifisitasnya. Oleh karena itu, mPCR perlu ditingkatkan kembali sensitifitas dan spesifisitasnya agar memaksimalkan metode diagnosis dini *lepra*.

Magnetic Nanoparticle (MNP) dan *Chemiluminescence* (CL) terbukti dapat meningkatkan sensitifitas dan spesifisitas dari PCR konvensional. Oleh sebab itu, mPCR yang diperkaya dengan MNP dan CL dapat berpotensi untuk menjadi alat diagnosis dini pada narakontak serumah penyandang *lepra* sebagai strategi eradikasi *lepra* di Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Potensi Nasal Swab mPCR yang diperkuat dengan MNP dan CL dengan target gen RLEP, 16SrRNA, dan *sodA* sebagai metode diagnosis dini pada narakontak serumah penyandang *lepra* untuk strategi eradikasi *lepra* di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Studi tinjauan pustaka ini berasal dari analisis dan sintesis dari berbagai referensi. Penulis memasukkan berbagai kata kunci ke dalam mesin pencari yaitu *mPCR, MNP, Chemiluminescence, Household, Leprosy*. Berdasarkan jurnal yang didapat dari hasil pencarian, dipilihlah jurnal yang berupa full-text, dan berkaitan dengan topik. Jurnal yang dipilih dipastikan memiliki waktu paling lama 10 tahun dengan menggunakan sistem pencarian. Referensi diambil dari publikasi global yang dapat diakses secara gratis melalui *Pubmed, google scholar, PlosOne* dan *clinical key*. Setelah sumber didapatkan lalu sumber dirangkum dan ditulis sesuai dengan materi yang dibahas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. *Patogenesis Lepra*

Mycobacterium leprae complex, yang terdiri atas *Mycobacterium leprae* dan *Mycobacterium lepromatosis*, merupakan bakteri gram positif dan acid fast bacilli penyebab infeksi *granuloma kronis*. Meskipun telah terpisah secara evolusi selama 13 juta tahun yang lalu, kedua spesies ini menunjukkan kondisi patologis yang mirip. Dengan genom yang mengandung sedikit *protein-coding genes* dibandingkan dengan *non-coding genes* dan *pseudogenes*, *M.leprae* menjadi *organisme intraseluler obligat* yang kesintasannya sangat bergantung pada *host*.

M. leprae memiliki generation time yang panjang, yaitu sekitar 12-14 hari dan tumbuh optimal pada suhu 27-33o C. Hal ini menyebabkan *M.leprae* menyebar lebih efisien pada *regio* tubuh yang lebih dingin, seperti kulit, saraf yang dekat ke permukaan kulit, dan membran saluran pernapasan atas. Selain menginfeksi manusia, bakteri ini juga menginfeksi armadillo, tupai merah dan tiga spesies primata karena memiliki bagian tubuh yang sesuai dengan suhu optimal pertumbuhannya. Pada manusia, *M.leprae* menginvasi *sel schwann* pada sistem saraf perifer dan makrofag. Masuknya *M.leprae* kedalam *sel schwann* dimediasi oleh domain *G laminin α2 chain* yang terdapat pada *basal lamina*. Hal ini disebabkan oleh domain *G laminin α2 chain* memiliki sisi yang berikatan dengan *M. leprae* sekaligus *α-dystroglycan* pada membran *sel schwann*.

Pada *sel schwann*, *M. leprae* bisa menyebabkan demielinasi dini. Hal ini dapat terjadi karena *M.leprae* berikatan secara langsung dengan *ErbB2* (suatu *reseptor tirosin kinase kompleks* pada membran *sel schwann*) sehingga *heterodimerisasi ErbB2* dengan *ErbB3* tidak terjadi. Terlewatnya proses *heterodimerisasi* ini menghambat *intracellular signaling pathway* yang menginisiasi diferensiasi dan *proliferasi sel schwann*.

M.leprae juga menyebabkan *sel schwann* tetap berada dalam bentuk tidak terdiferensiasi. Hal tersebut terjadi karena adanya peningkatan pembentukan *cyclin D1* yang meningkatkan pembelahan *sel schwann* sekaligus menginaktivasi *myelination-associated genes*.

Sebenarnya *M.leprae* bisa dibunuh oleh pelepasan *nitrogen oksida* (NO) dan *upregulasi Th1*. Namun, studi menunjukkan bahwa *M.leprae* mengubah status aktivasi makrofag menjadi tipe M2 (*antiinflamasi*) yang ditandai dengan penurunan ekspresi IL-6, IL-1 beta, MHC kelas II, dan TNF serta peningkatan ekspresi IL-10 dan CD163. Selain itu, *M. leprae* juga terbukti meningkatkan resistensi makrofag terhadap CD8+. Hal ini mengindikasikan bahwa invasi *M. leprae* terhadap makrofag memiliki pengaruh yang besar terhadap kesintasannya. Manifestasi klinis lepra bermacam-macam tergantung dari respons imun tubuh terhadap *M. leprae*. Terdapat beberapa jenis lepra yang teridentifikasi berdasarkan *manifestasinya*, diantaranya *indeterminate leprosy*, *tuberculoid leprosy* (TT), *borderline tuberculoid leprosy* (BT), *mid-borderline leprosy* (BB), *borderline lepromatous leprosy* (BL) dan *lepromatous leprosy* (LL) (57).

Reaksi antigen *M.leprae* terhadap tubuh terbagi menjadi tiga jenis, yaitu tipe 1, 2, dan 3. Reaksi tipe 1, disebut juga *reverse reaction*, merupakan reaksi *hipersensitivitas* terhadap antigen *M.leprae* yang ditandai dengan lesi kulit urtikaria, pembengkakan, demam tinggi dan inflamasi saraf dengan abses yang menyebabkan hilangnya sensasi *motoris* dan

sensoris. Reaksi ini terjadi pada 30% pasien BT, BB, dan BL dengan pemicu berupa kehamilan, komorbiditas dan terapi .

Reaksi tipe 2, biasa juga disebut dengan eritema nodosum leprosum, merupakan reaksi episodik yang terjadi pada 50% lepra jenis BL dan LL. Reaksi ini biasanya muncul sebagai *nodul* yang nyeri, pembentukan *pustul* berisi *pus* dan *acid fast bacilli* pada *eksudat*. Lesi pada reaksi ini utamanya terletak pada permukaan ekstremitas dan wajah. *Myalgia*, demam, *arthralgia*, *malaise*, nyeri tulang dan anoreksia menjadi gejala pada reaksi tipe ini. Kerusakan saraf menyebabkan kelemahan dan insensitivitas, bahkan sampai menimbulkan katarak, glaukoma dan kebutaan .

Reaksi tipe 3 (disebut juga *Lucio's phenomenon*) ditandai dengan lepromatosis yang menyebar, *patches* dan *bulosa* yang bisa menimbulkan *ulserasi* dan *nekrotik*. Gejala sistemik yang muncul dari reaksi tipe 3 ini meliputi demam, *limfadenitis*, *hepatosplenomegali*, *anemia*, *epistaksis* dan kerusakan tulang nasal.

Mekanisme transmisi *M.leprae* belum dapat dijelaskan sepenuhnya. Namun, beberapa studi menunjukkan bahwa kontak dalam jangka waktu yang lama dan kepadatan penduduk menjadi faktor risiko dari penularan bakteri ini. Saluran respirasi diduga kuat memegang peranan penting dalam transmisi *M.leprae* karena studi menunjukkan adanya bakteri dalam jumlah yang besar (100 juta sel/hari) teridentifikasi pada *mukosa* hidung (47,50). Selain transmisi melalui *aerosol*, *transmisi intrauterin*, *via tattooing*, hewan dan kontak kulit juga dilaporkan pada beberapa studi.

M.leprae memiliki masa inkubasi yang panjang, berkisar antara 5 hingga 20 tahun bahkan lebih. Hal ini menjadi keunikan sekaligus tantangan terutama dalam diagnosis suspek lepra yang berada pada fase *subklinis*. Diagnosis dini pada kontak erat, misalnya anggota rumah, sebelum muncul gejala memungkinkan pemutusan perjalanan penyakit dan pencegahan transmisi. Administrasi *single-dose rifampicin* sebagai *leprosy- post exposure prophylaxis* (LPEP) terbukti efektif mencegah lepra tanpa efek samping serius.

B. Diagnosis Lepra

Diagnosis *lepra* pada pasien dalam fase klinis dilakukan dengan mengamati manifestasi klinis pada kulit dan saraf. Pemeriksaan penunjang *bakterioskopik*, seperti pengamatan sediaan slit-skin smear dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen*, juga kerap dilakukan. Apabila diagnosis meragukan, biasanya dilanjutkan dengan pemeriksaan *biopsi*, histopatologi, pemeriksaan serologi (PGL-1), atau PCR.

Deteksi mikroskopik *M.leprae* dari jaringan, histopatologi, dan evaluasi klinik dapat digunakan untuk mendiagnosis *lepra*. Namun, dibutuhkan minimum 10.000 bakteri per gram jaringan untuk mendapatkan hasil yang reliable. Metode ini juga tidak efektif untuk kasus *pure neural leprosy* yang tidak mengandung *acid fast bacilli* pada *smears*.

Tes *serologi* terhadap *M.leprae* dilakukan dengan mendeteksi antibodi terhadap *M. leprae phenolic glycolipid-1* (PGL-1), *Natural Disaccharide Octyl Bovine Serum Albumin* (NDO-BSA) atau *Natural Disaccharide Octyl Leprosy IDRI Diagnostic antigen* (NDO-LID). Namun, molekul tersebut tidak selalu ditemukan pada berbagai jenis *lepra*. Misalnya pada TT, PGL-1 tidak selalu dihasilkan sehingga tes serologis ini sering menimbulkan hasil *false positive*. *Seropositivity* juga sangat bergantung pada indeks bakteri dan pajanan.

Fluorescence in-situ hybridization (FISH) dilakukan dengan menggunakan sampel kulit yang difiksasi dengan 4% *paraformaldehyde* yang diberi 10 mg/ml *lisozim* dan 10 µg/ml *proteinase K*. Sampel diinkubasi semalaman dengan probes yang spesifik, dicuci, dan diamati dengan *fluorescent microscope*. Metode ini memakan waktu yang cukup lama. Selain itu, subjek dan sampel penelitian mengenai penggunaan *FISH* dalam diagnosis *lepra* masih sedikit.

Metode lain yang bisa digunakan untuk mendeteksi lepra adalah *polymerase chain reaction* (PCR). Deteksi berbasis PCR telah digunakan selama dua dekade, terutama untuk kasus dengan *negative index bacillary* dan pasien yang tidak menunjukkan tanda-tanda kardinal lepra. *Genom* yang memiliki salinan dalam jumlah besar diperkirakan bisa menjadi target gen yang efisien. Hal ini terbukti pada studi yang menunjukkan bahwa RLEP yang diulang sebanyak 28 kali pada genom *M.leprae* lebih efisien dan sensitif dibandingkan dengan 16SrRNA, *sodA* dan *rpoT*.

Meskipun RLEP terbukti lebih efisien sebagai individual gene target PCR, penggunaan multiplex target (RLEP, 16SrRNA, dan *SodA*) terbukti dapat meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas serta meningkatkan *positivity* pada kasus *low-bacillary index*. Sampel nasal swab juga dilaporkan dapat mendeteksi *M.leprae* pada narakontak serumah saat sampel yang lain (SSS dan sampel darah) gagal menunjukkan hasil positif. Selain itu, pengambilan sampel untuk nasal swab juga relatif mudah dan telah dikenal masyarakat.

Kemampuan yang baik dari nasal swab M-PCR dalam mendeteksi *M. leprae* pada narakontak serumah masih bisa ditingkatkan lagi. Sebuah metode yang cukup banyak diteliti adalah *chemiluminescence* (CL) dengan memanfaatkan *magnetic nanoparticle* (MNP). CL dan MNP sangat berpotensi memperkuat sensitivitas dan spesifisitas dari M-PCR.

C. M-PCR yang Diperkuat MNP dan CL

Sejak ditemukan pada tahun 1983, PCR telah mengalami perkembangan pesat dan memiliki kontribusi besar pada dunia ilmu pengetahuan. Dengan berkembangnya metode PCR, studi-studi mengenai aplikasinya dalam mendeteksi *M. leprae* semakin berkembang. Bahkan, sampel yang diambil tidak hanya didapatkan melalui biopsi kulit saja, tetapi juga dari SSS, cabang saraf, urine, nasal swab, saliva, darah dan jaringan okuler dengan rata-rata sensitivitas 50-70%.

Gen target yang paling berperan adalah RLEP, 16SrRNA, dan *sodA*. Hal ini disebabkan sekuens berulang RLEP pada genom *M.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 *M.leprae* pada 73% pasien dengan indeks bakteri (BI) 0. Sementara itu, 16SrRNA dan *sodA* berperan dalam viabilitas dan uji deteksi yang spesifik untuk *M. Leprae*. Bahkan, spesifisitas dari salinan tunggal 16SrRNA lebih besar daripada multi- salinan RLEP. Hasilnya, pengujian dengan menargetkan ketiga gen tersebut dapat mendeteksi bakteri *M.leprae* secara sensitif dan spesifik. Akan tetapi, teknik PCR konvensional hanya dapat menargetkan satu gen dalam sekali waktu sehingga kurang efisien. Oleh karena itu, diperlukan metode yang dapat

menargetkan ketiga gen tersebut secara bersamaan, sebagaimana ditunjukkan oleh teknik *M-PCR*.

M-PCR adalah jenis *PCR* yang dapat menargetkan beberapa gen sekaligus dalam sekali reaksi. Setiap target dapat memiliki pasangan primer yang berbeda-beda sehingga probe harus dapat dibedakan satu sama lain dengan jelas. Dengan menggunakan *M-PCR*, informasi yang didapatkan lebih banyak daripada *PCR* konvensional meskipun sampel yang digunakan lebih sedikit. Teknik ini juga lebih efektif dan efisien karena membutuhkan waktu dan bahan yang lebih sedikit. Untuk mendapatkan hasil terbaik, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam metode *M-PCR*. Pertama, desain primer harus optimal sehingga semua pasangan primer berbeda dapat bekerja dalam suhu anil yang sama saat dilakukan *PCR*. Kedua, desain primer harus dapat memastikan bahwa semua pasangan primer sangat spesifik. Ketiga, ukuran *amplicon* atau panjang produk tidak boleh berbeda jauh agar produk amplifikasi yang dihasilkan seragam dan optimal.

Sebuah studi yang dilakukan pada tahun 2017 melaporkan deteksi penyakit lepra sebesar 75,61% menggunakan teknik *M-PCR* yang menargetkan tiga *pseudogenes M. leprae* (ML1545, ML2180, dan ML2179). Hal ini membuktikan adanya peningkatan efikasi oleh teknik *M-PCR* dari teknik sebelumnya, yaitu *PCR* konvensional, dalam mendeteksi gen-gen pada bakteri *M. leprae*. Tak hanya mendiagnosis lepra pada fase klinis, *M-PCR* juga dapat dilakukan untuk diagnosis dini narakontak serumah pasien yang masih belum menunjukkan gejala. Studi mengenai transmisi *M. leprae* pada narakontak serumah menggunakan *PCR* melaporkan adanya hasil positif sebesar 16% setelah dilakukan deteksi pada sampel nasal swab. Setelah di *follow-up* beberapa waktu kemudian, 2 orang menunjukkan tanda-tanda dan gejala. Di samping itu, *M-PCR* yang menargetkan *RLEP* dan *TTC* pada sampel nasal swab dari subjek narakontak serumah menunjukkan hasil positif jauh lebih dari 10%. Hasil positif lain dengan persentase cukup tinggi (49%) juga ditunjukkan pada saat dilakukan *qPCR* terhadap *RLEP* dari sampel nasal swab narakontak serumah dan pasien MB .

Studi yang dilakukan di India pada tahun 2019 mengenai penggunaan *M-PCR* sebagai alat diagnosis dini lepra pada narakontak serumah. Subjek dari penelitian itu sejumlah 60 pasien PB dan 50 narakontak serumah. Sampel berupa SSS, darah, *nasal swab*, dan *saliva* dikumpulkan dari subjek dan diproses lebih lanjut untuk dilakukan *M-PCR* dengan hasil sebagaimana tampak pada Tabel 2. Dari hasil penelitian tersebut, tampak bahwa diagnosis dini menggunakan *M-PCR* dengan gen target *RLEP*, *16SrRNA*, dan *sodA* pada narakontak serumah memiliki hasil positif yang cukup signifikan pada sampel *nasal swab*, yaitu 40%. Penggunaan *M-PCR* pada sampel ini menghasilkan sensitivitas dan spesifitas yang cukup tinggi, yaitu 0,8 dan 0,6.

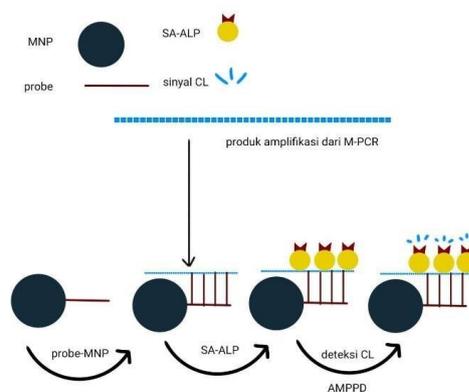
Meskipun penggunaan sampel lain menunjukkan sensitivitas dan spesifitas yang tinggi, sampel nasal swab lebih dapat dijadikan tumpuan untuk mendeteksi *M. leprae* pada fase subklinis. Hal ini disebabkan transmisi utama dari bakteri *M. leprae* adalah melalui penyebaran *aerosol* lewat saluran pernapasan atas. Oleh karena itu, penggunaan sampel nasal swab memiliki kelebihan daripada sampel lain dalam diagnosis lepra pada penyandang lepra asimtomatis, seperti narakontak serumah pasien.

Sensitivitas dan spesifitas sampel nasal swab yang lebih rendah jika dibandingkan dengan sampel lain dapat diperbaiki dengan penguatan *M-PCR* itu sendiri. Sebuah metode

yang dapat dipakai adalah *CL* dengan memanfaatkan *MNP*. *CL* merupakan emisi cahaya yang berasal dari reaksi kimia. Pancaran ini berasal dari radiasi tampak ataupun tak tampak (300-800 nm) yang terbentuk pada saat elektron berpindah dari keadaan tereksitasi ke keadaan dasar (Himami, 2021). Resultan energi potensial yang dihasilkan ini pun akan terlepas dalam bentuk cahaya (Suherman, Luwihono, & Rasyid, 2022). Selama bertahun-tahun, *CL* sudah dikenal sebagai metode untuk menganalisis *molekul*, termasuk asam nukleat organisme, karena sensitivitas dan spesifitasnya yang tinggi. Selain itu, metode ini juga terbilang efisien, baik dari segi kecepatan maupun biaya.

Dalam metode *CL*, ada beberapa penanda yang dapat dipakai. Penanda langsung misalnya berupa penanda luminofor seperti ester dari akridinium dan ruthenium. Sementara itu, penanda tidak langsung adalah penanda enzimatik berupa alkaline fosfat dengan adamantyl 1,2-dioxetane aryl phosphate (AMPPD). Pada saat menggunakan AMPPD, maka dibutuhkan bahan tambahan alkaline phosphatase (ALP) sehingga dihasilkan reaksi berupa warna dan nyala. Dalam deteksi molekul biologis, AMPPD lebih sering digunakan karena kestabilannya. Berangkat dari potensi tersebut, aplikasi *MNP* pada produk amplifikasi *M-PCR* dan analisis menggunakan *CL* bisa meningkatkan sensitivitas dan spesifitas yang didapatkan secara efisien.

Setelah dilakukan *M-PCR*, hasil amplifikasi dapat dihibridisasi dengan *MNP* yang sudah dilekatkan dengan probe. *MNP* dapat berupa Fe_3O_4 . Pada proses itu juga, ditambahkan streptavidin alkaline phosphatase (SA-ALP). Setelah itu, AMPPD ditambahkan agar larutan dapat dianalisis menggunakan metode *CL*, sebagaimana terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema M-PCR yang Diperkuat MNP dan CL

Sementara itu, *MNP* adalah nanomaterial yang banyak digunakan dalam obat-obatan, MRI, sampai purifikasi asam nukleat dan protein. Hal ini disebabkan oleh kemampuan nanopartikel ini dalam pemisahan dan adsorpsi (kemampuan untuk adhesi pada permukaan partikel lain, terutama yang padat) (Irianto & Muljanah, 2011). Kelebihan ini membuat penambahan *MNP* dalam metode *CL* dapat memperkuat sensitivitas deteksi. Pada studi-studi yang telah dilakukan, deteksi *MNP-CL* membuktikan adanya peningkatan sensitivitas dan spesifitas daripada metode analisis lain. Sebuah studi mengenai analisis variasi jumlah salinan gen menggunakan metode ini memperlihatkan lebih sedikit ketidaksesuaian daripada metode multiplex ligation-dependent probe amplification

(MLPA). Selain itu, aplikasi MNP-CL pada *genotyping* bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan M-PCR lebih akurat daripada metode PCR saja.

Dengan menggunakan M-PCR yang diperkuat MNP dan CL, deteksi bakteri *M. leprae* dapat dilakukan dengan efektif dan efisien. Hal ini akan mempermudah diagnosis dini penyakit lepra pada narakontak serumah pasien. Hasilnya, penanganan yang sesuai dapat diterapkan sehingga kecacatan besar bisa dicegah (Nafiah, 2015). Apabila metode ini dapat diterapkan secara luas di Indonesia, maka penyakit *lepra* pun dapat tereradikasi secara sempurna. Meskipun studi mengenai diagnosis dini lepra menggunakan M-PCR yang diperkuat MNP dan CL masih sangat terbatas, tak menutup kemungkinan metode ini dapat diteliti dan dikembangkan lebih lanjut sehingga efikasinya pun terbukti secara klinis. Selain itu, komposisi MNP dan AMPPD yang tepat pun perlu dielaborasi kembali.

KESIMPULAN

Indonesia adalah negara dengan jumlah *lepra* tertinggi kedua didunia. Penyakit kronis yang disebabkan oleh bakteri *mycobacterium leprae* ini dapat menular melalui kontak dalam jangka waktu lama, seperti pada narakontak serumah pasien. Namun, masa inkubasinya yang mencapai bertahun-tahun membuat bakteri ini sulit terdeteksi. Hal ini menunjukkan perlu adanya suatu metode diagnosis dini *lepra* pada narakontak serumah agar penanganan yang dilakukan dapat lebih efektif dan efisien.

Metode yang sudah terbukti secara empiris adalah *M-PCR*, yaitu teknik *PCR* yang dapat menargetkan beberapa gen sekaligus sehingga lebih efisien daripada teknik *PCR* konvensional. Aplikasi *M-PCR* untuk mendeteksi gen *RLEP*, *16SrRNA*, dan *sodA* pada *M. leprae* tak hanya berperan dalam diagnosis lepra pada fase klinis, tetapi juga dalam diagnosis dini narakontak serumah pasien. Berdasarkan beberapa studi menggunakan *M-PCR*, hasil positif signifikan bakteri *M.leprae* pada narakontak serumah pasien lepra tampak pada saat sampel berupa nasal swab. Sensitivitas dan spesifisitas metode ini pun dapat ditingkatkan pada saat diperkuat oleh *MNP* dan *CL*. Hal ini menunjukkan potensi *M-PCR* yang diperkuat *MNP* dan *CL* dengan sampel nasal swab sebagai tes diagnosis dini yang efektif terhadap penyakit lepra pada narakontak serumah pasien.

Akan tetapi, masih dibutuhkan studi klinis lebih lanjut mengenai aplikasi *CL* dengan memanfaatkan *MNP* pada *M-PCR* dalam mendiagnosis lepra untuk membuktikan efikasinya. Selain itu, perlu ada kerja sama antara pihak tenaga kesehatan dengan pemerintah sehingga metode ini dapat diterapkan secara meluas dan merata di Indonesia. Dengan demikian, diharapkan penyakit *lepra* di negara ini dapat tereradikasi secara maksimal.

BIBLIOGRAFI

- Amiruddin, Muh Dali. (2019). *Penyakit kusta: sebuah pendekatan klinis*. Firstbox Media.
- Amrina Yulita, A. Y. (2021). *Pengetahuan, Sikap Penderita Penyakit Kusta Serta Peran Masyarakat Di Wilayah Kerja Uptd Puskesmas Batumarta Ii Kabupaten Oku Tahun 2021*. STIK Bina Husada Palembang.
- Catrina, Putri, Warjiman, Warjiman, & Rusmegawati, Rusmegawati. (2016). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Tingkat Kecacatan Klien Kusta. *Jurnal Keperawatan*

- Suaka Insan (JKSI)*, 1(1), 1–13.
- Fadilah, Superzeki Zaidatul. (2013). Hubungan dukungan keluarga dengan depresi penderita kusta di dua wilayah tertinggi kusta di Kabupaten Jember.
- Fajrin, Yaris Adhial. (2019). Perempuan dalam Prostitusi: Konstruksi Pelindungan Hukum Terhadap Perempuan Indonesia dari Perspektif Yuridis dan Viktimologi. *Negara Hukum: Membangun Hukum Untuk Keadilan Dan Kesejahteraan*, 10(1), 67–88.
- Hetty, Apriliana. (2019). Faktor–Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Kusta Di Wilayah Kerja Puskesmas Wonoasri Kabupaten Madiun. *Stikes Bhakti Husada Mulia Madiun*.
- Himami, Muhammad Rifqi. (2021). Pengaruh paparan LED warna merah dan hijau terhadap pertumbuhan tanaman Kailan (*Brassica oleraceae*) dengan sistem hidroponik cocopeat. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Irianto, Hari Eko, & Muljanah, Ijah. (2011). Proses dan aplikasi nanopartikel kitosan sebagai penghantar obat. *Squalen*, 6(1), 1–8.
- Marsanti, Avicena Sakufa, & Ardiani, Hanifah. (2020). Hubungan Antara Personal Hygiene Dengan Kejadian Kusta Di Wilayah Kerja Puskesmas Wonoasri Kabupaten Madiun. *Jurnal Keperawatan Dan Kesehatan Masyarakat Cendekia Utama*, 9(2), 102–108.
- Muthmainnah, Muthmainnah, Mardhiyah, Ajeng Sayang, & Fikri, Muhammad Zainal. (2019). Peran Self-Stigma Terhadap Kesejahteraan Psikologis Pada Mantan Penderita Kusta Di Sumatera Selatan. Sriwijaya University.
- Nafiah, Rufin. (2015). Tingkat Kemandirian Pasien Post Stroke Iskemik Di Poli Syaraf Rsud Jombang. Universitas Pesantren Tinggi Darul Ulum.
- Prakoewa, Cita Rosita Sigit, Rantam, Fedik Abdul, Listiawan, Muhammad Yulianto, Alinda, Medhi Denisa, Prakoewa, Flora Ramona Sigit, & Astari, Linda. (2021). *Ulkus Plantar Kronis Pada Kusta: Tata Laksana Terkini*. Airlangga University Press.
- Purba, Agung Mahardika Venansius, Khairani, Miftahul, Purba, Deasy Handayani, Yesti, Yulia, Manalu, Adelya Irawan, Puspita, Ratna, Unsunnidhal, Lalu, Siagian, Ernawati, Budiono, Budiono, & Erdiandini, Ira. (2021). *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Yayasan Kita Menulis.
- Puspa Satriani, P. S. (2021). Analisis Penerapan Aplikasi Skdr Program Surveilans Terhadap Penggunaan Aplikasi Skdr (Sistem Kewaspadaan Dini Dan Respons) Berbasis Puskesmas Diwilayah Kerja Dinas Kesehatan Kabupaten Lahat Tahun 2021. STIK Bina Husada Palembang.
- Suherman, Benny, Luwihono, Andung, & Rasyid, Syahrir. (2022). *Buku Ajar Konversi Energi Listrik*. Yayasan Kita Menulis.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).