

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kusta masih menjadi masalah kesehatan publik di berbagai negara (Wang, 2015). Infeksi mikrobial ini bersifat endemik pada lebih dari 15 negara dan dilaporkan sekitar 250.000 kasus kusta baru setiap tahun dari seluruh dunia (Brito, 2013; Eichelmann, 2013). Selama tahun 2012 dilaporkan kasus kusta baru sebanyak 232.857 kasus dan diperkirakan akan mencapai 4 juta kasus pada tahun 2020 (Wang, 2015; Paredes, 2016). Walaupun telah menyelesaikan terapi banyak penderita mengalami reaksi kusta, kecacatan dan disfungsi neurologik akibat kerusakan saraf perifer yang ireversibel (Paredes, 2016). Penyakit ini juga berkaitan erat dengan mitos terhadap stigma, kematian dan mutilasi. Persepsi ini menimbulkan prasangka, diskriminasi dan eksklusi sosial sehingga penderita tidak hanya sakit fisik tapi juga mental dan berpengaruh terhadap kehidupan personal dan profesional mereka (Garbin, 2015).

Indonesia tahun 2013 menempati urutan ketiga di dunia setelah India dan Brazil dengan jumlah kasus kusta baru sebanyak 16.856 kasus dan jumlah kecacatan tingkat 2 di antara penderita baru sebanyak 9,86% (Kemenkes RI, 2015). Kasus baru kusta tahun 2015 dilaporkan sebanyak 17.202 kasus dengan 84,5% di antaranya merupakan tipe Multibasiler (MB). Angka cacat tingkat 2 pada tahun 2015 sebesar 6,60 per 1 juta penduduk. Provinsi Sulawesi Utara menempati urutan tertinggi angka cacat tingkat 2 per 1.000.000 penduduk pada tahun 2015 yaitu sebanyak 21,14% disusul daerah lain seperti Papua Barat

(19,51%) dan Gorontalo (18,53%) (Kemenkes RI, 2016). Tahun 2014 di Propinsi Jambi dilaporkan terdapat kasus baru tipe Pausibasilar (PB) sebanyak 9 kasus dan tipe Multibasilar (MB) sebanyak 68 kasus. Kabupaten dengan kasus kusta baru tertinggi adalah kabupaten Tanjung Jabung Timur sebanyak 34 kasus dengan prevalensi kasus 4,48 per 10.000 penduduk (Dinkes Jambi, 2015). Jumlah pasien kusta yang berkunjung ke Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUD Raden Mattaher Jambi dari tahun 2014 sampai 2016 sebanyak 29 orang dengan jumlah pasien laki-laki sebanyak 18 orang dan perempuan sebanyak 11 orang.

Kusta adalah penyakit infeksi granulomatos kronik disebabkan oleh basil obligat intraseluler *Mycobacterium leprae* (*M leprae*), terutama mengenai kulit dan saraf perifer serta dapat menyebabkan kecacatan dan kerusakan fisik yang jelas (Eichelmann, 2013; Garbin, 2015). Kriteria diagnosis kusta menurut *World Health Organization (WHO)* berdasarkan pada tiga gejala kardinal yaitu makula eritema atau hipopigmentasi yang mati rasa, penebalan saraf perifer serta apusan basil tahan asam atau biopsi kulit yang positif (Eichelman, 2013). *Slit Skin Smear (SSS)* masih merupakan metode laboratorium untuk konfirmasi dan klasifikasi bentuk klinis kusta. *World Health Organization* mengklasifikasikan semua kasus kusta dengan hasil SSS positif tanpa memperhatikan jumlah lesi sebagai kusta multibasiler (MB). Oleh karena itu hasil apusan kulit kusta pausibasiler (PB) akan selalu negatif (Silva, 2017).

Kusta multibasiler timbul pada penderita dengan respon imun seluler yang rendah terhadap *M leprae*, sehingga memiliki beban basiler yang tinggi dan menjadi sumber infeksi (Nobre, 2017). Penderita kusta multibasiler terutama bertanggung jawab untuk penularan *M leprae* pada daerah yang endemis.

Narakontak dengan kasus multibasiler dan tinggal serumah memiliki risiko empat kali lipat untuk menderita kusta dibandingkan dengan kontak dengan kasus pausibasiler (Sales, 2011).

Identifikasi dini kasus kusta masih tetap menjadi prioritas utama dalam mengontrol penyakit ini, serta merupakan strategi untuk memutuskan rantai penularan dan mencegah kecacatan fisik (Brito, 2013; Paredes, 2016). Namun, diagnosis awal kusta masih sulit dilakukan karena tidak ada metode baku emas (*gold standard*) untuk mendeteksi *M. leprae* atau komponen sel (deoxyribose nucleic acid/DNA, lipid atau protein) mikobakterium ini. Keterbatasan dalam mengembangkan alat diagnostik baru disebabkan karena ketidakmampuan menumbuhkan *M. leprae* secara *in vitro* (Martinez, 2011&2014). Walaupun penentuan indeks bakteriologi menggunakan *Slit Skin Smear* dan pemeriksaan histopatologi masih menjadi metode standar untuk identifikasi beban basiler, namun hasil pemeriksaan ini hanya terbatas pada lingkup mikroskopik yang diperiksa (Chaitanya, 2016).

Identifikasi definitif *M. leprae* selama 20 tahun terakhir, bisa dilakukan melalui pengembangan metode ekstraksi, amplifikasi dan identifikasi DNA dalam spesimen klinis menggunakan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* (Martinez, 2014). Berbagai sekuen telah digunakan sebagai target PCR seperti 36-kDa antigen, 18-kDa antigen, 65-kDa antigen, kompleks 85, 16S rDNA dan sekuen repetitive RLEP, namun spesifisitas gen target ini masih dipertanyakan. Sampai saat ini, gen target yang spesifik terhadap genom *M. leprae* adalah gen RLEP, yang mampu mendeteksi 70% kasus kusta dengan indeks bakteri (IB) negatif menggunakan *Real-time PCR*. Namun, gen target RLEP hanya bisa mendeteksi

30-50% kasus kusta dengan IB negatif jika menggunakan PCR konvensional (Chaitanya, 2016).

Salah satu karakteristik pada genome *M leprae* adalah adanya pseudogen dalam jumlah besar (Suzuki, 2006). Berbagai analisis telah memperlihatkan bahwa beberapa pseudogen dan regio *non-coding* banyak diekspresikan hingga ke tingkat *ribonucleic acid (RNA)* dan menunjukkan berbagai fungsi yang belum diketahui, namun berbagai hipotesis menyatakan keterlibatannya dalam pengaturan infeksi, parasitisme intraseluler atau replikasi bakterium (Suzuki, 2012; Reibel, 2015).

Pseudogen regio promotor ML 1545 pada *M leprae* mempunyai sekuens DNA unik dan spesifik dan telah diidentifikasi *112-bp sequence* yang memiliki kemungkinan mengkode enzim *4-alpha-glucanotransferase* (Chaitanya, 2016). Fungsi enzim *4-alpha-glucanotransferase* adalah memecah ikatan α -1,4 dan mentransfer kandungan glikan/sakarida (donor) ke molekul aseptor dan membentuk ikatan α -1,4 yang baru dalam proses metabolisme glikogen (Takaha, 1999; Jan, 2005). Dengan cara ini, glikogen secara lengkap mengalami proses *debranching* dan didegradasi menjadi glukosa 1 fosfat (Takaha, 1999). Glukosa 1 fosfat dikonversi menjadi *UDP-glukose*; selanjutnya dikonversi menjadi *UDP galaktose* untuk menjadi bagian dari kompleks arabinogalaktan (AG), polisakarida mayor dalam struktur dinding sel mikobakterium. Glukosa 1 fosfat juga merupakan prekursor untuk komponen *L-rhamnose* sebagai molekul penghubung untuk peptidoglikan dan arabinogalaktan (*PTG-AG linker*) (Gupta, 2014).

Peptidoglikan dan AG merupakan bagian dari inti dinding sel dan diselingi oleh sejumlah glikolipid antara lain *phenolic glycolipid*. *Phenolic glycolipid-1 M*

leprae memiliki imunogenisitas kandungan gula yang tinggi dan merupakan faktor virulensi yang sangat penting (Berg, 2007; Arbues, 2014). Biosintesis PGL-1 ini melibatkan tambahan rangkaian tiga *basic sugars* yaitu *3-O-methyl-rhamnose*, *2,3-di-O-methyl-rhamnose* dan *3,6-di-O-methyl-glucose* yang berikatan secara glikosilasi pada substituent phenol (Spencer, 2011; Constant, 2002).

Phenolic-glycolipid 1 (PGL-1) mampu memodulasi respon imun awal dari host yang dimediasi oleh domain unsaturasi melalui mekanisme yang belum sepenuhnya diketahui. *Phenolic-glycolipid 1* akan berikatan dengan komponen komplemen (C3) monosit/makrofag dan *Toll-like receptor* (TLR2/1) heterodimer yang bekerja meningkatkan aktivitas *M leprae* untuk menginvasi monosit serta menimbulkan resisten aktivitas *intracellular killing*, menghambat sekresi sitokin proinflamasi, menginduksi penurunan aktivitas, maturasi sel dendritik serta mengurangi kemampuan *antigen presenting cell* (APC) memicu respon sel T (Arbues, 2014).

Aktivasi sel T helper 1 menyebabkan terbentuknya granuloma tuberkuloid dan nekrosis caseosa, abses serta kerusakan saraf (Fonseca, 2017). Pada kasus Lepromatosa, pelepasan IL-4, IL-10, *leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 2* (IL-1RA2) dan fosfolipid yang teroksidasi akan menghambat respon sitokin yang diinduksi TLR2/1 tetapi mempertahankan pelepasan IL-10. Produksi IL-4 dan IL-10 akan menginduksi profil imun T helper 2 dan T regulator, produksi antibodi, tidak ada granuloma dan kegagalan membatasi pertumbuhan *M leprae* (Fonseca, 2017).

Keberadaan antigen PGL-1 akan merangsang pembentukan antibodi immunoglobulin M (IgM) anti PGL-1, antibodi inilah yang akan bereaksi dengan

antigen PGL-1 yang baru terbentuk. IgM anti PGL-1 berkaitan dengan banyaknya bakteri *M leprae* pada penderita dan dapat berguna sebagai penentu diagnosis kusta (Hamzah, 2016).

Matriks metalloproteinase (MMP) merupakan famili enzim proteolitik *zinc*-*and calcium dependent* yang bertanggung jawab terhadap *remodelling* matrik ekstraseluler (MES) dan regulasi migrasi leukosit, suatu tahap yang sangat penting dalam proses inflamasi pada penyakit infeksi (Teles, 2010). Walaupun pada awalnya fungsi MMP hanya sebagai *matrix-degrading enzyme*, namun ternyata MMP berperan penting dalam berbagai fungsi biologikal pada migrasi seluler, immunomodulasi, angiogenesis dan *matrix remodelling* (Youssef, 2009). *Matriks metalloproteinase-9* dihasilkan oleh keratinosit, monosit dan makrofag dan berperan penting dalam menarik leukosit ke lokasi inflamasi sebagai pertahanan terhadap infeksi mikobakterium (Teles, 2010; Youssef, 2009). Kadar serum MMP-9 yang tinggi telah digunakan sebagai biomarker aktivitas penyakit (Teles, 2010). *Matriks metalloproteinase-9* merupakan penanda banyaknya *functioning macrophage*, formasi granuloma epiteloid dan efek destruktif potensial saraf perifer pada pasien kusta pausibasiler. Selain itu, kadar MMP-9 juga memiliki peranan pada terjadinya reaksi eritema nodosum lepraesum (ENL) (Youssef, 2009).

Peningkatan ekspresi MMP-9 ditemukan pada kondisi peningkatan fungsi makrofag dan sel epiteloid spektrum kusta kutub tuberkuloid; imunoreaktivitas menurun ke arah spektrum kusta kutub lepromatosa yang ditandai oleh adanya kerusakan fungsi histiosit dan reaktivitas akan meningkat kembali pada fibroblast di sekitar vaskulitis pada keadaan reaksi (Youssef, 2009).

Chaitanya, dkk (2016) melaporkan untuk pertama kali utilitas promotor pseudogen ML-1545 untuk diagnosis kusta dengan menggunakan PCR konvensional dan sampel jaringan lesi kulit. Target terbaru ini mampu mendeteksi 82% kasus Kusta dengan indeks bakteri (IB) negatif, memperlihatkan sensitifitas yang tinggi pada kasus beban basiler yang rendah. Hasil penelitian ini memperlihatkan adanya peningkatan nilai PCR positif menggunakan ML-1545 dibandingkan RLEP pada kelompok studi: 164/180 (91,11%) positif untuk ML-1545 dan 14/180 (6,32%) positif untuk RLEP. Pada kasus Kusta dengan IB negatif, borderline tuberkuloid dan lepromatosa, hasil pemeriksaan PCR positif untuk ML-1545 juga lebih tinggi dibandingkan RLEP. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa promotor pseudogen ML1545 merupakan target gen yang penting dalam pemeriksaan PCR untuk kasus kusta (Chaitanya, 2016).

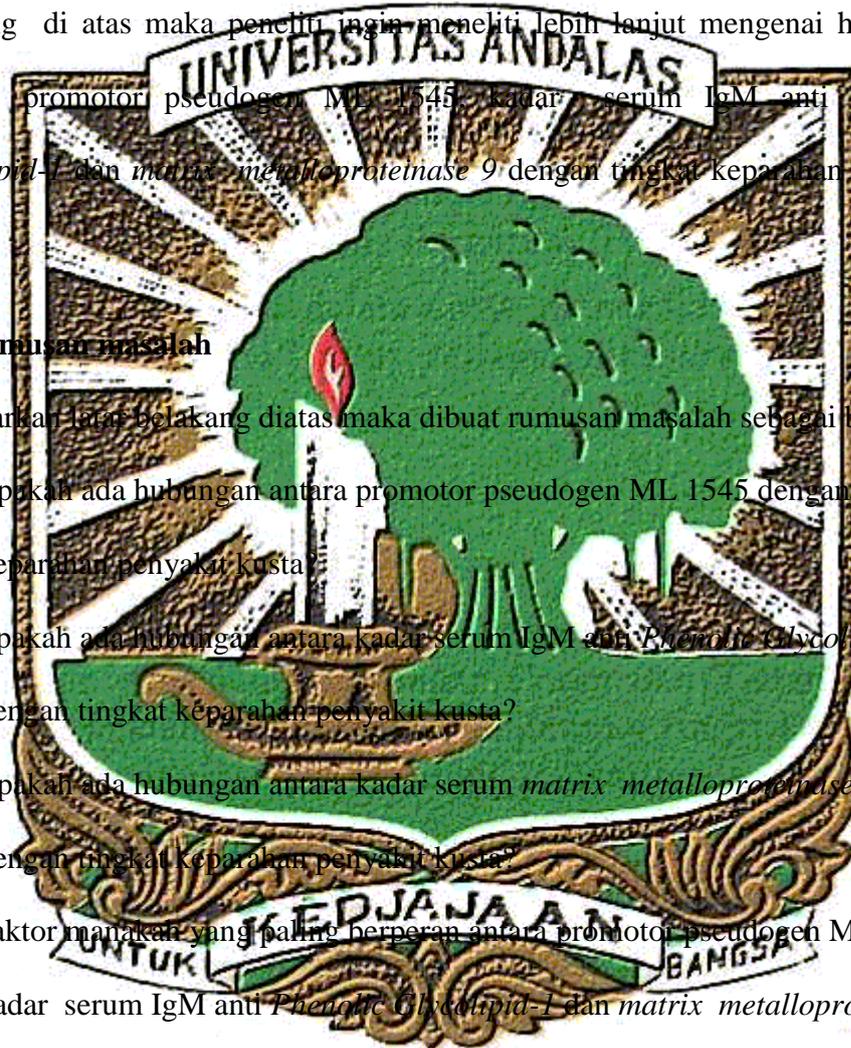
Gejala klinis kusta paling sering dikenali pada kulit dan saraf perifer, tetapi telah diketahui bahwa bakteremia juga terjadi pada waktu tertentu selama perjalanan penyakit. Resirkulasi fagosit terinfeksi memiliki peranan dalam kondisi bakteremia yang intermiten pada kusta pausibasiler dan bakteremia yang terus menerus pada kusta multibasiler (Reis, 2014). Penderita kusta multibasiler merupakan sumber utama penularan *M. lepra* karena setidaknya terdapat 10^5 basil aktif/ml di dalam darah dan narakontak yang tinggal serumah memiliki risiko tinggi menderita penyakit ini. Oleh karena itu, sangat penting untuk memastikan kondisi subklinis dan menemukan DNA *M. lepra* dalam darah sehingga dapat dilakukan pencegahan perkembangan kusta pada narakontak (Reis, 2014).

Pemeriksaan promotor pseudogen ML-1545 yang diduga mengkode enzim 4-*alpha-glucanotransferase* dengan sampel darah vena pada penelitian ini baru pertama kali dilakukan baik pada penderita kusta maupun pada narakontak. Selain itu, masih diperlukan pemahaman lebih luas tentang peranan IgM PGL-1 dan MMP-9 sebagai biomarker aktivitas penyakit kusta. Berdasarkan latar belakang di atas maka peneliti ingin meneliti lebih lanjut mengenai hubungan antara promotor pseudogen ML-1545, kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *matrix metalloproteinase 9* dengan tingkat keparahan penyakit kusta.

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

- 1.2.1 Apakah ada hubungan antara promotor pseudogen ML 1545 dengan tingkat keparahan penyakit kusta?
- 1.2.2 Apakah ada hubungan antara kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dengan tingkat keparahan penyakit kusta?
- 1.2.3 Apakah ada hubungan antara kadar serum *matrix metalloproteinase 9* dengan tingkat keparahan penyakit kusta?
- 1.2.4 Faktor manakah yang paling berperan antara promotor pseudogen ML 1545, kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *matrix metalloproteinase 9* dalam tingkat keparahan penyakit kusta?



1.3. Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Membuktikan hubungan antara promotor pseudogen ML 1545, kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *matrix metalloproteinase 9* dengan tingkat keparahan penyakit kusta

1.3.2 Tujuan khusus

- 1.3.2.1 Menganalisis hubungan antara promotor pseudogen ML 1545 dengan tingkat keparahan penyakit kusta
- 1.3.2.2 Menganalisis hubungan antara kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dengan tingkat keparahan penyakit kusta
- 1.3.2.3 Menganalisis hubungan antara kadar serum *matrix metalloproteinase 9* dengan tingkat keparahan penyakit kusta
- 1.3.2.4 Menganalisis faktor yang paling berperan antara promotor pseudogen ML 1545, kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *matrix metalloproteinase 9* dalam tingkat keparahan penyakit kusta

1.4 Manfaat penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk:

1.4.1 Pengembangan Ilmu pengetahuan

Dengan terbukti adanya hubungan antara promotor pseudogen ML 1545, kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *matrix metalloproteinase 9* dengan tingkat keparahan kusta maka dapat diketahui peranan ketiganya dalam patogenesis kusta



1.4.2 Kepentingan praktisi

1.4.2.1 Memberikan masukan kepada praktisi mengenai penggunaan promotor pseudogen ML 1545, IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *matrix metalloproteinase 9* dalam mendiagnosis penyakit kusta

1.4.2.2 Penggunaan promotor pseudogen ML-1545, IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *matrix metalloproteinase 9* dalam mendiagnosis kusta diharapkan dapat mencegah penularan, membenkan pengobatan lebih cepat, dan mencegah terjadinya komplikasi.

