

p-ISSN 2809-5669

BULETIN EPIDEMIOLOGI

VOLUME 17, NOMOR 1, DESEMBER 2023



**KEJADIAN IKUTAN PASCA VAKSINASI COVID-19 BOOSTER
DI BALAI BESAR TEKNIK KESEHATAN LINGKUNGAN
DAN PENGENDALIAN PENYAKIT YOGYAKARTA TAHUN 2021**

Pama Rahmadewi



**SURVEILANS RESISTENSI OBAT KUSTA
DI KOTA PEKALONGAN DAN KABUPATEN BREBES
PROVINSI JAWA TENGAH TAHUN 2022**

Yohanna Gita Chandra, Dwi Amalia, Ratna Wijayanti, Heni Amikawati



FRAMBUSIA DI INDONESIA

Ratna Wijayanti



**KARAKTERISASI GENETIK *Plasmodium* sp.
BUKIT MENOREH DAN SEKITARNYA
DAERAH ISTIMEWA YOGYAKARTA DAN PROVINSI JAWA TENGAH**

Andiyatu, Yohanna Gita Chandra, Heni Amikawati, Ratna Wijayanti

Diterbitkan Oleh :



Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan
Pengendalian Penyakit (BBTKLPP) Yogyakarta

BULETIN
EPIDEMIOLOGI

Vol. 17

No. 1

Hal. 1 - 47

YOGYAKARTA
DESEMBER 2023

p-ISSN
2809 - 5669

BULETIN
EPIDEMIOLOGI

Volume 17, Nomor 1, Desember 2023

BULETIN
EPIDEMIOLOGI

Volume 17, Nomor 1, Desember 2023

DEWAN REDAKSI

Diterbitkan Oleh:
BBTKLPP Yogyakarta

Penanggung Jawab:
dr. Darmawali Handoko, M.Epid.

Reviewer:
dr. Citra Indriani, M.P.H.

Pemimpin Redaksi:
dr. Ratna Wijayanti, M.P.H.

Editor:
Dr. Andiyatu, S.K.M., M.Si.
dr. Yohanna Gita Chandra, M.S.
dr. Dwi Amalia, M.P.H.
Heldhi B. Kristiyawan, S.K.M., M.Eng.

Redaktur:
Tarsini, A.Md.
Septi Supriyatin, Amd.K.L.

Sekretariat:
Restu Wiratni, Amd.K.L.
Tri Mulyani, Amd.K.L.

BULETIN EPIDEMIOLOGI

Volume 17, Nomor 1, Desember 2023

PENGANTAR REDAKSI

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji Syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT atas diterbitkannya Buletin Epidemiologi Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit (BBTKLPP) Yogyakarta.

Buletin Epidemiologi Volume 17, Nomor 1 ini terdiri dari empat naskah hasil kajian atau kegiatan epidemiologi yang dilakukan oleh BBTKLPP Yogyakarta atau bersama institusi lain dalam jejaring kerja, dan juga naskah ilmiah lain, dengan judul naskah sebagai berikut:

1. Kejadian Ikutan Pasca Vaksinasi Covid-19 *Booster* di Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Yogyakarta Tahun 2021;
2. Surveilans Resistensi Obat Kusta di Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes Provinsi Jawa Tengah Tahun 2022;
3. Frambusia di Indonesia;
4. Karakterisasi Genetik *Plasmodium* sp. Bukit Menoreh dan Sekitarnya Daerah Istimewa Yogyakarta dan Provinsi Jawa Tengah.

Kami menyadari tak ada yang sempurna, begitu juga Buletin Epidemiologi BBTKLPP Yogyakarta yang kami susun ini. Kami terbuka terhadap saran dan kritik yang membangun dari pembaca guna terwujudnya Buletin Epidemiologi BBTKLPP Yogyakarta yang lebih baik ke depannya.

Akhir kata, semoga apa yang tersaji dalam Buletin Epidemiologi BBTKLPP Yogyakarta Edisi I Tahun 2023 dapat bermanfaat dan menambah ilmu bagi para pembaca.

Terima kasih dan selamat membaca.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Kepala BBTKLPP Yogyakarta



dr. DARMAWALI HANDOKO, M.Epid.

BULETIN EPIDEMIOLOGI

Volume 17, Nomor 1, Desember 2023

DAFTAR ISI

1. Dewan Redaksi.....	I
2. Pengantar Redaksi.....	II
3. Daftar Isi.....	III
4. Kejadian Ikutan Pasca Vaksinasi Covid-19 <i>Booster</i> di Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Yogyakarta Tahun 2021.....	1
5. Surveilans Resistensi Obat Kusta di Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes Provinsi Jawa Tengah Tahun 2022.....	10
6. Frambusia di Indonesia.....	20
7. Karakterisasi Genetik <i>Plasmodium</i> sp. Bukit Menoreh dan Sekitarnya Daerah Istimewa Yogyakarta dan Provinsi Jawa Tengah.....	32

**KEJADIAN IKUTAN PASCA VAKSINASI COVID-19 BOOSTER
DI BALAI BESAR TEKNIK KESEHATAN LINGKUNGAN
DAN PENGENDALIAN PENYAKIT YOGYAKARTA TAHUN 2021**

Pama Rahmadewi

ABSTRAK

Latar Belakang: Vaksinasi Covid-19 merupakan salah satu upaya percepatan penanggulangan pandemi Covid-19 yang diterapkan di Indonesia yang diharapkan mampu mengurangi risiko rawat inap dan kematian. BBTCLPP Yogyakarta melakukan vaksinasi Covid-19 dosis lengkap dan *booster* pada Bulan Agustus dan Oktober 2021. Risiko kejadian ikutan pasca imunisasi (KIPI) selalu ada pada setiap tindakan imunisasi.

Tujuan: Menganalisis KIPI vaksinasi Covid-19 *booster* di BBTCLPP Yogyakarta.

Metode: Penelitian ini menggunakan desain studi potong lintang. Penelitian dilakukan di Bulan Agustus dan Oktober 2021 kepada 163 pegawai BBTCLPP Yogyakarta yang mendapat vaksinasi Covid-19 *booster* dengan kriteria telah mendapatkan vaksinasi primer dosis lengkap minimal 6 bulan sebelumnya. Instrumen pengumpulan data menggunakan kuesioner melalui Google Form. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Uji chisquare dilakukan untuk mengetahui perbedaan KIPI vaksinasi Covid-19 menurut jenis kelamin, umur, dan riwayat terinfeksi Covid-19. Analisis dilakukan menggunakan software Stata 17 dengan $\alpha = 0,05$.

Hasil: Prevalensi KIPI vaksinasi Covid-19 *booster* di BBTCLPP adalah 94,67%. Empat KIPI vaksinasi Covid-19 yang ditemukan adalah nyeri di lokasi suntikan (97,33%), demam (73,33%), nyeri otot (65,33%) dan sakit kepala (61,33%). Sebanyak 91,69% responden mengalami nyeri di lokasi suntikan, 69,39% responden mengalami nyeri otot, dan 54,55% responden mengalami demam pada ≤ 24 jam, sedangkan sakit kepala 60,87% responden mengalami pada ≥ 24 jam. Tidak ada perbedaan KIPI vaksinasi Covid-19 menurut jenis kelamin (p value : 0,549), usia (p value : 0,675), dan riwayat terkena Covid-19 (p value : 0,093).

Kesimpulan dan Saran: KIPI pasca vaksinasi Covid-19 termasuk kategori ringan namun upaya pemantauan pasca vaksinasi tetap harus dilakukan.

Kata Kunci: vaksinasi, Covid-19, *booster*, KIPI

PENDAHULUAN

Vaksinasi Covid-19 merupakan salah satu upaya percepatan penanggulangan pandemi Covid-19 yang diterapkan di Indonesia. Pada Bulan Oktober 2020, pemerintah menerbitkan Perpres R.I. Nomor 99 Tahun 2020 tentang pengadaan dan pelaksanaan vaksin dalam rangka penanggulangan pandemi Covid-19¹. Kebijakan vaksinasi Covid-19 tersebut merupakan kebijakan pemerintah yang bersifat *top-down*. Pelaksanaan vaksinasi Covid-19 bertujuan untuk mengurangi transmisi/penularan Covid-19, menurunkan angka kesakitan dan kematian akibat Covid-19, mencapai kekebalan kelompok di masyarakat (*herd immunity*) untuk melindungi masyarakat dari Covid-19. Dalam pelaksanaan program vaksinasi Covid-19 di Indonesia, pemerintah mengupayakan ketersediaan vaksin yang sudah dipastikan keamanan dan efektivitas melalui kerja sama dengan GAVI dan WHO. Sepuluh jenis vaksin Covid-19 yang telah mendapat izin penggunaan dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dan digunakan di Indonesia yaitu Sinovac, AstraZeneca, Sinopharm, Moderna, Pfizer, Novavax, Sputnik-V, Janssen, Convidencia, dan Zifivax. Masing-masing vaksin ini memiliki mekanisme pemberian tersendiri baik dari jumlah dosis, interval pemberian, hingga platform vaksin yang berbeda-beda, yakni inactivated virus, berbasis RNA, viral-vector, dan sub-unit protein². Vaksin Covid-19 yang diproduksi oleh Sinovac merupakan vaksin yang pertama digunakan di Indonesia.

Dalam pelaksanaan vaksinasi Covid-19 Kemenkes R.I. menetapkan kriteria dan prioritas penerima vaksin¹. Kelompok prioritas penerima Vaksin Covid-19 adalah tenaga kesehatan, asisten tenaga kesehatan, dan tenaga penunjang yang bekerja pada fasilitas pelayanan kesehatan; masyarakat lanjut usia dan tenaga/petugas pelayanan public, masyarakat rentan dari aspek geospasial, sosial, dan ekonomi; dan masyarakat lainnya³. Dalam upaya pengendalian pandemic Covid-19, BBTCLPP Yogyakarta merupakan unit pelaksana teknis dari Ditjen P2P Kemenkes R.I., yang berperan penting dalam pemeriksaan spesimen Covid-19 (*testing*) dan penelusuran kontak (*tracing*). Sebagai institusi dengan tenaga kesehatan yang banyak bersinggungan dengan agen infeksi dan kasus suspek, tentu risiko paparan Covid-19 sangat besar pada tenaga kesehatan di BBTCLPP Yogyakarta.

Vaksinasi Covid-19 dosis lengkap (dosis 1 dan 2) dan lanjutan (*booster*) diharapkan mampu mengurangi risiko rawat inap dan kematian. Vaksinasi *booster* dapat meningkatkan imunitas hingga dua kali lipat dibanding vaksinasi dosis kedua. Sejak awal Tahun 2021, pegawai BBTCLPP Yogyakarta mulai melakukan vaksinasi Covid-19 dosis 1 dan 2. Pada Bulan Agustus dan Oktober 2021, dilakukan pemberian vaksinasi lanjutan (*booster*) dosis ke-3 menggunakan vaksinasi dari Moderna.

Kejadian Ikutan Pasca Vaksinasi (KIPI) Covid-19 adalah kejadian medik yang diduga berhubungan dengan vaksinasi COVID-19. KIPI dapat berupa reaksi vaksin, reaksi suntikan, efek farmakologis, kesalahan prosedur, keinsidentalitas atau hubungan kausal yang tidak dapat

ditentukan. KIPI serius adalah kejadian medis setelah imunisasi yang tak diinginkan yang menyebabkan rawat inap atau perpanjangan rawat inap, kecacatan yang menetap atau signifikan dan kematian, serta menimbulkan keresahan di masyarakat. Penemuan kasus KIPI merupakan kegiatan penemuan kasus KIPI atau diduga kasus baik yang dilaporkan orangtua/pasien, masyarakat ataupun petugas kesehatan. Pemantauan KIPI merupakan suatu kegiatan yang terdiri dari penemuan, pelacakan, analisis kejadian, tindak lanjut, pelaporan dan evaluasi. Tujuan utama pemantauan KIPI adalah untuk mendeteksi dini, merespons KIPI dengan cepat dan tepat, mengurangi dampak negatif imunisasi terhadap kesehatan individu dan terhadap imunisasi. Dengan dilakukan pemantauan KIPI dapat menyediakan informasi KIPI secara lengkap agar dapat cepat dinilai dan dianalisis untuk mengidentifikasi dan merespons suatu masalah⁴. Bila terjadi Kejadian Ikutan Pasca Vaksinasi Covid-19 pada seseorang yang mendapatkan vaksinasi Covid-19, fasilitas pelayanan kesehatan atau dinas kesehatan melakukan pencatatan dan pelaporan serta investigasi sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan³. KIPI atau reaksi yang muncul setelah vaksinasi Covid-19 lebih ringan dibandingkan terkena atau komplikasi yang disebabkan oleh virus Covid-19, antara lain nyeri pada lengan di tempat suntikan, sakit kepala, nyeri otot, nyeri sendi, menggigil, mual atau muntah, rasa lelah, dan demam (ditandai dengan suhu di atas 37,8° C)⁵. Dalam hal terjadi Kejadian Ikutan Pasca Vaksinasi Covid-19 pada seseorang yang mendapatkan vaksinasi Covid-19, fasilitas pelayanan kesehatan atau dinas kesehatan melakukan pencatatan dan pelaporan serta investigasi sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan³.

Menurut Syukriah, faktor yang mempengaruhi KIPI antara lain usia, jenis kelamin, jenis vaksin, penyakit komorbid, riwayat pernah terinfeksi Covid-19, dan riwayat perjalanan⁶. Usia merupakan salah satu sifat atau karakteristik yang cukup penting dalam studi epidemiologi karena usia berhubungan erat dengan kerentanan, keterpaparan dan frekuensi kejadian penyakit serta menentukan besar risiko kejadian tertentu⁷. Penyebab potensial mengapa orang yang berusia lebih muda lebih sering mengalami KIPI adalah sistem kekebalan. Vaksin memicu respons oleh sistem kekebalan, yang dapat menyebabkan efek samping. Orang yang lebih muda umumnya memiliki sistem kekebalan yang lebih kuat, yang berarti respons kekebalan yang lebih kuat terhadap vaksin dan tingkat efek samping yang lebih tinggi⁸. Wanita lebih sering mengalami KIPI seperti demam, rasa sakit dan peradangan setelah vaksin). Proses biologis yang membedakan respon vaksin antara laki-laki dan perempuan melibatkan banyak faktor, walaupun penyebab utamanya belum diketahui secara pasti namun diduga faktor imunitas, hormonal, genetik dan mikroba turut berperan. Selain itu Wanita memiliki kecenderungan mengalami reaksi vasovagal sebagai respon fisiologi sehingga ambang nyeri lebih tinggi⁹. Pada orang dengan infeksi SARSCoV2 dan kemudian diberikan vaksin maka akan menghadapi patogen yang sama, respon ini akan muncul lebih

cepat dan lebih kuat, dikarenakan sistem imun sudah siap untuk mengenali dan merespons patogen. Hal ini menyebabkan individu yang telah pulih dari COVID 19 memiliki kemungkinan mengalami reaksi imun yang lebih ringan¹⁰.

Risiko KIPI selalu ada pada setiap tindakan imunisasi. Ada KIPI yang harus dilaporkan namun ada juga yang tidak perlu dilaporkan. Salah satu contoh KIPI yang harus dilaporkan adalah bila terjadi reaksi anafilaktoid (reaksi akut hipersensitif), *syok anafilaktik*, episode hipotonikhiporesponsif, *toxic shock syndrome* (TSS) yang terjadi dalam 24 jam paska imunisasi. Untuk kasus KIPI dengan reaksi yang ringan, seperti reaksi lokal, demam, dan gejala-gejala sistemis yang dapat sembuh sendiri, tidak perlu dilaporkan. Namun bila terjadi reaksi lokal yang berat (seperti pembengkakan hingga ke sendi yang paling dekat; nyeri; kemerahan pembengkakan lebih dari 3 hari; atau membutuhkan perawatan di rumah sakit), terutama jika ditemukan kasus berkelompok sebaiknya tetap dilaporkan⁴.

METODOLOGI PENELITIAN

Kajian ini menggunakan jenis penelitian kuantitatif dengan desain studi potong lintang. Penelitian dilakukan di Bulan Agustus dan Oktober 2021 kepada seluruh pegawai BBTCLPP Yogyakarta, yaitu sebanyak 163 pegawai yang mendapat vaksinasi Covid-19 lanjutan (*booster*) dengan kriteria telah mendapatkan vaksinasi primer dosis lengkap minimal 6 bulan sebelumnya. Pengumpulan data dilakukan menggunakan instrument berupa kuesioner laporan KIPI yang dibagikan secara online melalui Google Forms. Data kemudian dianalisis secara deskriptif. Uji chisquare dilakukan untuk mengetahui perbedaan kejadian KIPI pasca vaksinasi Covid-19 menurut jenis kelamin, umur, dan riwayat terinfeksi Covid-19. Analisis dilakukan menggunakan software Stata 17 dengan level signifikansi sebesar $\alpha = 0,05$.

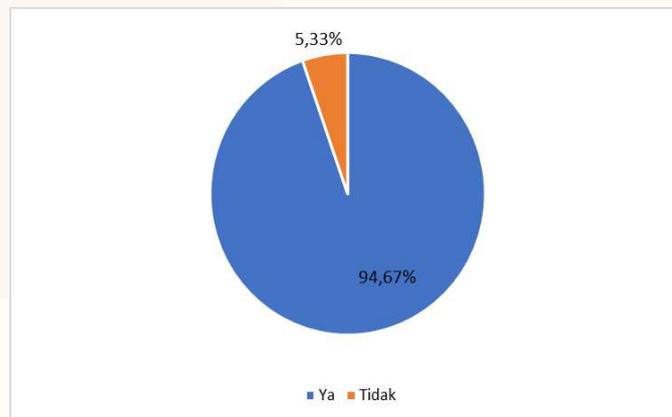
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 163 pegawai BBTCLPP Yogyakarta yang melakukan vaksinasi Covid-19 lanjutan (*booster*) hanya 75 pegawai (46,01%) yang mengisi kuesioner. Dari 75 responden ini, 60% berumur 15-44 tahun, 64% berjenis kelamin wanita, 96% menyatakan sehat pada saat dilakukan vaksinasi Covid-19, dan 60% tidak memiliki riwayat terinfeksi Covid-19.

Tabel 1. Karakteristik Responden

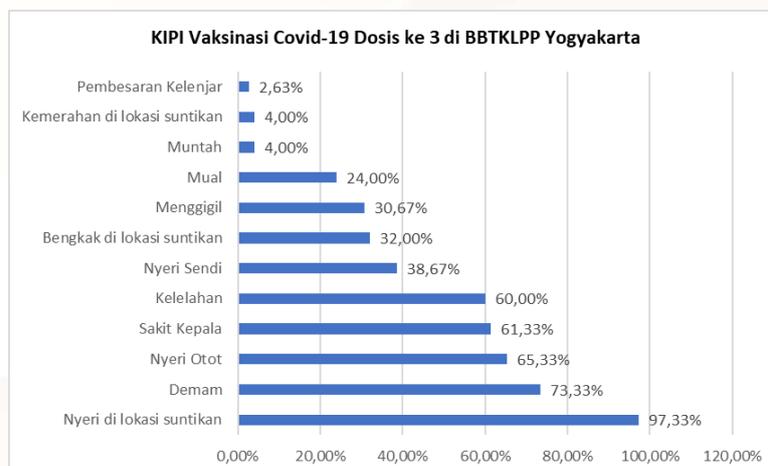
Variabel	Kategori	Frekuensi	%
Umur	15-44 tahun	45	60
	45-59 tahun	30	40
Jenis Kelamin	Pria	27	36
	Wanita	48	64
Kondisi Saat Vaksin	Sakit	3	4
	Sehat	72	96
Riwayat Terinfeksi Covid-19	Ya	30	40
	Tidak	45	60

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 94,67% responden menyatakan mengalami reaksi KIPI.



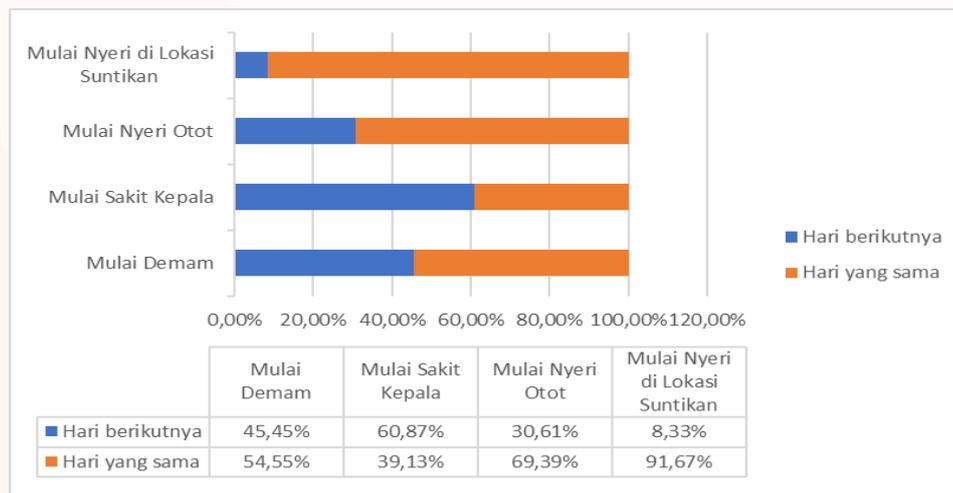
Gambar 1. Kejadian KIPI pada Vaksinasi Covid-19 *Booster* di BBTKLPP Yogyakarta Tahun 2021

Sebanyak 93,33% responden mengalami > 1 macam reaksi. Adapun macam-macam reaksi yang muncul setelah vaksinasi Covid-19 yang dialami responden:



Gambar 2. Reaksi Yang Muncul/KIPI pada Vaksinasi Covid-19 *Booster* di BBTKLPP Yogyakarta Tahun 2021

Berdasarkan Gambar 2, ada empat reaksi yang paling banyak muncul pasca vaksinasi Covid-19 booster yaitu nyeri di lokasi suntikan (97,33%), demam (73,33%), nyeri otot (65,33%), dan sakit kepala (61,33%).



Gambar 3. Waktu Terjadinya Reaksi Yang Muncul/KIPI pada Vaksinasi Covid-19 Booster di BBTKLPP Yogyakarta Tahun 2021

Gambar 3 memaparkan bahwa 91,69% responden mengalami nyeri di lokasi suntikan, 69,39% responden mengalami nyeri otot, dan 54,55% responden mengalami demam pada hari yang sama dilaksanakan vaksinasi (≤ 24 jam). Sedangkan untuk sakit kepala 60,87% responden menyatakan gejala muncul pada hari kedua setelah vaksinasi booster (≥ 24 jam). Nyeri di lokasi suntikan yang dialami mayoritas responden di BBTKLPP Yogyakarta sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan pada tenaga kesehatan di Kota Samarinda yang telah mendapatkan vaksinasi Covid-19 booster dengan vaksin Moderna. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa KIPI terbanyak yang dialami responden adalah nyeri di lokasi suntikan (85,7%), dimana mayoritas responden mengalami nyeri berat dengan skala nyeri 7 (22,9%)¹¹. Pada penelitian KIPI di Turki, efek samping yang paling umum dialami setelah vaksinasi Covid-19 dengan berbagai varian vaksin adalah nyeri di tempat suntikan (75,19%).⁽¹²⁾ Reaksi demam, nyeri otot, dan sakit kepala yang ditemukan pada penelitian ini juga ditemukan pada penelitian mengenai KIPI vaksinasi Covid-19 di Samarinda dan Vietnam^{5,12}.

Vaksin COVID-19 Moderna adalah sebuah vaksin berbasis RNA duta (messenger RNA/mRNA) untuk COVID-19. Sel inang menerima instruksi dari mRNA untuk memproduksi protein S-antigen unik SARS-CoV-2, sehingga tubuh dapat menghasilkan respons kekebalan dan menyimpan informasi itu di dalam sel imun memori. Vaksin ini direkomendasikan untuk usia > 18 tahun. Kejadian ikutan yang sering terjadi antara lain pusing, mual, muntah, nyeri otot, nyeri sendi dan kaku, nyeri di daerah suntikan, kelelahan, meriang, demam, dan limfadenopati. Kejadian ikutan ini umumnya ringan hingga sedang dan berlangsung

singkat¹³. Hasil penelitian di Saudi Arabia menunjukkan bahwa vaksin Moderna dan Oxford–AstraZeneca (ChAdOx1) lebih banyak menimbulkan dampak buruk dibandingkan Pfizer–BioNTech¹⁴.

Pada penelitian ini dari hasil uji chi square diperoleh hasil tidak ada perbedaan kejadian KIPI vaksinasi Covid-19 menurut jenis kelamin ($p = 0,549$), umur ($p = 0,675$), dan riwayat terinfeksi Covid-19 ($p = 0,093$).

Tabel 2. Hasil Uji Chi Square

MR	Kategori Umur		Total
	15-44 th	45-59 th	
Ya	43	28	71
Tidak	2	2	4
Total	45	30	75

Pearson chi2(1) = 0.1761 Pr = 0.675

MR	JK		Total
	Pria	Wanita	
Ya	25	46	71
Tidak	2	2	4
Total	27	48	75

Pearson chi2(1) = 0.3594 Pr = 0.549

MR	RC19		Total
	Ya	Tidak	
Ya	30	41	71
Tidak	0	4	4
Total	30	45	75

Pearson chi2(1) = 2.8169 Pr = 0.093

Berbeda dengan hasil temuan riset mengenai KIPI pada vaksinasi Covid-19 dengan berbagai macam vaksin Covid-19 di Arab Saudi menunjukkan bahwa perempuan mengalami lebih banyak efek buruk setelah vaksinasi dibandingkan laki-laki¹⁴. Pada penelitian yang dilakukan oleh Syukriah mengenai faktor yang mempengaruhi KIPI Vaksin COVID 19 di Kabupaten Kutai Kartanegara, menunjukkan bahwa umur, jenis kelamin, jenis vaksin, penyakit penyerta, riwayat COVID 19, dan riwayat perjalanan merupakan faktor yang mempengaruhi KIPI vaksinasi Covid-19, dan umur merupakan faktor dominan⁶. Pada penelitian ini, untuk faktor jenis vaksin, komorbid penyakit, dan riwayat perjalanan tidak dilakukan pengujian karena tidak tersedianya data tersebut.

Tindakan yang telah dilakukan untuk meringankan reaksi yang muncul pasca vaksinasi Covid-19 pada pegawai BBTCLPP Yogyakarta yaitu dengan memberikan resep obat anti demam dan analgesik serta edukasi konsumsi air minum dan istirahat yang cukup. Selain itu juga dilakukan pemantauan kepada pegawai untuk mengetahui apakah ada reaksi lokal

yang berat, peningkatan frekuensi reaksi local atau reaksi local pada kelompok pegawai tertentu yang perlu dilaporkan dan mendapat perawatan tindak lanjut.

KETERBATASAN STUDI

Beberapa keterbatasan untuk lebih diperhatikan bagi peneliti-peneliti yang akan datang agar penelitian sejenis lebih sempurna antara lain penelitian ini hanya terbatas pada pegawai BBTKLPP Yogyakarta dan tidak semua pegawai yang menerima vaksin *booster* Covid-19 mengisi kuesioner KIPI yang dikirimkan, hal ini tentunya kurang menggambarkan keadaan yang sesungguhnya. Selain itu variable data yang dikumpulkan pada kuesioner KIPI belum lengkap dan detail seperti jenis vaksin 1 dan 2, durasi KIPI, data komorbid penyakit, dan riwayat perjalanan sehingga banyak faktor KIPI yang belum tergali lebih dalam dan dapat dianalisis lebih lanjut.

KESIMPULAN DAN SARAN

Reaksi yang muncul paska vaksinasi Covid-19 pada penelitian ini termasuk reaksi yang ringan yaitu reaksi lokal berupa nyeri di lokasi suntikan, demam, nyeri otot dan sakit kepala yang merupakan gejala-gejala sistemis yang dapat sembuh sendiri sehingga tidak perlu dilaporkan namun upaya pemantauan paska vaksinasi tetap harus dilakukan.

Pada pelaksanaan pemantauan kesehatan pegawai data yang dihimpun lebih lengkap misalnya data jenis vaksin Covid-19 yang diterima pegawai pada vaksinasi 1, 2, dan *booster*, dan data komorbid penyakit sehingga dapat dilakukan analisis lengkap dan informasi yang dihasilkan lebih mendalam.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pemerintah R.I. Peraturan Presiden R.I. Nomor 99 Tahun 2020 Tentang Pengadaan Vaksin Dalam Rangka Penanggulangan Pandemi Corona Virus Disease 2019 (Covid-19). 2020.
2. Satuan Tugas Penanganan COVID-19. TENTANG VAKSINASI COVID-19 [Internet]. 2021. Available from: <https://covid19.go.id/tentang-vaksin-covid19> .
3. Kemenkes R.I. Peraturan Menteri Kesehatan R.I. Nomor 10 Tahun 2021 Tentang Pelaksanaan Vaksinasi Dalam Rangka Penanggulangan Pandemi Corona Virus Disease 2019 (Covid-19). 2021.
4. Kementerian Kesehatan R.I., GAVI. Buku Ajar Imunisasi. Cetakan II, September 2015. Pusdiknakes; 2014.
5. Satuan Tugas Penanganan COVID-19. KIPI [Internet]. 2021. Available from: <https://covid19.go.id/artikel/2022/02/10/apa-itu-kipi-cari-tahu-jawabannya-di-kipicovid19goid>

6. Syukriah. Faktor Faktor Yang Mempengaruhi Kejadian Ikutan Pasca Imunisasi (KIPI) Vaksin Covid 19 Pada Masyarakat di Kabupaten Kutai Kartanegara. [Semarang]: Diponegoro; 2023.
7. Suprpto S, Linggi EB, Arda D. Personality Characteristics of Nursing Students with Stress Perception in Clinical Practice in the Era Covid-19 Pandemic. 2021.
8. Patel C, Brotherton JM, Pillsbury A, Jayasinghe S, Donovan B, Macartney K, et al. The impact of 10 years of human papillomavirus (HPV) vaccination in Australia: what additional disease burden will a nonavalent vaccine prevent? *Eurosurveillance* [Internet]. 2018 Oct 11 [cited 2024 Jan 15];23(41). Available from: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.41.1700737>
9. Hafizzanovian. Desi. Apriansyah. Peluang terjadinya immunization stressrelated response (isrr) selama program vaksinasi covid19. *J Kedokt Dan Kesehat Publ Ilm Fak Kedokt* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jan 16]; Available from: <https://ejournal.unsri.ac.id/index.php/jkk/article/view/13807>
10. Cervia C, Nilsson J, Zurbuchen Y, Valaperti A, Schreiner J, Wolfensberger A, et al. Systemic and mucosal antibody responses specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19. *J Allergy Clin Immunol*. 2021 Feb; 147(2):545-557.e9.
11. Pratama ARL, Magglin C, Jufrie H, Arviana N, Fatimah N, Nuryanto MK, et al. Karakteristik Kejadian Ikutan Pasca Imunisasi Moderna Pada Tenaga Kesehatan Di Samarinda. *J Kedokt Mulawarman*. 9 Juni 2022.
12. Hung PV, Nguyen TD, Ha LT, Toi PL, Tram TH. Common Adverse Events from Mixing COVID-19 Vaccine Booster in Hanoi, Vietnam. *Vaccines*. 2023 Jun 13;11(6):1097.
13. WHO. Vaksin COVID-19 Penjelasan. Vaksin COVID-19 Moderna (mRNA-1273). 2021.
14. Aldali J, Meo SA, Al-Khlaiwi T. Adverse Effects of Pfizer (BioNTech), Oxford AstraZeneca (ChAdOx1 CoV-19), and Moderna COVID-19 Vaccines among the Adult Population in Saudi Arabia: A Cross-Sectional Study. *Vaccines*. 2023 Jan 20;11(2):231.

**SURVEILANS RESISTENSI OBAT KUSTA
DI KOTA PEKALONGAN DAN KABUPATEN BREBES PROVINSI JAWA TENGAH
TAHUN 2022**

Yohanna Gita Chandra, Dwi Amalia, Ratna Wijayanti, Heni Amikawati

ABSTRAK

Latar Belakang: Pengobatan kusta yang memakan waktu lama dan terdiri atas banyak regimen obat menyebabkan kepatuhan minum obat menjadi tantangan keberhasilan pengobatan, dan berpotensi menimbulkan resistensi. Untuk mencegah resistensi meluas, perlu dilakukan deteksi dini dan surveilans resistensi obat anti kusta di daerah endemis, antara lain di Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes.

Tujuan: Mengetahui status kerentanan isolat *Mycobacterium leprae* terhadap obat anti kusta MDT (Rifampicin, Dapsone dan Ofloxacin) pada penderita kusta tipe MB.

Metode: Populasi survei adalah kusta MB (2021 - Maret 2022) di 13 (Kota Pekalongan) dan 16 (Kabupaten Brebes) puskesmas. Spesimen kerokan jaringan diperiksa mikroskopis, jika hasil BTA positif, diperiksa end-point PCR. Kemudian dilakukan sekuensing DNA dengan gen target yang diperoleh, dianalisa apakah terdapat mutasi dibandingkan dengan sekuens wild-type bakteri *Mycobacterium leprae*.

Hasil: Dari 25 (Kota Pekalongan) dan 99 (Kabupaten Brebes) spesimen kerokan jaringan pasien kusta, didapatkan 5 dan 15 spesimen menunjukkan hasil BTA positif. Pemeriksaan end-point PCR terhadap 20 spesimen tersebut mendapatkan amplicon gen *folP1* dari satu pasien Kota Pekalongan dan dua pasien Kabupaten Brebes, serta amplicon gen *rpoB* dari satu pasien Kota Pekalongan, kemudian dilanjutkan dengan sekuensing.

Kesimpulan: Hasil sekuens isolat *Mycobacterium leprae* dari satu pasien Kota Pekalongan tidak menunjukkan adanya mutasi pada gen *folP1* dan *rpoB* (masih sensitif dengan dapson dan rifampisin), isolat dari dua pasien di Kabupaten Brebes tidak menunjukkan mutasi gen *folP1* (masih sensitif terhadap dapson).

Rekomendasi: Perlu penguatan surveilans kusta dengan mengupayakan pemeriksaan mikroskopis sebagai dasar diagnosis kusta dan evaluasi terapi, sehingga dibutuhkan penyegaran pemeriksaan mikroskopis bagi analis laboratorium. Perlu dilakukan surveilans resistensi obat kusta berkelanjutan untuk deteksi dini resistensi obat kusta di kedua daerah dan daerah lain dengan kasus kusta yang tinggi.

Kata Kunci: surveilans resistensi obat anti kusta, Kota Pekalongan, Kabupaten Brebes.

PENDAHULUAN

Kusta adalah penyakit infeksi kronis yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium leprae*, yang menyerang saluran pernafasan, saraf tepi, dan kulit. Penyakit ini sering terjadi di masyarakat dengan status ekonomi rendah dan seringkali kurang mendapat perhatian, sehingga termasuk dalam kategori penyakit yang terabaikan (*neglected disease*). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menargetkan kusta dapat dieliminasi di semua provinsi, dengan indikator prevalensi kusta di provinsi < 1 per 10.000 penduduk. Hasil evaluasi nasional tahun 2018 menunjukkan masih ada 9 (26,5%) dari 34 provinsi di Indonesia yang belum mencapai eliminasi. Strategi program dalam mencapai target eliminasi kusta secara nasional antara lain dengan cara penemuan dini kasus kusta tanpa cacat yang diikuti dengan pengobatan hingga selesai.

Berdasarkan Buku Saku Kesehatan Triwulan 3 Provinsi Jawa Tengah Tahun 2021, ditemukan 13 kasus baru kusta di Kota Pekalongan dengan angka penemuan kasus baru (CDR) kusta sebesar 4,2 per 100.000 penduduk, serta ditemukan 227 kasus baru kusta di Kabupaten Brebes dengan angka penemuan kasus baru (CDR) kusta sebesar 13,2 per 100.000 penduduk. Pengobatan kusta yang memakan waktu cukup lama (6 – 9 bulan pada penderita tipe PB dan 12 – 18 bulan pada tipe MB) dan terdiri atas beberapa regimen obat (*multi drugs therapy/MDT*) menyebabkan kepatuhan dalam minum obat seringkali menjadi masalah dalam keberhasilan pengobatan, dan berpotensi menimbulkan masalah resistensi yang dapat menjadi kendala dalam pencapaian target eliminasi kusta. Untuk mencegah terjadinya resistensi secara meluas, maka di kabupaten/kota endemis perlu dilakukan deteksi dini dan surveilans resistensi obat anti kusta MDT.

Kegiatan surveilans resistensi obat kusta bertujuan untuk mendapatkan informasi status kerentanan isolat *Mycobacterium leprae* terhadap obat anti kusta MDT (Rifampicin, Dapsone dan Ofloxacin) pada penderita kusta tipe MB. Deteksi resistensi terhadap obat kusta dilakukan dengan mengumpulkan spesimen kerokan jaringan kulit yang masih aktif untuk diperiksa dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) dan dilakukan sekuens terhadap gen target dari *Mycobacterium leprae* yang diperoleh, untuk selanjutnya dibandingkan dengan sekuens *wild-type* dari bakteri tersebut. Kegiatan ini dilaksanakan pada tahun 2022 di Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes Provinsi Jawa Tengah.

METODE

Spesimen penderita kusta multibasiler (MB) pada tahun 2021 hingga Maret 2022 dikumpulkan dari 13 Puskesmas di Kota Pekalongan dan 16 puskesmas dari Kabupaten Brebes. Pengumpulan dan pemeriksaan spesimen secara mikroskopis di Kota Pekalongan dilaksanakan pada tanggal 7 - 18 Maret 2022, sementara di Kabupaten Brebes pada tanggal 21 April - 22 Mei 2022. Spesimen yang dikumpulkan untuk pemeriksaan mikroskopis dan

pemeriksaan molekular adalah kerokan kulit yang diambil dari dua atau tiga tempat antara lain di cuping telinga kanan dan kiri atau di lesi atau kelainan kulit yang masih aktif. Pengambilan spesimen dilakukan oleh petugas laboratorium puskesmas atau laboratorium kesehatan daerah (labkesda) sesuai dengan pedoman yang telah diberikan oleh petugas BBTCLPP Yogyakarta dalam bimbingan teknis kepada petugas daerah.

Spesimen untuk pemeriksaan mikroskopis yang dikumpulkan dipreparasi, difiksasi, dan dilakukan pengecatan pada gelas obyek untuk kemudian dibaca di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x. Indeks bakteri (IB) dihitung dan hasil ditunjukkan dengan negatif dan positif 1 hingga positif 6, seperti menurut Ridley¹. Sementara itu, spesimen yang sudah dipisahkan untuk pemeriksaan molekular disimpan di dalam *freezer* yang ada di laboratorium puskesmas atau labkesda di masing-masing kabupaten/kota. Spesimen kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Klinis BBTCLPP Yogyakarta oleh petugas BBTCLPP Yogyakarta. Pada saat transportasi, spesimen disimpan dalam *coolbox* yang berisi *icepack* dengan suhu 2-8°C. Transportasi spesimen dari Kota Pekalongan ke BBTCLPP Yogyakarta dilakukan pada tanggal 22 Maret 2022, sementara dari Kabupaten Brebes pada tanggal 24 Mei 2022.

Pengujian spesimen kerokan jaringan kulit jaringan untuk resistensi obat kusta dengan PCR sebaiknya dilakukan pada spesimen dengan indeks bakteri (IB) $\geq +2$ ². Dalam survei ini, pengujian dengan *end-point* PCR dilakukan pada semua spesimen dengan BTA positif, baik dengan IB +1 atau IB $\geq +2$. Dalam proses pengujian molekular, dilakukan ekstraksi DNA, amplifikasi DNA pada gen *gyrA*, *rpoB*, dan gen *folP1*, dan visualisasi amplicon gen *gyrA*, *rpoB*, dan gen *folP1*. Amplicon gen target kemudian dikirimkan ke laboratorium rujukan (Apical Scientific Laboratory) melalui PT. Genetika Science Indonesia untuk deteksi keberadaan mutasi gen dengan metode *DNA sequencing/capillary electrophoresis*.

Data jumlah dan spesimen positif *M. leprae* berdasarkan pemeriksaan mikroskopis dan berdasarkan indeks bakteri (IB), data jumlah dan spesimen yang dapat diampifikasi DNA-nya untuk gen target *gyrA*, *folP1*, dan *rpoB*, diinput, diolah, dan dianalisis menggunakan program Excel 2013. Data sekuens spesimen DNA dengan gen target *gyrA*, *folP1*, dan *rpoB* diolah menggunakan aplikasi Mega dan Geneious untuk mengetahui keberadaan mutasi nukleotida pada tiga gen target tersebut. Hasil sekuens gen *folP1* dibandingkan dengan urutan nukleotida tipe *wild-type* dari *Mycobacterium leprae* pada urutan 157-159 dan 163-165 (pada regio penentu resistensi obat kusta). Hasil sekuens gen *rpoB* dibandingkan dengan urutan nukleotida tipe *wild-type* dari *Mycobacterium leprae* pada urutan 1312-1314, 1321-1323, 1351-1353, 1366-1368, dan 1372-1374 (pada regio penentu resistensi obat kusta). Selanjutnya, urutan nukleotida hasil sekuens amplicon gen *folP1* dikonversikan ke sekuens asam amino, lalu dibandingkan dengan urutan asam amino bakteri lepra tipe *wild-type* pada urutan 53 dan 55, sedangkan sekuens asam amino dari gen *rpoB* dibandingkan

dengan urutan asam amino bakteri lepra tipe *wild-type* pada urutan 438, 441, 451, 456, dan 458.

HASIL

Sejumlah lima dari 25 spesimen dari Kota Pekalongan dan 15 dari 99 spesimen dari Kabupaten Brebes menunjukkan hasil bakteri tahan asam (BTA) positif, berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis oleh petugas puskesmas/labkesda tingkat kabupaten. Dari 20 spesimen yang diuji dengan PCR, didapatkan tiga spesimen (satu spesimen dari Kota Pekalongan dan dua spesimen dari Kabupaten Brebes) positif pada gen *folP1* (Tabel 1 dan Tabel 2), serta satu spesimen dari Kota Pekalongan tersebut positif pada gen *rpoB* (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah Pasien Kusta yang Diambil Spesimennya dengan Hasil BTA Positif dan PCR Positif per Wilayah Puskesmas di Kota Pekalongan Provinsi Jawa Tengah Tahun 2022

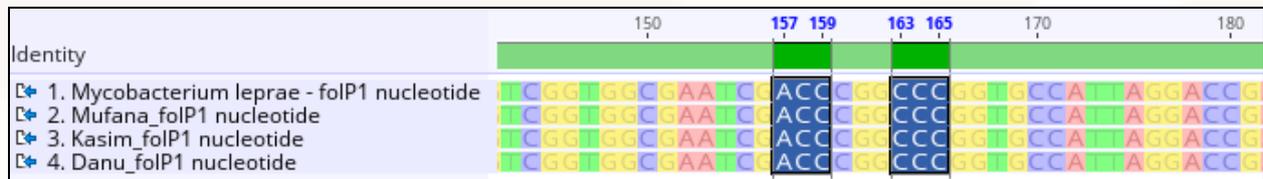
No	Puskesmas	Pasien Diambil Spesimen	Pasien BTA (+)		Pasien PCR (+)		
			IB +1	IB \geq +2	Gen <i>gyrA</i>	Gen <i>folP1</i>	Gen <i>rpoB</i>
1	Bendan	3	-	1	-	1	1
2	Buaran	2	-	-	-	-	-
3	Sokorejo	4	-	-	-	-	-
4	Dukuh	4	1	-	-	-	-
5	Tondano	2	-	-	-	-	-
6	Pekalongan Selatan	1	-	-	-	-	-
7	Kusuma Bangsa	1	-	-	-	-	-
8	Tirto	1	1	-	-	-	-
9	Krapyak Kidul	1	-	1	-	-	-
10	Kramatsari	1	-	-	-	-	-
11	Noyontaan	2	-	-	-	-	-
12	Medono	2	-	-	-	-	-
13	Klego	1	1	-	-	-	-
Jumlah		25	3	2	-	1	1

Tabel 2. Jumlah Pasien Kusta yang Diambil Spesimennya dengan Hasil BTA Positif dan PCR Positif per Wilayah Puskesmas di Kabupaten Brebes Provinsi Jawa Tengah Tahun 2022

No	Puskesmas	Pasien Diambil Spesimen	Pasien BTA (+)		Pasien PCR (+)		
			IB +1	IB \geq +2	Gen <i>gyrA</i>	Gen <i>folP1</i>	Gen <i>rpoB</i>
1	Banjarharjo	15	-	-	-	-	-
2	Sitanggal	9	1	2	-	1	-
3	Jatirokeh	4	-	-	-	-	-
4	Cikeusal Kidul	13	-	1	-	-	-
5	Larangan	12	2	2	-	1	-
6	Losari	8	1	-	-	-	-
7	Kecipir	5	-	1	-	-	-

No	Puskesmas	Pasien Diambil Spesimen	Pasien BTA (+)		Pasien PCR (+)		
			IB +1	IB \geq +2	Gen <i>gyrA</i>	Gen <i>folP1</i>	Gen <i>rpoB</i>
8	Kluwut	4	1	-	-	-	-
9	Tanjung	4	-	1	-	-	-
10	Siwuluh	4	-	-	-	-	-
11	Kersana	4	-	1	-	-	-
12	Cikakak	4	-	-	-	-	-
13	Pemaron	1	-	-	-	-	-
14	Brebes	6	-	2	-	-	-
15	Ketanggungan	4	-	-	-	-	-
16	Kaligangsa	2	-	-	-	-	-
Jumlah		99	5	10	-	2	-

Perbandingan hasil sekuensing amplikon dari tiga spesimen dengan hasil PCR positif gen *folP1* dan satu spesimen dengan hasil PCR positif *rpoB* menunjukkan urutan nukleotida gen *folP1* satu spesimen dari Kota Pekalongan, yaitu (2. Mufana), serta dua spesimen dari Kabupaten Brebes, yaitu (3. Kasim) dan (4. Danu), menunjukkan tidak ada perbedaan dengan tipe *wild-type* bakteri lepra (Gambar 1 dengan *highlight* biru tua).

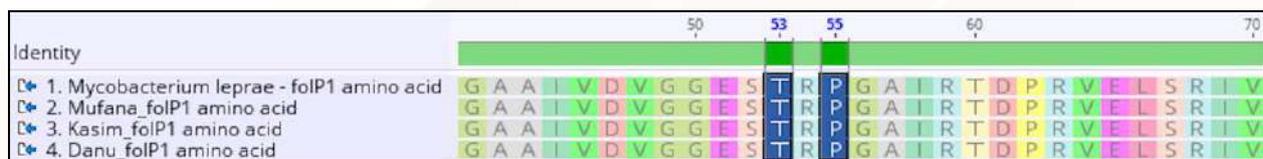


Keterangan:

- (1) *wild-type* bakteri *Mycobacterium leprae*, (2) spesimen dari Kota Pekalongan, (3) dan (4) spesimen dari Kabupaten Brebes.

Gambar 1. Hasil perbandingan sekuens amplikon gen *folP1* satu spesimen dari Kota Pekalongan dan dua spesimen dari Kabupaten Brebes terhadap *wild-type* bakteri *Mycobacterium leprae*

Ketika urutan nukleotida hasil sekuens amplikon gen *folP1* dari satu dan dua spesimen dari Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes dikonversikan ke sekuens asam amino, lalu dibandingkan dengan urutan asam amino bakteri lepra tipe *wild-type* pada urutan 53 dan 55, tidak diperoleh perbedaan (Gambar 2 dengan *highlight* biru tua).



Keterangan:

- (1) *wild-type* bakteri *Mycobacterium leprae*, (2) spesimen dari Kota Pekalongan, (3) dan (4) spesimen dari Kabupaten Brebes.

Gambar 2. Hasil perbandingan asam amino amplikon gen *folP1* satu spesimen dari Kota Pekalongan dan dua spesimen dari Kabupaten Brebes terhadap *wild-type* bakteri *Mycobacterium leprae*

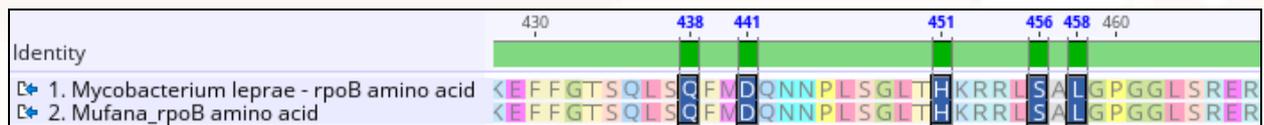
Hasil sekuens pada gen *rpoB* dibandingkan dengan urutan nukleotida gen *rpoB* tipe *wild-type* dari bakteri lepra pada urutan 1312-1314, 1321-1323, 1351-1353, 1366-1368, dan 1372-1374 (pada regio penentu resistensi obat kusta). Hasil perbandingan urutan nukleotida gen *rpoB* satu spesimen dari Kota Pekalongan, yaitu (2. Mufana), menunjukkan tidak ada perbedaan dengan tipe *wild-type* bakteri lepra (Gambar 3 dengan *highlight* biru tua).



Keterangan:
 (1) *wild-type* bakteri *Mycobacterium leprae*, (2) spesimen dari Kota Pekalongan.

Gambar 3. Hasil perbandingan sekuens satu ampikon gen *rpoB* spesimen Kota Pekalongan terhadap *wild-type* bakteri *Mycobacterium leprae*

Selanjutnya, nukleotida hasil sekuens satu ampikon dari Kota Pekalongan tersebut dikonversikan ke sekuens asam amino, lalu dibandingkan dengan asam amino bakteri lepra tipe *wild-type* gen *rpoB* pada urutan 438, 441, 451, 456, dan 458, juga tidak diperoleh perbedaan (Gambar 4 dengan *highlight* biru tua).



Keterangan:
 (1) *wild-type* bakteri *Mycobacterium leprae*, (2) spesimen dari Kota Pekalongan.

Gambar 4. Hasil perbandingan asam amino satu ampikon gen *rpoB* spesimen Kota Pekalongan terhadap *wild-type* bakteri *Mycobacterium leprae*

PEMBAHASAN

Sebanyak tiga dari 25 pasien dalam survei di Kota Pekalongan dan 27 dari 99 pasien di Kabupaten Brebes merupakan pasien dengan *re-treatment*, baik pasien *relaps*/kambuh, mangkir, atau ganti tipe pengobatan. Sebanyak tiga spesimen yang berhasil dilakukan PCR dan disekuens pada gen target *folP1* dan gen *rpoB* dalam laporan ini berasal dari pasien *re-treatment*. Perlu dilakukan pemantauan bagi pasien *re-treatment* apakah terjadi resistensi obat kusta sehingga regimen pengobatannya dapat disesuaikan. Pada tahun 1945, pengobatan penyakit kusta menggunakan diamino diphenyl sulphone (DDS), yang disebut juga dapson, mulai dilakukan. Monoterapi dengan DDS berlangsung terus hingga muncul resistensi DDS primer dan sekunder pada tahun 1970an. Kasus pertama resistensi *M. leprae* terhadap dapson dilaporkan pada tahun 1964. Sebagian besar kasus resisten terhadap dapson adalah kasus kambuh yang telah selesai menjalani pengobatan. Akan tetapi,

diketahui bahwa penyebab utama kambuh adalah penggunaan dapson dosis rendah dan pengobatan yang tidak teratur. Selanjutnya, dicoba monoterapi menggunakan obat bakterisidal, rifampisin. Akan tetapi, terjadi juga resistensi terhadap rifampisin, yang pertama kali dilaporkan pada tahun 1976. Kemudian, dilakukan pendekatan *multi drug therapy* (MDT) seperti kemoterapi tuberkulosis. Obat yang digunakan dalam MDT untuk kusta adalah gabungan antara DDS dengan obat bakterisidal, rifampisin, serta obat anti-bakteri, klofazimin dengan aktivitas anti-inflamasi. Setelah diketahui bahwa kombinasi MDT ini efektif dalam menyembuhkan penyakit kusta, pada tahun 1982, WHO menetapkan pengobatan tersebut untuk eliminasi kusta^{3,4,5}.

Pada kegiatan surveilans resistensi obat kusta ini, dilakukan perbandingan hasil sekuens gen *foIP1* tiga spesimen dari Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes terhadap urutan nukleotida *wild-type* dari bakteri lepra pada urutan 157-159 dan 163-165 (regio penentu resistensi obat kusta pada gen *foIP1*), dengan hasil tidak ditemukan perbedaan antara urutan nukleotida gen *foIP1* tiga spesimen tersebut dengan *wild-type* bakteri lepra. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri lepra pada tiga pasien tersebut masih sensitif terhadap pengobatan dengan dapson.

Setelah urutan nukleotida hasil sekuens tiga amplicon dari Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes dikonversikan ke sekuens asam amino, lalu dibandingkan dengan urutan asam amino bakteri lepra *wild-type* pada urutan 53 dan 55 (regio penentu resistensi obat kusta pada gen *foIP1*), juga tidak diperoleh perbedaan susunan asam amino. Dengan demikian, tidak ada mutasi yang terkait dengan resistensi dapson pada tiga pasien dari Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes tersebut.

Ketika hasil sekuens gen *rpoB* satu spesimen dari Kota Pekalongan dibandingkan dengan urutan nukleotida tipe *wild-type* dari bakteri lepra pada urutan 1312-1314, 1321-1323, 1351-1353, 1366-1368, dan 1372-1374 (regio penentu resistensi obat kusta pada gen *rpoB*), tidak ditemukan perbedaan antara urutan nukleotida gen *rpoB* spesimen dari Kota Pekalongan tersebut dengan *wild-type* bakteri lepra. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri lepra pada pasien tersebut masih sensitif terhadap pengobatan dengan rifampisin. Setelah urutan nukleotida hasil sekuens satu amplicon dari Kota Pekalongan dikonversikan ke sekuens asam amino, lalu dibandingkan dengan urutan asam amino bakteri lepra *wild-type* gen *rpoB* pada urutan 438, 441, 451, 456, dan 458 (regio penentu resistensi obat kusta pada gen *rpoB*), juga tidak diperoleh perbedaan susunan asam amino. Dengan demikian, tidak ada mutasi yang terkait dengan resistensi rifampisin pada pasien dari Kota Pekalongan tersebut. Pada penelitian yang dilakukan oleh Siskawati, diperoleh hasil bahwa resistensi rifampisin terjadi pada satu (3,4%) dari 29 subyek penelitian dalam kelompok kepatuhan pengobatan baik dan delapan (28,6%) dari 28 subyek penelitian dalam kelompok kepatuhan pengobatan buruk⁶. Dalam survei yang dilakukan di Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes

belum dilakukan analisa berdasarkan kepatuhan pengobatan. Sementara itu, satu dari tujuh pasien kusta relaps menunjukkan resisten Rifampicin serta satu pasien resisten terhadap Dapsone dan Clofazimine, dalam laporan resistensi obat kusta di Malaysia tahun 2019. Pada tahun yang sama di Malaysia, sebanyak dua dari 7 pasien MB baru yang dites dengan PCR menunjukkan resisten terhadap Dapsone, serta dua orang resisten terhadap Dapsone dan Rifampicin⁷.

Sejak tahun 1993, telah dilakukan evaluasi terhadap sekuens beberapa gen *M. leprae* untuk mengetahui lebih jauh tentang resistensi obat kusta. Penelitian menemukan adanya mutasi missense dalam beberapa gen spesifik yang diidentifikasi sebagai *drug resistance-determining regions*. Telah dilakukan sekuensing *drug resistance-determining regions* pada gen *M. leprae folP1*, *rpoB*, dan *gyrA*, yang masing-masing terkait dengan resistensi terhadap dapson, rifampisin, dan ofloxacin⁸. Dengan ditemukannya mutasi pada gen spesifik *drug resistance-determining regions* tersebut, resistensi obat kusta dari waktu ke waktu secara global dapat dilakukan, sehingga dapat memberikan informasi bagi pengendalian penyakit kusta.

Saat ini, diagnosis penyakit kusta ditetapkan berdasarkan satu dari tiga tanda kardinal kusta, tidak harus berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium. Karena diagnosis tidak harus berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium, indeks bakteri (IB) dan indeks morfologi (IM) dari kasus kusta baru tidak selalu diketahui, serta sulit untuk mengetahui hasil terapi terhadap bakteri yang menginfeksi pasien. Akurasi diagnostik tanda kardinal kusta mencapai 95%. Berikut ini adalah tiga tanda kardinal kusta^{1,9,10}: 1) Kelainan kulit atau lesi yang khas kusta, misal: hipopigmentasi atau eritema dengan kehilangan sensasi atau mati rasa (anestesi) pada lesi kulit tersebut; 2) Pembesaran saraf tepi dengan gangguan fungsi saraf, dapat berupa: a. Gangguan fungsi sensoris (anestesi), b. Gangguan fungsi motoris (paresis atau paralisis otot), c. Gangguan fungsi otonom (kulit kering atau anhidrosis dan terdapat fisura); 3) Ditemukannya bakteri tahan asam (BTA) pada kerokan jaringan kulit (*slit skin smear*). Pemeriksaan basiloskopi merupakan metode penting untuk diagnosis yang akurat. Bagian tubuh yang diambil sebagai sampel untuk pemeriksaan mikroskopis adalah lesi aktif atau lesi dengan sensitivitas yang berubah, serta lobus telinga dan siku kontralateral. Setelah pengumpulan spesimen, dilakukan pewarnaan Fite atau pewarnaan Ziehl-Neelsen yang dimodifikasi untuk memeriksa basil tahan asam (BTA) dan menghitung skala logaritmik Ridley atau skor indeks bakteri (IB). Terdapat beberapa klasifikasi penyakit kusta, namun yang banyak digunakan adalah klasifikasi menurut WHO dan Ridley-Jopling. Pada tahun 1987, WHO membuat klasifikasi kusta menjadi 2 tipe, yaitu tipe pausibasiler (PB) dengan sedikit atau tidak ditemukan bakteri dan tipe multibasiler (MB) dengan jumlah bakteri yang banyak, untuk kepentingan pengobatan. Pada tahun 1995, WHO mengubah klasifikasi menjadi lebih sederhana berdasarkan hitung lesi kulit dan jumlah saraf perifer yang terkena.

Pengubahan ini dilakukan karena pemeriksaan kerokan jaringan kulit untuk pemeriksaan BTA sering tidak tersedia di lapangan³. Meskipun demikian, bila alat dan sumber daya tersedia, akan lebih baik dilakukan pemeriksaan BTA terhadap spesimen kusta sehingga akan dapat dipantau indeks bakteri (IB) dan indeks morfologi (IM) kasus kusta tersebut. Pemeriksaan bakteri menggunakan mikroskop pada penyakit kusta merupakan hal yang penting dilakukan. Hasil pemeriksaan ini bermanfaat untuk menegaskan diagnosis penyakit kusta, menunjang penentuan klasifikasi atau tipe penyakit kusta, memberi petunjuk potensi penularan dari penderita, serta melakukan evaluasi pengobatan.

Mempertimbangkan bahwa dalam proses PCR tidak diperoleh amplikon dari gen *gyrA* sehingga tidak dapat dilakukan sekuensing pada regio penentu resistensi obat ofloxacin pada gen tersebut, perlu dilakukan evaluasi dan peningkatan terhadap beberapa hal berikut: 1) Pengambilan spesimen kerokan jaringan yang adekuat; 2) Pembuatan sediaan mikroskopis sesuai pedoman; 3) Pembacaan sediaan mikroskopis untuk mengetahui indeks bakteri (IB) dan indeks morfologi (IM); dan 4) Pemilihan spesimen yang dilakukan proses PCR untuk selanjutnya dilakukan proses sekuensing. Dengan peningkatan empat hal tersebut, diharapkan akan diperoleh spesimen dari pasien kusta yang dapat diproses hingga sekuensing untuk mengetahui informasi resistensi obat kusta.

KESIMPULAN

1. Dari 25 spesimen dan 99 spesimen kerokan jaringan pasien kusta yang dikumpulkan di Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes, didapatkan amplikon gen *folP1* dari satu pasien dan dua pasien di Kota Pekalongan dan Kabupaten Brebes, serta amplikon gen *rpoB* dari satu pasien di Kota Pekalongan yang dilanjutkan dengan proses sekuensing.
2. Analisa hasil sekuensing terhadap gen *folP1* dan *rpoB* menunjukkan bahwa isolat *Mycobacterium leprae* yang diperoleh di dua wilayah endemis tersebut tidak menunjukkan adanya mutasi sehingga masih sensitif terhadap pengobatan dengan dapson dan rifampisin.

REKOMENDASI

Beberapa rekomendasi terkait surveilans kusta adalah: 1) Bagi puskesmas: mengupayakan pengambilan spesimen, serta pembuatan sediaan dan pemeriksaan mikroskopis, untuk diagnosa penyakit kusta; 2) Bagi dinas kesehatan: a. Tetap melaksanakan surveilans penyakit kusta, b. Berkoordinasi dengan BBTCLPP Yogyakarta bila ada dugaan resistensi obat kusta; 3) Bagi Tim Kerja *Neglected Tropical Diseases* (Penyakit Tropis Terabaikan) Kemenkes RI: a. Mempertimbangkan kewajiban pemeriksaan mikroskopis untuk diagnosis penyakit kusta di beberapa daerah yang mampu melaksanakan, b. Mempertimbangkan pelaksanaan surveilans resistensi obat kusta di daerah dengan kasus

kusta tinggi; 4) Bagi BBTCLPP Yogyakarta: a. Berkoordinasi dengan dinas kesehatan untuk melaksanakan surveilans resistensi obat kusta, khususnya di daerah dengan kasus kusta tinggi atau dengan dugaan adanya resistensi obat kusta, b. Mengupayakan tersedia anggaran untuk pelaksanaan surveilans resistensi obat kusta.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/Menkes/308/2019 Tentang Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Kusta. 2019.
2. World Health Organization. A guide for surveillance of antimicrobial resistance in leprosy update. ISBN: 978 92 9022 619 2. [Internet]. 2017. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789290225492>
3. Singh I, Sengupta U. Guest Editorial: Drug Resistance in Mycobacterium Leprae in the Context of Zero Leprosy. Indian Dermatol Online J. 2021; 12:791-5. doi: 10.4103/idoj.idoj_599_21.
4. Pettit JH, Rees RJ. Sulphone resistance in leprosy. an experimental and clinical study. Lancet 1964; 2:673–4. doi:10.1016/s0140-6736(64)92482-1.
5. Jacobson RR, Hastings RC. Rifampin-resistant leprosy. Lancet 1976; 2:1304–5. doi:10.1016/s0140- 6736(76)92071- 7.
6. Siskawati Y. Kejadian resistensi rifampisin pada pasien kusta tipe multibasiler berdasarkan kepatuhan pengobatan baik dibandingkan dengan kepatuhan pengobatan buruk : studi biomolekuler terhadap gen rpoB Mycobacterium leprae. Tesis. Universitas Indonesia. [Internet]. 2013. [cited 2022 Dec 12]. Available from: https://lib.ui.ac.id/file?file=pdf/abstrak/id_abstrak-20348928.pdf .
7. World Health Organization. Anti-Microbial Resistance in Leprosy. Report of the virtual consultation. New Delhi, India [Internet]. 14-17 June 2021. [cited 2022 Dec 12]. Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/343106/sea-qlp-7-eng.pdf?sequence=1> .
8. Wang C, Wu Z, Jiang H, Shi Y, Zhang W, Zhang M, Wang H. Global prevalence of resistance to rifampicin in Mycobacterium leprae: A metaanalysis. Journal of Global Antimicrobial Resistance 2022; 31:119-27. doi: 10.1016/j.jgar. 2022.08.021.
9. Chen KH, Lin CY, Su SB, Chen KT. Review Article, Leprosy: A Review of Epidemiology, Clinical Diagnosis, and Management. Journal of Tropical Medicine [Internet]. Volume 2022. [cited 2022 Sept 25]. Available from: <https://doi.org/10.1155/2022/8652062> .
10. Makhakhe L. Leprosy Review. South African Family Practice [Internet]. Oct 29, 2021. [cited 2022 Sept 25]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8603093/pdf/SAFP-63-5311.pdf>

FRAMBUSIA DI INDONESIA

Ratna Wijayanti

PENDAHULUAN

Indonesia, saat ini, menghadapi *double burden of disease* yaitu semakin meningkatnya penyakit tidak menular tapi pada saat yang sama penyakit menular juga masih sangat tinggi. Bahkan Indonesia masih menghadapi penyakit yang sering disebut penyakit tropis terabaikan seperti kusta dan frambusia.

Frambusia dalam bahasa Melayu dikenal dengan sebutan buru, sedangkan dalam bahasa Jawa disebut patek, orang Inggris menyebut dengan penyakit yaw. Pada abad XVI-XVII, penulis Eropa mencatat penyakit frambusia di nusantara. Dalam ranah budaya, tafsir pincangnya kaki tokoh wayang Gareng diduga sebagai simbol penderita frambusia.

Penyakit ini adalah penyakit kulit menular yang dapat berpindah dari orang sakit frambusia kepada orang sehat yang memiliki luka terbuka atau cedera/trauma. Penyakit Frambusia (*yaws*) pertama kali ditemukan oleh Castellani, pada tahun 1905 yang berasal dari bakteri besar (*spirochaeta*) bentuk spiral dan motil dari famili (*spirochaetaceae*) dari ordo *spirochaetales* yang terdiri dari 3 genus yang patogen pada manusia (*treponema*, *borelia* dan *leptospira*).

Sejarah frambusia di Indonesia, dimulai dari lahirnya Raden Kodijat di Muntilan, Magelang pada tanggal 16 September 1890. Raden Kodijat adalah anak ketiga dari pasangan Raden Prawirowidjojo dan Raden Roro Soepiah. Tahun 1905, R. Kodijat mulai menempuh studi di *School tot Opleiding van Indische Artsen* (STOVIA) di Batavia. Pada tahun 1909, Paul Ehrlich (1854-1915), ilmuwan medis pemenang Hadiah Nobel asal Jerman menemukan arsphenamine atau salvarsan yang digunakan untuk mengobati sifilis dan frambusia. Pada 8 Juli 1914, R. Kodijat lulus dari STOVIA dengan menyandang gelar *Inlandsche Arts* (dr. Bumiputra). Tahun 1934, dr. R. Kodijat mulai memberantas frambusia di Keresidenan Kediri secara proaktif, yaitu dengan mendatangi para penderita. Tahun 1937, dr. R. Kodijat menyajikan prasaran 'Framboesia' dalam *Intergovernmental Conference of Far Eastern Countries of Rural Hygiene* (Konferensi Kesehatan Desa Antar-Pemerintah Negara-Negara Timur Jauh) di Bandung, pada tanggal 3-13 Agustus.

Tahun 1949-1964, pemberantasan frambusia dalam wewenang Lembaga Penyelidikan dan Pemberantasan Penyakit Rakyat di eks-Ndalem Joyodipuran, Yogyakarta, yang dikepalai dr. R. Kodijat. Tahun 1950, dr. R. Kodijat membentuk *Treponematoses Control Program* (TPC, Program Pengendalian Trepanematoses) kemudian TCPS (TCP *Simplified*, TCP yang disederhanakan) untuk pemberantasan frambusia. Tahun 1951, dr. R. Kodijat bersama Kenneth R. Hill dan dr. M. Sariadi membagi klasifikasi lesi frambusia ke dalam 16

jenis serta menguraikannya di markas WHO, Jenewa, Swiss. Tahun 1952, WHO membagi lesi frambusia menjadi 9 jenis.

Pada 18 Maret, dr. R. Kodijat diangkat sebagai Ketua Kehormatan dan diberi tanda jasa oleh WHO dalam diskusi panel pemberantasan frambusia. Tahun 1955, WHO menyederhanakan pembagian klasifikasi frambusia menjadi tiga jenis. Pada tanggal 26 Juni 1956, Universitas Indonesia untuk pertama kalinya memberikan *Doctor Honoris Causa* kepada dr. R. Kodijat. Dan pada tahun ini, di Lawang, Malang, Jawa Timur diselenggarakan Simposium Frambusia Nasional Pertama.

Tanggal 20 Desember 1960, Mukhtar Ikatan Dokter Indonesia di Yogyakarta, memberikan penghargaan pada dr. R. Kodijat. Tahun 1960-1966, pemberantasan frambusia terganggu akibat operasi Trikora dan Dwikora, G 30 S tahun 1965, dan keluarnya Indonesia dari keanggotaan PBB, ketika suplai obat dan dukungan dari WHO serta UNICEF berhenti.

Tanggal 31 Agustus 1961, Yayasan Ramon Magsaysay, Filipina, menganugerahkan tanda jasa pada dr. R. Kodijat untuk kesuksesan TCPS yang telah dirintis dan dikembangkan. Tahun 1964-1965, dilakukan Inspeksi Pemberantasan Penyakit Patek yang berkedudukan di Yogya dipimpin dr. Soembaji. Tahun 1965-1967, pelaksanaan Inspeksi Pemberantasan Penyakit Frambusia pindah ke Jakarta. Dokter Soedarsono menjadi inspektornya. Tahun 1967, pemberantasan frambusia berjalan kembali seiring kembalinya Indonesia menjadi anggota PBB, dimana dukungan WHO maupun UNICEF tersedia lagi. Tahun 1967-1969, Dinas Penelitian atau Pengawasan Penyakit Frambusia menjadi nomenklatur terbaru dari lembaga pengentas penyakit menular tersebut.

Tanggal 28 Juli 1968, dr. R. Kodijat berpulang di Rumah Sakit Panti Rapih Yogyakarta dan dimakamkan di Blunyah Kecil. Tahun 1969, Presiden RI memberikan penghargaan secara anumerta kepada R. Kodijat sebagai tokoh dalam bidang Ilmu Pengetahuan, Pendidikan, dan Pengabdian. Tahun 1969-1974, terbentuk Dinas Penyakit Frambusia di bawah Direktorat Jenderal Pencegahan Pemberantasan Penyakit Menular. Tahun 1974-1975, nomenklatur dinas bertambah menjadi Dinas Penyakit Kelamin/Frambusia. Dan pada tahun 1975-1981, dilakukan reposisi struktur organisasi menjadi Sub Direktorat Pemberantasan Penyakit Frambusia dan Kelamin. Pada tahun 1980, terjadi penurunan prevalensi penyakit frambusia menjadi 0,45%.

Pada tahun 2010, penderita frambusia di Indonesia tercatat sebanyak 6.138 kasus. Sebagian besar penderita berada di wilayah Indonesia bagian timur seperti Provinsi NTT, Sulawesi Tenggara, Maluku, Papua, dan Papua Barat. Tahun 2012, WHO menyederhanakan klasifikasi lesi frambusia menjadi dua klasifikasi, yaitu frambusia aktif dan frambusia inaktif.

Pada tahun 2014, frambusia masih menjangkiti 18 dari 34 provinsi di Indonesia, dengan 5 provinsi (dari 18 provinsi) berkategori sangat endemik. Kelima provinsi itu masih sama seperti pada tahun 2010.

Tahun 2017, terbit Permenkes No. 8 tahun 2017 tentang Eradikasi Frambusia dan Kepmenkes No. 496 tahun 2017 tentang penetapan 79 kabupaten/kota endemis frambusia di 18 provinsi, serta terjadi penambahan sebanyak 1.999 kasus baru. Pada tahun 2018, terdapat 355 kasus frambusia yang bertambah di Indonesia¹.

ETIOLOGI

Spirochaeta mempunyai ciri yang sama dengan pallidum, yaitu panjang, langsing "helically coiled", bentuk spiral seperti pembuka botol dan basil gram negatif. Treponema memiliki kulit luar yang disebut glikosaminoglikan, di dalam kulit memiliki peptidoglikan yang berperan mempertahankan integritas struktur organisme². Genus treponema terdiri dari *Treponema pallidum subspecies pallidum* yang menyebabkan sifilis, *Treponema pallidum subspecies pertenue* yang menyebabkan frambusia (yaws/puru/pian), *Treponema pallidum subspecies endemicum* yang menyebabkan sifilis (disebut bejel) dan *Treponema carateum* yang menyebabkan pinta². Masa inkubasi frambusia antara 10-90 hari (rata-rata 21 hari)^{3,4}.

GAMBARAN KLINIS

Perjalanan penyakit frambusia terbagi dalam beberapa stadium perkembangan, yang ditunjukkan dalam perubahan bentuk lesi, yaitu lesi primer, lesi sekunder, dan lesi tersier. Antara lesi primer dan lesi sekunder terdapat periode laten 1 (2-5 tahun). Antara lesi sekunder dengan lesi tersier terdapat periode laten 2 (5-10 tahun).

Pada tahap primer, sekitar 65%-85% lesi primer pada penderita frambusia timbul pada tungkai dan kaki, sebagian yang lain dapat juga timbul di muka. Stadium primer diawali dengan timbulnya papul pada tempat masuknya bakteri. Papul dalam bentuk nodul kecil eritematosa (berwarna kemerahan), tidak nyeri (tidak mengeluh sakit ketika ditekan), kadang gatal. Papul timbul antara 9-90 hari (rata-rata 3 minggu) sejak terinfeksi bakteri frambusia. Papul berkembang menjadi papiloma. Permukaan papiloma menonjol atau sering disebut bertangkai, basah (getah), mudah berdarah, kemerahan dan berbenjol-benjol kecil seperti bunga kol atau raspberry. Getah mengandung banyak bakteri frambusia. Getah dapat mengering di atas papul atau papiloma membentuk keropeng atau krusta yang menutup papiloma. Lesi ini disebut krusta papilomata. Papul dan papiloma dapat pecah menjadi koreng (ulkus). Dasar koreng cukup dalam (sampai lapisan subkutaneus), berbenjol-benjol seperti permukaan buah raspberry (granulasi) yang biasanya terkonsentrasi di tengah-tengah ulkus, dengan tepi ulkus keras. Beberapa papul atau papiloma menjadi satu membentuk gambaran seperti plak dan dapat pecah membentuk ulkus (*chancre of yaws*,

frambesioma). Satelit-satelit papul juga bisa bermunculan di sekitar ulkus. Kadang-kadang pada stadium ini bisa terjadi demam atau sendi-sendi ngilu disertai pembesaran kelenjar getah bening regional (lipat ketiak, leher, lipat paha). Setelah 3-6 bulan sejak timbulnya lesi, semua lesi dapat sembuh sendiri dengan sisa berupa atrofi kulit (kulit menipis dan mengkilat), hipopigmentasi (bercak keputihan seperti panu), atau seperti parut. Keadaan ini disebut stadium laten. Frambusia stadium laten dapat berkembang dan masuk stadium sekunder). Gejala klinis pada stadium primer dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Lesi Frambusia pada Stadium Primer

Tahap sekunder adalah munculnya kembali lesi frambusia baru karena adanya penyebaran bakteri ke dalam peredaran darah dan jaringan getah bening. Lesi ini muncul setelah 2 tahun sejak lesi frambusia primer, terutama di muka, lengan, tungkai dan pantat, dengan bentuk lesi sama dengan stadium primer. Pada stadium ini, getah bening mengalami peradangan, membesar dan sakit. Timbul rasa nyeri sendi (arthralgia) dan lesi yang merupakan gejala tidak spesifik pada stadium sekunder ini. Lesi dapat terjadi di telapak kaki, permukaan kaki mengalami penebalan (hiperkeratosis), pecah-pecah (fisurasi) dan nyeri, sehingga penderita berjalan dengan posisi aneh (terpaksa), ini disebut “*crab yaws*”. Lesi dapat juga mengenai tulang muka, rahang dan tungkai bagian bawah berupa peradangan tulang (osteoperiostitis). Kelainan-kelainan yang terjadi pada stadium ini dapat hilang dengan sendirinya, dan sebagian penderita (10%) masuk ke stadium tersier yang dapat berlangsung dalam periode waktu 5-10 tahun.

Tahap tersier: tulang, sendi dan jaringan yang terserang frambusia dapat mengalami kerusakan (destruktif) menjadi cacat, dan dapat terbentuk gumma, gangosa, gondou, *juxta articular nodes* dan hiperkeratosis pada telapak tangan dan telapak kaki. Gumma adalah benjolan menahun, mengalami perlunakan, ulserasi, destruktif terhadap jaringan di bawahnya yang dapat timbul di kulit maupun tulang dan sendi. Cacat ini mengakibatkan anak-anak tidak mau ke sekolah dan orang dewasa akan sulit mencari pekerjaan, Frambusia

dapat mengakibatkan dampak sosial ekonomi dan masalah kemanusiaan. Gejala klinis pada stadium sekunder dan tersier dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Lesi Frambusia pada Stadium Sekunder dan Tersier

Tahap laten merupakan fase tanpa gejala klinis, tetapi bakteri frambusia masih aktif dan hasil uji serologi positif. Stadium ini terjadi ketika penderita dengan lesi frambusia dapat sembuh tanpa pengobatan. Adanya stadium laten inilah yang akan menyulitkan upaya memutus mata rantai penularan frambusia, karena penderita akan terus menjadi sumber penularan baru tanpa diketahui sumbernya. Bakteri frambusia dapat bertahan sampai 5 tahun dalam tubuh seseorang dan di tengah-tengah masyarakat. Setiap satu kasus klinis frambusia, diperkirakan terdapat lebih dari 2 penderita yang berada pada stadium laten. Oleh karena itu, sejak suatu daerah dinyatakan tidak ditemukan kasus klinis frambusia (setelah dilaksanakan serangkaian upaya memutus rantai penularan frambusia), surveilans harus tetap dilakukan³.

GAMBARAN EPIDEMIOLOGIS

Frambusia terutama menyerang anak-anak yang tinggal di daerah tropis biasanya di daerah pedesaan yang berhawa panas dan lembab. Penyakit ini ditemukan pada anak-anak usia 2-15 tahun, lebih sering terjadi pada anak laki-laki. Prevalensi frambusia secara global menurun drastis setelah dilakukan kampanye pengobatan dengan penisilin secara masal pada tahun 1950-an dan 1960-an sehingga menekan peningkatan kasus frambusia, namun kasus frambusia mulai ditemukan lagi di sebagian besar daerah katulistiwa Afrika Barat dengan penyebaran infeksi tetap berfokus di daerah Amerika Latin, Kepulauan Karibia, India, Thailand, Asia Tenggara, Kepulauan Pasifik Selatan, dan Papua New Guinea. Kasus frambusia selalu berubah sesuai dengan perubahan iklim. Di daerah endemik, prevalensi infeksi frambusia meningkat selama musim hujan. Kasus frambusia di Indonesia pada tahun 1949 meliputi Nangroe Aceh Darussalam, Jambi, Bengkulu, Sumatera Selatan, Jawa (Jawa Timur) dan sebagian besar Wilayah Timur Indonesia yang meliputi Nusa Tenggara, Sulawesi, Maluku dan Papua. Penurunan prevalensi Frambusia di Indonesia secara

bermakna terjadi pada tahun 1985 sampai pada tahun 1995 dengan angka prevalensi frambusia turun drastis dari 22,1 (2210 per 10.000 penduduk) menjadi kurang dari 1 per 10.000 penduduk di daerah kabupaten dan provinsi. Strategi pencapaian target secara nasional Kementerian Kesehatan yaitu jumlah frambusia kurang dari 0,1 kasus per 100.000 penduduk di Wilayah Jawa dan Sumatera, lebih dari 1 kasus per 100.000 penduduk di Wilayah Indonesia Timur (Papua, Maluku, NTT dan Sulawesi). Untuk menjangkau daerah-daerah kantong frambusia yang jumlahnya tersebar di beberapa provinsi dan beberapa kabupaten di Indonesia maka dilakukan survei daerah kantong frambusia yang dimulai tahun 2000. Provinsi yang masih mempunyai banyak kantong frambusia diprioritaskan untuk dilakukan sero survei, yaitu NAD, Jambi, Jawa Timur, Banten, Sulawesi Tenggara dan NTT.

PATOFISIOLOGI

Terdapat infeksi alamiah yang disebabkan oleh *Treponema pallidum* terhadap inang (manusia) ditularkan melalui hubungan seksual dan infeksi lesi langsung pada kulit atau membran selaput lendir pada genitalia. Pada 10-20 kasus, lesi primer merupakan intrarektal, perianal atau oral atau di seluruh anggota tubuh dan dapat menembus membran selaput lendir atau masuk melalui jaringan epidermis yang rusak. *Spirochaeta* secara lokal berkembang biak pada daerah pintu masuk dan beberapa menyebar di dekat nodul getah bening mungkin mencapai aliran darah. Dua hingga 10 minggu setelah infeksi, papul berkembang di daerah infeksi dan memecah-belah membentuk ulser yang bersih dan keras (*chancre*). Inflamasi ditandai dengan limfosit dan plasma sel yang membuat ruang berupa lesi makulopapular merah di seluruh tubuh, termasuk tangan, kaki dan papul yang lembab, pucat (*condylomas*) di daerah anogenital, axila dan mulut. Lesi primer dan sekunder ini sangat infeksius karena mengandung banyak *spirochaeta*. Lesi yang infeksius mungkin akan kambuh dalam waktu 3-5 tahun. Infeksi sifilis tetap subklinis dan pasien akan melewati tahap primer dan sekunder tanpa gejala atau tanda-tanda berkembangnya lesi tersier. Pada pasien dengan infeksi laten penyakit akan berkembang ke tahap tersier yang ditandai dengan perkembangan lesi granulomatous (*gummas*) pada kulit, tulang dan hati; lesi kardiovaskuler (aortitis, aortik aneurisme, *aortic valve insufficiency*). Lesi tertier treponema jarang ditemui dan respon jaringan yang meningkat ditandai dengan adanya hipersensitivitas organisme. Treponema yang menahun dan atau laten terkadang dapat menginfeksi mata atau sistem saraf pusat. Pada subspecies *parteneu* infeksi terjadi akibat adanya kontak berulang antar individu dalam waktu tertentu sehingga memudahkan treponema untuk berkembang biak. Infeksi bakteri *Treponema parteneu* berbentuk spirochetes tersebut ada di jaringan epidermis, mudah menular melalui jaringan kulit lecet atau trauma terbuka.

PENULARAN

Penularan penyakit frambusia dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung⁵. Penularan secara langsung (*direct contact*), banyak terjadi secara langsung dari penderita ke orang lain. Hal ini dapat terjadi jika jejas dengan gejala menular (mengandung *Treponema pertenue*) yang terdapat pada kulit seorang penderita bersentuhan dengan kulit orang lain yang ada lukanya. Penularan mungkin juga terjadi dalam persentuhan antara jejas dengan gejala menular, dengan selaput lendir. Jadi, Frambusia ditularkan dari orang ke orang melalui kontak kulit langsung dengan cairan dari lesi infeksi yang tidak diobati sejak awal, (papiloma kulit dan ulserasi). Meskipun lesi dapat sembuh secara spontan, beberapa lesi dapat kambuh. Tanpa pengobatan, penyakit ini bisa sembuh secara spontan atau menjadi laten dan muncul kembali sebagai *late yaws*. Lesi *late yaws* 2 tahun atau lebih (lesi hiperkeratotik palmar dan plantar, lesi tulang) umumnya tidak menular³.

Penularan secara tidak langsung (*indirect contact*), mungkin dapat terjadi dengan perantara benda atau serangga, tetapi hal ini sangat jarang. Dalam persentuhan antara jejas dengan gejala menular dengan kulit (selaput lendir) yang luka, *Treponema pertenue* yang terdapat pada jejas itu masuk ke dalam kulit melalui luka tersebut.

Terjadinya infeksi yang diakibatkan oleh masuknya *Treponema partenue* dapat mengalami 2 kemungkinan, yaitu infeksi *effective* dan infeksi *ineffective*. Infeksi *effective* terjadi jika *Treponema pertenue* yang masuk ke dalam kulit berkembang biak, menyebar di dalam tubuh dan menimbulkan gejala-gejala penyakit. Infeksi ini dapat terjadi jika *Treponema pertenue* yang masuk ke dalam kulit cukup virulen dan cukup banyaknya dan orang yang mendapat infeksi tidak kebal terhadap penyakit frambusia. Infeksi *ineffective* terjadi jika *Treponema pertenue* yang masuk ke dalam kulit tidak dapat berkembang biak dan kemudian mati tanpa dapat menimbulkan gejala-gejala penyakit. Infeksi ini dapat terjadi jika *Treponema pertenue* yang masuk ke dalam kulit tidak cukup virulen dan tidak cukup banyaknya dan orang yang mendapat infeksi mempunyai kekebalan terhadap penyakit frambusia⁶.

FAKTOR RISIKO

Faktor utama yang menjadi pemicu penyakit frambusia adalah gaya hidup yang kurang bersih. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi terjadinya penularan frambusia antara lain: lingkungan kumuh, hangat dan lembab; jarang mandi; bergantian menggunakan pakaian yang sama dengan orang lain atau jarang berganti pakaian; luka terbuka atau adanya penyakit kulit seperti kudis, bisul, dapat menjadi tempat masuk bakteri Frambusia³.

PENEGAKAN DIAGNOSTIK

Penegakan diagnosis frambusia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan pemeriksaan klinis dan pemeriksaan penunjang. Diagnosis di lapangan terutama berdasarkan pemeriksaan klinis sesuai dengan bentuk dan sifat kelainan yang ada. Pemeriksaan dilakukan di tempat dengan pencahayaan yang baik dan terang, dengan memperhatikan etika di mana pemeriksaan laki-laki dan perempuan dilakukan terpisah. Kondisi yang dapat membantu menetapkan diagnosis klinis Frambusia yaitu: 1) Umur penderita (frambusia banyak terjadi pada anak berumur kurang dari 15 tahun); 2) Gejala klinis berupa lesi pada kulit/tulang sesuai dengan stadium perkembangan frambusia; dan 3) Ciri dan lokasi lesi terjadi di tungkai, kaki, pergelangan kaki, bisa juga terjadi di lengan dan muka. Berdasarkan pemeriksaan klinis dapat ditetapkan kasus suspek, probabel, atau bukan kasus frambusia. Kasus suspek dan probabel perlu dilakukan pengujian serologi (*Rapid Diagnostic Test/RDT*) untuk kepastian diagnosis³.

Setiap kasus suspek atau kasus probabel sebaiknya dilakukan pemeriksaan serologi dan/atau pengujian lain di laboratorium, terutama kasus suspek di desa yang sudah lama tidak terdapat kasus konfirmasi untuk menghindari kesalahan diagnosis dengan penyakit kulit lain, yang kebanyakan serupa dengan lesi pada frambusia. Diagnosis frambusia dapat ditegakkan dengan pemeriksaan mikroskop lapangan gelap atau pemeriksaan mikroskopik langsung FA (*Flourescent Antibody*) dari eksudat yang berasal dari lesi primer atau sekunder.

Pemeriksaan serologis pada frambusia menggunakan cara pemeriksaan yang sama dengan pemeriksaan pada penyakit sifilis yaitu dengan *Treponemal Palidum Hemagglutination Assay-Rapid Diagnostic Test* (TPHA-RDT) dan dievaluasi dengan *Rapid Plasma Reagin/Venereal Disease Research Laboratory* (RPR/VDRL). Pemeriksaan serologi dapat bermanfaat untuk mengkonfirmasi kasus frambusia yang meragukan (suspek dan probabel) dan menemukan penderita-penderita dalam masa laten yang tidak menunjukkan gejala klinis tetapi ternyata seropositif (sumber penularan frambusia tersembunyi). Test serologis nontrepanomal untuk sifilis misalnya VDRL/RPR reaktif pada stadium awal penyakit dan akan menjadi non-reaktif setelah beberapa tahun kemudian, walaupun tanpa terapi yang spesifik. Dalam beberapa kasus penyakit ini memberikan hasil yang terus reaktif pada titer rendah seumur hidup. Test serologis trepanomal, misalnya *Flourescent Trepanomal Antibody-Absorbed* (FTA-ABS), *Microhemagglutination Assay for antibody to T. pallidum* (MHATP) biasanya tetap reaktif seumur hidup.

Pemeriksaan *Rapid Diagnostic Treponemal test* (RDT test) praktis digunakan di lapangan dengan sampel darah jari sewaktu dan hasilnya dapat dibaca dalam waktu 20 menit. Pemeriksaan RDT test sayangnya tidak dapat membedakan antara kasus Frambusia dengan infeksi aktif dan yang sudah mendapat pengobatan. Oleh karena itu, kasus

Frambusia yang pernah diobati dan sembuh, bisa saja dinyatakan positif dengan pemeriksaan RDT test. Dalam kegiatan penemuan kasus, jika ditemukan tanda klinis yang khas, cukup dilakukan pemeriksaan RDT test. Namun untuk survei serologi, apabila didapatkan hasil RDT test positif, sebaiknya diuji kembali dengan pemeriksaan *non-treponemal RPR test* untuk membuktikan apakah penularan masih terus berlangsung³.

Frambusia merupakan penyakit infeksi kulit yang memiliki 3 stadium dalam proses manifestasi ulkus seperti ulkus atau granuloma (*mother yaw*), lesi non-destruktif yang dini, dan destruktif atau adanya infeksi lanjut pada kulit, tulang dan perios. Penyakit ini adalah penyakit kulit menular yang dapat berpindah dari orang sakit frambusia kepada orang sehat yang memiliki luka terbuka atau cedera/trauma. Saat ini dikenal 4 kasus frambusia, yaitu: kasus suspek, probabel, konfirmasi, dan kasus dengan RDT negatif. Kasus frambusia suspek yang selanjutnya disebut suspek adalah seseorang yang menunjukkan satu atau lebih gejala/tanda klinis selama > 2 minggu, yaitu papul atau papilloma; ulkus frambusia (terdapat krusta, dan tidak sakit); makula papula; hiperkeratosis di telapak tangan atau kaki (*early*); dan perubahan pada tulang dan sendi (*early*). Kasus frambusia probabel yang selanjutnya disebut kasus probabel, adalah kasus suspek yang memiliki kontak erat dengan kasus frambusia. Secara teknis, kontak erat dengan kasus frambusia konfirmasi diartikan sebagai kontak lebih dari 20 jam per minggu dan waktu kontak antara 9-90 hari sebelum munculnya lesi frambusia. Kasus frambusia konfirmasi yang selanjutnya disebut kasus, adalah kasus suspek atau kasus probabel frambusia dengan hasil positif pada uji serologi RDT. Jika hasil tes tersebut meragukan, dapat dilakukan tes RPR atas rekomendasi pakar. Kasus suspek/probabel RDT (-) yang kemudian disebut kasus RDT (-) adalah kasus suspek atau kasus probable dengan hasil pengujian RDT negatif (-)³.

DIAGNOSIS BANDING

Beberapa penyakit mirip dengan Frambusia, sehingga sering menyebabkan kesalahan diagnosis Frambusia:

a. Diagnosis BANDING Frambusia dengan Lesi Primer (Stadium 1)

- 1) Impetigo, yaitu penyakit kulit yang disebabkan bakteri streptokokus atau stafilokokus. Dapat terjadi pada sekujur badan, dan sering terjadi pada anak-anak dengan kondisi lingkungan tidak sehat.
- 2) Ulkus tropikum terasa sakit dan biasanya terjadi pada tungkai bawah. Berbeda dengan frambusia, ulkus ini mempunyai batas tepi yang jelas/tegas, bernanah, berbau busuk, dan terdapat reaksi jaringan nekrosis. Luka ulkus bisa sangat dalam sampai ke daerah tendon dan tulang.

b. Diagnosis Banding Frambusia Lesi Sekunder

- 1) *Plantar warts*, yaitu jenis kutil, teraba lembut, berbentuk lesi datar pada telapak kaki yang disebabkan oleh papovavirus. Kutil ini dapat rancu dengan plantar papilloma.
- 2) Kusta (*Leprosy*), dapat dibedakan dengan frambusia, karena pada lepra terdapat mati rasa.
- 3) Psoriasis, yaitu penyakit kulit turunan (herediter) kronis. Lesi banyak terdapat pada lutut, siku, lengan, badan, dan kepala. Lesinya berwarna keputihan sampai keperak-perakan pada bagian tepi.
- 4) *Moluscum contagiosum*, yaitu penyakit kulit yang ditandai dengan papul/nodul dengan *delle* (lekukan) di tengahnya, berisi massa seperti nasi. Pada anak-anak biasanya terjadi di muka, badan, tangan, dan kaki, sedang pada orang dewasa terdapat di sekitar kemaluan (pubis dan genitalia eksternal)³.

PENCEGAHAN DAN PENGENDALIAN

Pencegahan dan pengendalian frambusia dapat dilakukan melalui tiga cara⁷, yaitu: a) upaya pencegahan dan pemberantasan; b) upaya pengawasan penderita, kontak, dan lingkungan sekitarnya; serta c) upaya penanggulangan KLB/wabah.

Upaya-upaya pencegahan dan pemberantasan dapat dilakukan dengan: 1) upaya promosi kesehatan umum, memberikan pendidikan kesehatan kepada masyarakat tentang *treponematoses*, menjelaskan kepada masyarakat untuk memahami pentingnya menjaga kebersihan perorangan dan sanitasi-sanitasi yang baik, termasuk penggunaan air dan sabun yang cukup dan pentingnya meningkatkan kondisi sosial ekonomi dalam jangka waktu panjang untuk mengurangi angka kejadian; 2) mengorganisir masyarakat dengan cara yang tepat untuk ikut serta dalam upaya pemberantasan dengan memperhatikan hal-hal yang spesifik di wilayah tersebut; 3) memeriksa seluruh anggota masyarakat dan mengobati penderita dengan gejala aktif atau laten. Pengobatan kontak yang asimtomatis dan pengobatan terhadap seluruh populasi perlu dilakukan jika prevalensi penderita dengan gejala aktif lebih dari 10%; 4) melakukan survei klinis secara rutin dan surveilans yang berkesinambungan. Survei serologis untuk penderita laten perlu dilakukan terutama pada anak-anak untuk mencegah terjadinya relaps dan timbulnya lesi infeksi yang menyebabkan penularan penyakit pada komunitas tetap berlangsung; 5) menyediakan fasilitas pelayanan kesehatan yang memadai untuk dapat melakukan diagnosa dini dan pengobatan dini sebagai bagian dari rencana kampanye pemberantasan di masyarakat. Fasilitas diagnosis dan pengobatan dini terhadap frambusia hendaknya menjadi bagian yang terintegrasi pada fasilitas pelayanan kesehatan setempat yang permanen; dan 6) melakukan penanganan terhadap penderita cacat dan penderita dengan gejala lanjut.

Upaya pengawasan penderita, kontak dan lingkungan sekitarnya dilakukan dengan: 1) melaporkan kepada instansi kesehatan yang berwenang. Isolasi tidak perlu dilakukan, akan tetapi perlu hindari kontak dengan luka dan hindari kontaminasi lingkungan sampai luka sembuh; 2) melakukan disinfeksi serentak dengan membersihkan barang-barang yang terkontaminasi dengan diskar dan membuang diskar sesuai dengan prosedur; 3) melakukan investigasi terhadap kontak dan sumber infeksi, tetapi karantina dan imunisasi terhadap kontak tidak perlu dilakukan; dan 4) memberikan pengobatan kepada seluruh orang yang kontak dengan penderita, bagi yang tidak memperlihatkan gejala aktif diperlakukan sebagai penderita laten. Pada daerah dengan prevalensi rendah, semua penderita dengan gejala aktif dan semua anak-anak serta setiap orang yang kontak dengan sumber infeksi diobati. Pengobatan spesifik yang diberikan adalah Penisilin. Untuk penderita 10 tahun ke atas dengan gejala aktif dan terhadap kontak diberikan injeksi dosis tunggal benzathine penicillin G (Bicillin) 1,2 juta unit IM atau 0,6 juta unit untuk penderita usia dibawah 10 tahun.

Upaya penanggulangan wabah dilaksanakan dengan: 1) melakukan program pengobatan aktif untuk masyarakat di daerah dengan prevalensi tinggi. Tujuan utama dari program ini adalah pemeriksaan terhadap sebagian besar penduduk dengan survei lapangan; 2) melakukan pengobatan terhadap kasus aktif yang diperluas pada keluarga dan kelompok masyarakat sekitarnya berdasarkan bukti adanya prevalensi frambusia aktif; serta 3) melakukan survei berkala dengan tenggang waktu antara 1-3 tahun sebagai bagian integral dari pelayanan kesehatan masyarakat pedesaan di suatu negara.

ERADIKASI FRAMBUSIA

Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional (RPJMN) 2020-2024 menangkap tantangan penanganan penyakit menular terabaikan, yaitu bagaimana memfokuskan pembangunan kesehatan untuk penanganan penyakit menular termasuk penyakit terabaikan dan penyakit tidak menular. Target jumlah kabupaten/kota dengan eradikasi frambusia sebanyak 42 di tahun 2020, 172 di tahun 2021, 283 di tahun 2022, 393 di tahun 2023 dan 514 kabupaten pada tahun 2024. Sertifikat Eradikasi Frambusia diserahkan kepada kabupaten/kota yang telah melakukan eradikasi frambusia. Sertifikat diberikan pada daerah yang telah direkomendasikan oleh provinsi, serta melalui penilaian oleh Komisi Eradikasi Frambusia. Tahun 2021 Menteri Kesehatan memberikan penghargaan sertifikat eradikasi bersamaan dengan acara Pertemuan Integrasi Evaluasi, Validasi Data dan Perencanaan Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Menular Langsung Ditjen P2P Kemenkes RI di Bogor. Delapan kabupaten/kota penerima sertifikat antara lain Kota Cilegon, Kabupaten Serang, Kota Jakarta Barat, Kota Bengkulu, Kota Salatiga, Kabupaten Kendal, Kota Blitar, dan Kota Madiun. Sementara satu provinsi adalah Sulawesi Selatan⁸. Pada tahun 2023 penyerahan Sertifikat Bebas Frambusia oleh Menteri Kesehatan dilaksanakan

bertepatan dengan momentum *Hari Neglected Tropical Diseases* (NTDs), sebanyak 103 kabupaten/kota menerima sertifikat bebas frambusia⁹.

KESIMPULAN

Frambusia yang merupakan penyakit tropis terabaikan di Indonesia adalah penyakit menular yang masih ditemukan di Indonesia. Penyakit ini dapat diatasi dengan pemberian antibiotik golongan Penisilin. Akan tetapi pencegahan dan gaya hidup yang bersih dan sehat lebih penting sebagai upaya pencegahan penularan penyakit ini. Pemerintah Indonesia memberikan Sertifikat Eradikasi Frambusia secara bertahap dengan target dari tahun 2020 hingga 2023 diharapkan semua kabupaten/kota telah bebas frambusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Press Reader Intisari. Sejarah Frambusia di Indonesia [Internet]. 2021. [cited 2024 Jan 02] Available from: [PressReader.com | SEJARAH FRAMBUSIA DI INDONESIA](https://www.pressreader.com/indonesia/sejarah-frambusia-di-indonesia)
2. Brooks, Geo F., Butel JF., Morse SA. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz Melnick dan Adelberg. 2005.
3. Kemenkes RI. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 8 Tahun 2017 Tentang Eradikasi Frambusia. 2017.
4. WHO. Eradications of yaws: a guide for programme managers, Geneva. 2018.
5. Departemen Kesehatan RI. Pedoman Eradikasi Frambusia. Jakarta. 2007.
6. Departemen Kesehatan RI. Pedoman Pemberantasan Penyakit Frambusia. Jakarta. 2005.
7. Academia Edu. Penyakit Frambusia/Patek/Yaws [Internet]. 2023. [cited 2023 Aug 02]. Available from: [PENYAKIT FRAMBUSIA / PATEK / YAWS | silfa oya - Academia.edu](https://www.academia.edu/38111111/PENYAKIT_FRAMBUSIA_PATEK_YAWS)
8. Dirjen P2P. Kemenkes Berikan Penghargaan Kepada Wilayah Yang Berhasil Capai Eradikasi Frambusia dan Eliminasi Kusta [Internet]. 2021. [cited 2023 Dec 23]. Available from: [Kemenkes Berikan Penghargaan Kepada Wilayah Yang Berhasil Capai Eradikasi Frambusia dan Eliminasi Kusta – Ditjen P2P Kemenkes RI \(kemkes.go.id\)](https://www.kemkes.go.id/berita/kemenkes-berikan-penghargaan-kepada-wilayah-yang-berhasil-capai-eradikasi-frambusia-dan-eliminasi-kusta)
9. Solopos Digital Media. Kemenkes Nyatakan Sragen Bebas Penyakit Frambusia, Ini Penjelasan [Internet]. Kaled Hasby Ashshidiqy, Editor. 2023. [cited 2023 Dec 27]. Available from: [Kemenkes Nyatakan Sragen Bebas Penyakit Frambusia, Ini Penjelasan - Solopos.com | Panduan Informasi dan Inspirasi](https://www.solopos.com/panduan-informasi-dan-inspirasi/kemenkes-nyatakan-sragen-bebas-penyakit-frambusia-ini-penjelasan)

KARAKTERISASI GENETIK *Plasmodium* sp. BUKIT MENOREH DAN SEKITARNYA DAERAH ISTIMEWA YOGYAKARTA DAN PROVINSI JAWA TENGAH

Andiyatu, Yohanna Gita Chandra, Heni Amikawati, Ratna Wijayanti

ABSTRAK

Latar Belakang: Ketersediaan data surveilans genotipe *Plasmodium* sp di Indonesia sangat diperlukan sebagai data dasar eliminasi. Tahun 2022 karakterisasi genetik *Plasmodium* sp lima kabupaten di DIY dan Jawa Tengah mulai diinisiasi.

Tujuan: Mengidentifikasi kekerabatan genetik intra spesies *P. falciparum* dan *P. vivax* antara tiga kabupaten berbatasan wilayah di Bukit Menoreh (Kulon Progo, Purworejo, dan Magelang) dengan dua kabupaten sekitarnya (Wonosobo dan Banjarnegara).

Metode: Dried blood spot suspek malaria diperiksa PCR untuk mendeteksi *Plasmodium* sp. Spesimen positif diamplifikasi dan disekuensing DNA gen MSP1 (*P. falciparum*) dan gen VCS (*P. vivax*). Pohon filogenetik direkonstruksi untuk identifikasi kekerabatan genetik intra spesies *Plasmodium* per kabupaten.

Hasil: Sebanyak 25 dari 35 spesimen DBS positif *Plasmodium*, terdiri dari 13 *P. falciparum*, 11 *P. vivax*, dan 1 mix *P. falciparum* dan *P. vivax*. Rekonstruksi pohon filogenetik MSP1, hampir seluruh isolat *P. falciparum* Kulon Progo, Purworejo dan Magelang mengelompok satu kluster (clade), isolat Wonosobo terpisah. Pohon filogenetik gen VCS, sebagian besar isolat *P. vivax* Wonosobo mengelompok satu kluster dengan isolat Kulon Progo.

Kesimpulan dan saran: Isolat *P. falciparum* Kulon Progo, Purworejo, dan Magelang (wilayah berbatasan) kekerabatan genetiknya lebih dekat dibandingkan Wonosobo (wilayah tidak berbatasan). Sebagian isolat *P. vivax* Wonosobo memiliki kekerabatan genetik yang dekat dengan isolat Kulon Progo. Untuk mencegah terjadinya penularan setempat kasus impor maka surveilans migrasi lima kabupaten kajian terus ditingkatkan. Karakterisasi genetik *Plasmodium* sp terus dilanjutkan dan diperluas ke kabupaten lain agar data surveilans genotipe *Plasmodium* sp, bertambah.

Kata kunci: genotipe, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, Bukit Menoreh, DIY, Jateng

PENDAHULUAN

Malaria merupakan salah satu penyakit menular prioritas dikendalikan di Indonesia. Program pencegahan dan pengendalian malaria bertujuan agar malaria di Indonesia dapat dieliminasi secara nasional pada tahun 2030. Pencapaian eliminasi malaria ditargetkan bertahap, mulai dari tingkat kabupaten/kota, provinsi, hingga regional pulau. Target waktu capaian eliminasi malaria di Indonesia terus mengalami penyesuaian. Terkini, target eliminasi malaria bagi regional Jawa – Bali dicapai tahun 2023¹. Hingga tahun 2022 di Daerah Istimewa (DIY) Yogyakarta dan Provinsi Jawa Tengah (Jateng), yakni dua provinsi layanan tugas BBTCLPP Yogyakarta masih tersisa satu kabupaten yang belum memperoleh sertifikat eliminasi di antara 40 kabupaten/kota di DIY dan Jateng, yaitu Purworejo. Meski belum mencapai eliminasi namun angka kejadian kasus malaria – *annual parasite incidence* (API) di Purworejo sudah semakin rendah, yakni < 1/‰. Purworejo termasuk kabupaten dalam fase pembebasan (fase eliminasi), sementara 39 kabupaten/kota lain di DIY dan Jateng berada dalam fase pemeliharaan eliminasi malaria. Pentahapan capaian eliminasi malaria di suatu wilayah dikenal empat kategori fase capaian, terdiri dari: 1) fase pemberantasan, kabupaten dengan kasus malaria masih tinggi atau capaian *slide positive rate* (SPR) > 5%, 2) fase pra-eliminasi, kabupaten dengan kasus malaria makin rendah (SPR < 5%), 3) fase eliminasi (pembebasan), kabupaten dengan angka kejadian kasus malaria rendah (API < 1/‰), dan 4) fase pemeliharaan, kabupaten yang telah mencapai eliminasi².

Di dalam mencapai eliminasi malaria ditetapkan empat kegiatan pokok pengendalian, sebagaimana diuraikan dalam Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 293 tahun 2009 tentang Eliminasi Malaria di Indonesia. Kegiatan pokok tersebut mencakup penemuan dan tatalaksana penderita, pencegahan dan penanggulangan faktor risiko, surveilans epidemiologi dan penanggulangan wabah, serta peningkatan komunikasi, informasi, dan edukasi (KIE). Pada komponen surveilans epidemiologi dan penanggulangan wabah diamanatkan antara lain adalah melakukan pemeriksaan genotipe pada *Plasmodium* sp yang menginfeksi penderita².

Informasi genotipe *Plasmodium* sp yang bersirkulasi di suatu negara penting tersedia, guna menjadi data dasar eliminasi bagi negara setempat. Demikian pula dengan Indonesia. Memiliki data genotipe *Plasmodium* sp dari berbagai kabupaten endemis malaria akan memperkaya data dasar genotipe di tingkat nasional, yang bermanfaat sebagai data dukung bila diperlukan penegakan kasus untuk membedakan kasus impor dari kasus penularan di wilayah setempat – kasus indigenous. Kemanfaatan dari ketersediaan data dasar genotipe *Plasmodium* sp di suatu negara dicontohkan antara lain dari laporan kasus (*case report*) yang dapat menetapkan dengan pasti bahwa suatu kejadian kasus malaria *P. vivax* di Cina bukan merupakan kasus indigenous melainkan kasus impor dari negara lain (Indonesia)³. Berdasar contoh kasus ini terlihat betapa krusial ketersediaan data dasar genotipe

Plasmodium sp di Indonesia, untuk merepresentasikan genotipe *Plasmodium* sp dari berbagai kabupaten di Indonesia, khususnya dari kabupaten yang masih terdapat kejadian kasus malaria, baik indigenous maupun impor.

Hingga saat ini ketersediaan data genotipe *Plasmodium* sp dari Indonesia yang dapat diakses di Genbank masih sangat terbatas, termasuk data genotipe *Plasmodium* sp dari kabupaten/kota di DIY dan Jateng. Sehubungan dengan itu, BBTCLPP Yogyakarta selaku unit pelaksana teknis (UPT) Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit (Ditjen. P2P) Kementerian Kesehatan RI menginisiasi kajian Identifikasi Karakter Genetik (Genotipe) *Plasmodium* sp di lima kabupaten fase eliminasi dan fase pemeliharaan di Wilayah DIY dan Jateng pada tahun 2022. Kajian ini bertujuan mendeskripsikan karakteristik kasus malaria, dan menganalisis hubungan kekerabatan genetik intra spesies isolat *Plasmodium* sp yang menginfeksi penderita malaria di kabupaten berbatasan langsung dengan kabupaten yang tidak berbatasan langsung di wilayah Bukit Menoreh.

Bukit Menoreh merupakan satu kawasan ekosistem pegunungan. Di dalam satu kawasan Bukit Menoreh tersebut tercakup tiga kabupaten berbatasan langsung yang merupakan bagian wilayah administratif dari dua provinsi, yakni Daerah Istimewa Yogyakarta dan Provinsi Jawa Tengah. Ketiga kabupaten yang berbatasan langsung di Bukit Menoreh terdiri dari Kabupaten Kulon Progo Daerah Istimewa Yogyakarta, serta Kabupaten Magelang dan Kabupaten Purworejo Jawa Tengah. Di sekitar kawasan Bukit Menoreh terdapat beberapa kabupaten yang tidak berbatasan langsung, antara lain Kabupaten Wonosobo dan Banjarnegara.

Kawasan Bukit Menoreh dikenal sebagai daerah persisten malaria karena hingga tahun 2022 masih terdapat satu kabupaten yang belum mendapat sertifikat eliminasi malaria di antara tiga kabupaten berbatasan di kawasan pegunungan Bukit Menoreh, yaitu Kabupaten Purworejo Provinsi Jawa Tengah. Pengendalian penyakit di wilayah ekosistem sama namun melibatkan wilayah administratif berbeda memerlukan pendekatan pengendalian yang berbasis ekosistem, bukan berdasar wilayah⁴.

METODOLOGI PENELITIAN

Kegiatan kajian dilaksanakan di lima kabupaten, terdiri dari tiga kabupaten berbatasan langsung (Kulon Progo, Purworejo dan Magelang) dan dua kabupaten tidak berbatasan langsung di kawasan Bukit Menoreh (Wonosobo dan Banjarnegara) wilayah administratif DIY dan Provinsi Jateng. Kelima kabupaten yang menjadi area kajian tersebut ditampilkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Peta Tiga Kabupaten Berbatasan Langsung (Kulon Progo/Wates, Magelang, dan Purworejo) dengan Dua Kabupaten Tidak Berbatasan Langsung Di Kawasan Ekosistem Pegunungan Bukit Menoreh (Wonosobo dan Banjarnegara) Wilayah D.I. Yogyakarta dan Provinsi Jawa Tengah.

Diantara lima kabupaten kajian terdapat satu kabupaten dalam fase eliminasi (Purworejo), sementara empat kabupaten lain dalam fase pemeliharaan. Di tiap kabupaten dipilih empat puskesmas sentinel berdasar kriteria masih memiliki kasus malaria indigenous/import.

Sampel darah jari diambil dari partisipan kajian, yakni penderita suspek malaria. Suspek atau tersangka malaria adalah seseorang yang tinggal di daerah endemis malaria atau adanya riwayat bepergian ke daerah endemis malaria dalam empat minggu terakhir sebelum menderita sakit dengan gejala demam atau riwayat demam dalam 48 jam terakhir⁵.

Sampel darah jari ditempatkan pada kertas saring Whatman No. 3 dalam bentuk dried blood spot (DBS). Pengumpulan sampel darah jari dilakukan pada April – November 2022. Seluruh spesimen DBS dikirimkan ke laboratorium Genetika Science untuk pemeriksaan Plasmodium sp secara molekuler menggunakan metode Nested PCR. Pada pemeriksaan tahap pertama digunakan primer rPLU-6: TTA AAA TTG TTG CAG TTA AAA CG dan rPLU-5: CCT GTT GTT GCC TTA AAC TTC, yaitu primer spesifik untuk deteksi genus Plasmodium sp. Spesimen yang menunjukkan hasil positif Plasmodium sp dilanjutkan dengan pemeriksaan tahap kedua untuk menetapkan jenis spesies Plasmodium yang menginfeksi penderita. Primer yang digunakan untuk mendeteksi spesies Plasmodium terdiri

atas dua pasang primer, yaitu rFAL 1: TTA AAC TGG TTT GGG AAA ACC AAA TAT ATT dan rFAL 2: CAC AAT GAA CTC AAT CAT GAC TAC CCG TC untuk deteksi *P. falciparum*, dan rViv 1: CGC TTC TAG CTT AAT CCA CAT AAC TGA TAC dan rViv 2: ACT TCC AAG CCG AAG CAA AGA AAG TCC TTA untuk deteksi *P. vivax*. Kedua jenis primer tersebut digunakan pada spesimen yang sama untuk mendeteksi adanya infeksi tunggal *Plasmodium*(*P.*) *falciparum* atau *P. vivax*, atau infeksi ganda *P. falciparum* dan *P. vivax* pada isolat yang sama. Primer spesifik genus dan spesifik spesies *P. falciparum* dan *P. vivax* mengacu pada Brockman (2006).⁶Spesimen DBS yang dinyatakan positif *Plasmodium* sp dilanjutkan dengan proses amplifikasi DNA gen target, yakni DNA gen *merozoite surface protein-1* (MSP1) untuk *P. falciparum*, dan DNA gen *P. vivax circum sporozoite* (Pvcsp) atau VCS untuk *P. vivax*. Pasangan primer untuk amplifikasi DNA gen MSP1 digunakan memiliki urutan basa sebagai berikut, yaitu P1: CAC ATG AAA GTT ATC AAG AAC TTG TC dan P2: GTA CGT CTA ATT CAT TTG CAC G. Adapun pasangan primer untuk amplifikasi DNA gen Pvcsp (VCS), yaitu VCS1: ATG TAG ATC TGT CCA AGG CCA TAA A dan VCS2: AAT TGA ATA ATG CTA GGA CTA ACA ATA TG.⁷ Amplikon gen target yang berhasil diamplifikasi lalu dilakukan sekuensing untuk mendapatkan sekuen DNA dari setiap isolat *Plasmodium*.

Hasil sekuensing berupa sekuen DNA dari isolat *Plasmodium* sp pada kajian ini diolah dan dianalisis menggunakan *software Geneious*. Melalui program ini dilakukan penyejajaran (*alignment*) seluruh sekuen DNA dari semua isolat yang diperoleh dari kajian ini. Sehubungan dengan masih terbatasnya ketersediaan data informasi genetik isolat *Plasmodium* sp Indonesia pada *Genbank* maka dalam proses *alignment* digunakan data tambahan isolat *Plasmodium* dari daerah atau negara lain. Pencarian data tambahan menggunakan tool *The BasicLlocal Alignment Search Tool* (BLAST) yang tersedia pada *National Center for Biotechnology Informatian* (NCBI). Dari hasil *alignment* dilakukan proses pengolahan lanjut untuk memperoleh data yang dibutuhkan, yakni Indeks Similaritas (persentase tingkat kemiripan) susunan basa atau nukleotida penyusun gen target antar isolat, dan data topologi konstruksi pohon filogenetik untuk identifikasi kekerabatan genetik antar isolat *Plasmodium* sp antar kabupaten.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Kasus Malaria

Terdapat total sebanyak 35 spesimen DBS yang dikumpulkan. Spesimen tersebut berasal dari empat kabupaten, tidak didapatkan spesimen dari Kabupaten Banjarnegara karena di kabupaten ini tidak ditemukan suspek malaria selama periode pengumpulan sampel. Hampir separuh spesimen DBS tersebut berasal dari Kulon Progo, yaitu 15 (43%) spesimen, sementara 20 DBS yang lain berasal dari Purworejo 9 (26%) spesimen,

Wonosobo 7 (20%) spesimen, dan Magelang 4 (11%) spesimen. Hasil pemeriksaan PCR pada 35 spesimen DBS ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Distribusi Jumlah Spesimen DBS Malaria Diperiksa dan Positif *Plasmodium* sp berdasar Pemeriksaan PCR menurut Kabupaten Sasaran di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Provinsi Jawa Tengah Tahun 2022

No	Kabupaten	Jumlah Spesimen DBS Diperiksa	Jumlah (%) Spesimen DBS Positif <i>Plasmodium</i>	Jumlah (%) Spesimen DBS Negatif <i>Plasmodium</i>	Jumlah (%) Spesimen DBS Positif Pf*	Jumlah (%) Spesimen DBS Positif Pv**	Jumlah (%) Spesimen Positif Mix (Pf & Pv).
1	Kulon Progo	15	9 (60)	6 (40)	2 (22)	7 (78)	0 (0)
2	Magelang	4	4 (100)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	0 (0)
3	Purworejo	9	6 (67)	3 (33)	6 (100)	0 (0)	0 (0)
4	Wonosobo	7	6 (86)	1 (14)	1 (17)	4 (66)	1 (17)
5	Banjarnegara	-	-	-	-	-	-
	Total	35	25 (71)	10 (29)	13 (52)	11 (44)	1 (4)

*Pf: *Plasmodium falciparum*; ** Pv: *Plasmodium vivax*

Hasil pemeriksaan PCR menunjukkan sebagian besar (71%) spesimen DBS dari suspek malaria positif malaria. Kasus positif malaria tersebut sebagian besar disebabkan oleh infeksi tunggal, baik oleh *P. falciparum* maupun oleh *P. vivax*, yang merupakan dua spesies paling banyak ditemukan di Indonesia. Hanya sebagian kecil ditemukan adanya infeksi ganda. Proporsi kasus malaria *P. falciparum* lebih tinggi dibanding kasus malaria *P. vivax*, yakni 52% berbanding 44%. Selebihnya (4%) disebabkan oleh infeksi ganda oleh *P. falciparum* bersama *P. vivax*. Masih dominannya *P. falciparum* di kabupaten ini perlu diwaspadai mengingat spesies ini dikenal sebagai *Plasmodium* yang paling ganas karena sering menyebabkan malaria berat dan kematian, terutama pada anak-anak dan individu dengan kekebalan rendah rentan⁸.

Di antara 13 kasus malaria infeksi *P. falciparum*, paling banyak berasal dari Purworejo, lalu disusul oleh Magelang. Bahkan spesimen DBS dari kedua kabupaten ini semuanya karena infeksi *P. falciparum*. Sebaliknya, kasus malaria dari Kabupaten Kulon Progo dan Wonosobo didominasi oleh infeksi *P. vivax*.

Kemiripan genetik *P. falciparum* berdasar Gen MSP1

Amplifikasi DNA gen MSP1 pada 13 spesimen DBS yang positif *P. falciparum* berhasil diperoleh 13 ampikon, yang selanjutnya dilakukan sekuensing. Berdasar hasil penyejajaran (*alignment*) 13 sekuens DNA MSP1 isolat *P. falciparum* dari empat kabupaten diperoleh data Indeks Similaritas (IS) atau tingkat kemiripan genetik isolat *P. falciparum* antar wilayah, yang ditampilkan dalam matriks pada Gambar 2.

Kode Spesimen	WS/WK/006	PWJ/BE/349	PWJ/BE/348	PWJ/BE/124	MG/SLM1/001	PWJ/BE/042	MG/SLM1/002	MG/BRBD/003	PWJ/BA/346	MG/BRBD/001	PWJ/BE/122	KP/SMG1/016	KP/NN/034
WS/WK/006		80.52	80.52	80.52	80.52	80.52	80.52	80.52	80.52	80.52	80.52	74.32	77.09
PWJ/BE/349	80.52		100	100	100	100	100	100	100	100	100	92.89	74.19
PWJ/BE/348	80.52	100		100	100	100	100	100	100	100	100	92.89	74.19
PWJ/BE/124	80.52	100	100		100	100	100	100	100	100	100	92.89	74.19
MG/SLM1/001	80.52	100	100	100		100	100	100	100	100	100	92.89	74.19
PWJ/BE/042	80.52	100	100	100	100		100	100	100	100	100	92.89	74.19
MG/SLM1/002	80.52	100	100	100	100	100		100	100	100	100	92.89	74.19
MG/BRBD/003	80.52	100	100	100	100	100	100		100	100	100	92.89	74.19
PWJ/BA/346	80.52	100	100	100	100	100	100	100		100	100	92.89	74.19
MG/BRBD/001	80.52	100	100	100	100	100	100	100	100		100	92.89	74.19
PWJ/BE/122	80.52	100	100	100	100	100	100	100	100	100		92.89	74.19
KP/SMG1/016	74.32	92.89	92.89	92.89	92.89	92.89	92.89	92.89	92.89	92.89	92.89		69.07
KP/NN/034	77.09	74.19	74.19	74.19	74.19	74.19	74.19	74.19	74.19	74.19	74.19	69.07	

Gambar 2. Matriks Indeks Similaritas (Tingkat Kemiripan) Gen MSP1 Isolat *P. falciparum* Antar Kabupaten Berbatasan Langsung (Kulon Progo, Purworejo, dan Magelang) dengan Kabupaten Tidak Berbatasan Langsung (Wonosobo) di Daerah Bukit Menoreh, Wilayah DIY dan Provinsi Jateng Tahun 2022

Berdasar matriks Indeks Similaritas (IS) gen MSP1 pada Gambar 1 diketahui isolat *P. falciparum* antar 4 kabupaten memiliki tingkat kemiripan genetik berkisar 69,07 – 100%. Tingkat kemiripan tertinggi terdapat pada seluruh (6) isolat *P. falciparum* dari Purworejo dengan seluruh (4) isolat dari Magelang, dengan IS mencapai 100%. Makna praktis dari IS 100% bahwa secara genetik, di antara 10 isolat *P. falciparum* dari dua kabupaten tersebut tidak terdapat perbedaan susunan basa atau nukleotida penyusun gen MSP1. Selanjutnya, tingkat kemiripan genetik juga cukup tinggi terdapat pada satu isolat dari Kulon Progo (KP/SMG1/016) terhadap isolat dari Purworejo – Magelang, dengan IS 92,89%.

Secara umum, isolat *P. falciparum* Purworejo – Magelang – Kulon Progo memiliki tingkat kemiripan genetik yang tinggi (IS 90 – 100%). Hal ini dimungkinkan karena ketiga kabupaten tersebut memiliki jarak wilayah yang relatif dekat satu sama lain, yakni berbatasan langsung secara administratif wilayah dan berada dalam satu kesatuan geografis yang sama, yakni di wilayah Bukit Menoreh. Kondisi demikian memungkinkan akses mobilitas penduduk antar tiga kabupaten menjadi sangat mudah, hal yang memungkinkan terjadinya penularan malaria antar penduduk di tiga wilayah berbatasan. Temuan IS genetik yang tinggi (100%) pada isolat *P. falciparum* dari Purworejo dan Magelang boleh jadi karena *Plasmodium* sp yang menginfeksi penderita di dua kabupaten tersebut berasal dari induk (kasus) yang sama. Untuk memastikan hal ini penting ditelusuri lebih lanjut melalui penyelidikan epidemiologi yang komprehensif, terutama terkait runtutan waktu kejadian dan riwayat perjalanan subjek dari kasus yang ada di dua wilayah tersebut.

Tingkat kemiripan genetik antara isolat *P. falciparum* dari Wonosobo dengan isolat Purworejo – Magelang tampak lebih rendah (80 – 89%) dibandingkan dengan tingkat kemiripan isolat antar tiga kabupaten berbatasan langsung di Bukit Menoreh (Purworejo – Magelang – Kulon Progo). Hal ini dapat dikaitkan dengan faktor jarak wilayah yang relatif berjauhan antara Wonosobo dengan tiga kabupaten di Bukit Menoreh. Jarak wilayah yang berjauhan, termasuk adanya rintangan gunung merupakan faktor hambatan fisik untuk terjadinya aliran gen antar populasi *P. falciparum* antar dua kabupaten tersebut⁹.

Fakta lain, di antara dua isolat *P. falciparum* Kulon Progo terdapat satu isolat (KP/NN/034) yang relatif berbeda dengan isolat lainnya, atau tingkat kemiripan genetiknya jauh lebih rendah (70 – 79%) terhadap isolat Purworejo – Magelang – Wonosobo. Bahkan tingkat kemiripan genetik isolat tersebut jauh lebih rendah lagi terhadap isolat intra wilayah Kulon Progo (69,07%). Isolat *P. falciparum* yang relatif berbeda karakter genetiknya ini dapat diduga merupakan strain dari wilayah lain.

Guna menganalisis hubungan kekerabatan genetik isolat *P. falciparum* antar kabupaten maka direkonstruksi pohon filogenetik gen MSP1 dari 13 isolat *P. falciparum* dari empat kabupaten (Gambar 3).



Gambar 3. Pohon Filogenetik Gen MSP1 antar Isolat *P. falciparum* pada Kabupaten Berbatasan Langsung - Kulon Progo (KP), Purworejo (PWJ), dan Magelang (MG), dengan Kabupaten Tidak Berbatasan Langsung – Wonosobo (WS) di DIY dan Provinsi Jateng Tahun 2022

Berdasarkan pohon filogenetik gen MSP1 pada Gambar 2 terlihat bahwa isolat *P. falciparum* antar 3 kabupaten berbatasan langsung di Bukit Menoreh, yakni Kulon Progo, Purworejo, dan Magelang cenderung mengelompok dalam satu klaster. Peristiwa mengelompoknya isolat *P. falciparum* Kulon Progo – Purworejo – Magelang ke dalam satu klaster adalah berdasar tingkat kemiripan genetik yang tinggi antar isolat, yakni memiliki IS berkisar 90 – 100%. Isolat yang mengelompok dalam satu klaster tersebut mengindikasikan isolat antar tiga kabupaten memiliki hubungan kekerabatan genetik yang sangat dekat.

Berbeda dengan isolat *P. falciparum* Wonosobo (WS/WK/006), yakni isolat dari kabupaten yang terpisah jauh dengan wilayah Bukit Menoreh. Isolat ini memisah dari klaster Purworejo – Magelang – Kulon Progo, yakni pada kondisi IS 74,32 – 80,52%. Demikian pula dengan satu isolat *P. falciparum* Kulon Progo (KP/NN/034) tampak memisah jauh dari klaster Purworejo – Magelang – Kulon Progo pada kondisi IS 77,09%, bahkan memisah jauh dengan isolat dari wilayah yang sama (Kulon Progo) pada IS 69,07%. Isolat Kulon Progo dengan kode KP/NN/034 tampak mengelompok pada klaster yang berisi isolat dari negara lain (Thailand dan India), sementara isolat Wonosobo (WS/WK/006) mengelompok pada klaster yang berisi isolat dari Solomon Island dan Papua New Guinea.

Mengelompoknya isolat KP/NN/034 atau isolat WS/WK/006 pada klaster isolat dari negara lain belum dapat disimpulkan langsung bahwa isolat tersebut merupakan isolat dari negara yang ditunjukkan dalam klaster tersebut. Hal ini dikarenakan keterbatasan ketersediaan data genotipe isolat *Plasmodium* sp Indonesia yang tersedia di Genbank. Keterbatasan tersebut menyebabkan tidak memungkinkannya dilakukan perbandingan data susunan nukleotida antara isolat *Plasmodium* sp yang diteliti saat ini dengan isolat lain dari wilayah Indonesia. Hal yang memungkinkan dilakukan adalah dengan menggunakan data pembanding yang tersedia, yakni data terbaru tentang susunan nukleotida isolat *P. falciparum* yang tersedia di Genbank melalui pencarian menggunakan *The Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Berdasar informasi bahwa isolat KP/NN/034 dan WS/WK/006 merupakan kasus impor dari Papua. Topologi pohon filogenetik pada Gambar 2 tampak sejalan atas klaim bahwa isolat WS/WK/006 merupakan kasus impor dari Papua. Namun isolat KP/NN/034 yang disebut sebagai kasus impor dari Papua tampak mengelompok pada isolat dari India dan Thailand.

Agar diperoleh hasil analisis yang valid tentang memisahkannya suatu isolat dari suatu klaster yang ada, misalnya memisahkannya isolat KP/NN/034 dan isolat WS/WK/006 dari klaster *P. falciparum* Kulon Progo – Purworejo – Magelang maka sangat penting tersedia informasi yang akurat tentang identitas kasus, terutama kepastian klasifikasi kasus (indigenous atau impor) serta asal wilayah kasus bilamana suatu kasus merupakan kasus impor. Informasi tentang hal tersebut dapat diperoleh bila penyelidikan epidemiologi (PE) dilakukan secara

lengkap, yakni PE 1-2-5 pada setiap kejadian kasus malaria di suatu wilayah⁵. Perolehan informasi tentang identitas setiap kasus dari subjek pada kajian ini masih kurang.

Merujuk pada topologi hasil rekonstruksi pohon filogenetik pada kajian ini menunjukkan bahwa penggunaan penanda genetik MSP1 dalam karakterisasi genetik *P. falciparum* tampaknya dapat memisahkan isolat berdasar wilayah, khususnya wilayah yang terisolasi secara jarak. Bentuk kluster (*clade*) pada pohon filogenetik sangat membantu dalam proses analisis kekerabatan genetik antar populasi *Plasmodium* sp antar wilayah. Hal ini sejalan dengan penjelasan bahwa gen MSP1 merupakan satu di antara tiga gen polimorfik yang umum digunakan sebagai penanda genetik dalam mengkarakterisasi (genotyping) populasi *P. falciparum*. Disebutkan pula bahwa gen ini juga digunakan dalam membedakan infeksi baru dari infeksi kambuhan pada pasien yang sama⁶.

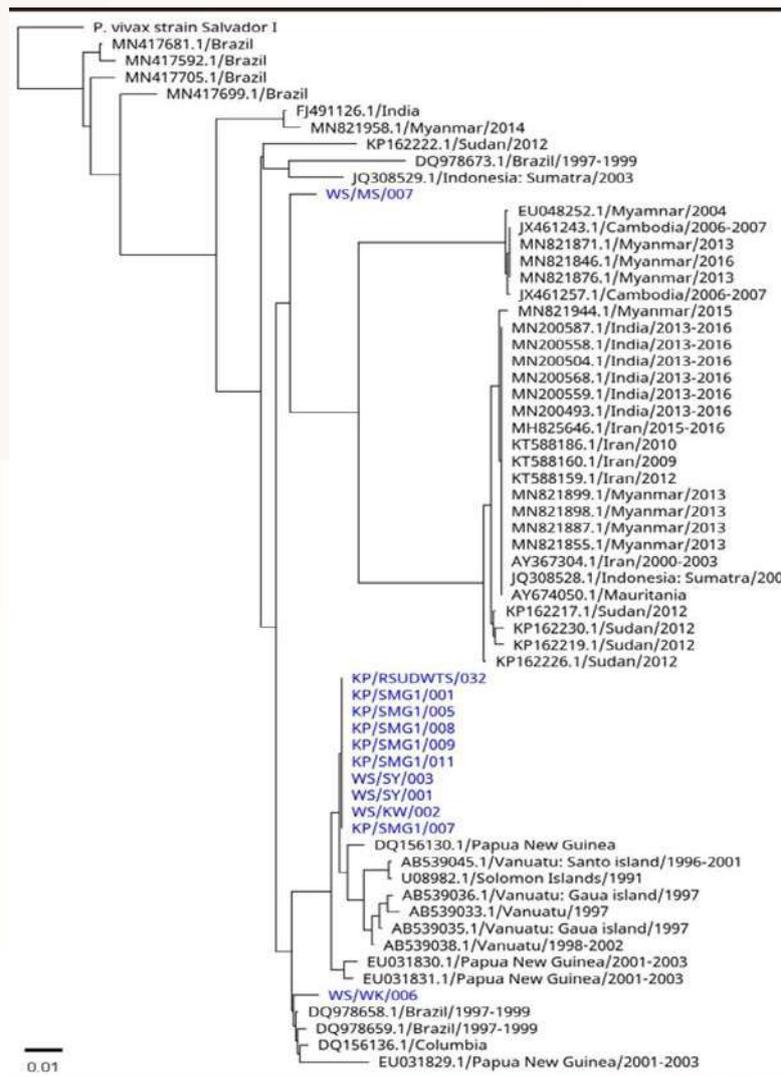
Kemiripan genetik *P. vivax* berdasar Gen VCS

Karakterisasi genetik *Plasmodium* sp juga dilakukan pada isolat *P. vivax*. Amplifikasi dan sekuensing gen target menggunakan penanda genetik gen VCS atau CSP secara umum. Kasus malaria *P. vivax* sebanyak 12 kasus hanya diperoleh dari Kabupaten Kulon Progo dan Wonosobo, termasuk satu kasus dari infeksi campuran. Hasil amplifikasi DNA gen target pada 12 spesimen DBS positif *P. vivax* diperoleh 12 produk PCR (amplikon DNA VCS). Amplikon tersebut disekuensing dan menghasilkan data sekuens DNA. Berdasar hasil penyejajaran (*alignment*) 12 sekuens DNA VCS dari Kabupaten Kulon Progo dan Wonosobo dihasilkan data Indeks Similaritas (IS) sebagaimana ditampilkan dalam matriks pada Gambar 4.

Kode Spesimen	KP/RSU DWTS/0 32	KP/SMG 1/001	KP/SMG 1/005	KP/SMG 1/008	KP/SMG 1/009	KP/SMG 1/011	WS/SY/ 003	WS/SY/ 001	WS/KW/ 002	KP/SMG 1/007	WS/MS/ 007	WS/WK /006
KP/RSUDWTS/032		100	100	100	100	100	100	100	100	100	97.27	96.42
KP/SMG1/001	100		100	100	100	100	100	100	100	100	97.27	96.42
KP/SMG1/005	100	100		100	100	100	100	100	100	100	97.27	96.42
KP/SMG1/008	100	100	100		100	100	100	100	100	100	97.27	96.42
KP/SMG1/009	100	100	100	100		100	100	100	100	100	97.27	96.42
KP/SMG1/011	100	100	100	100	100		100	100	100	100	97.27	96.42
WS/SY/003	100	100	100	100	100	100		100	100	100	97.27	96.42
WS/SY/001	100	100	100	100	100	100	100		100	100	97.27	96.42
WS/KW/002	100	100	100	100	100	100	100	100		100	97.27	96.42
KP/SMG1/007	100	100	100	100	100	100	100	100	100		97.27	96.42
WS/MS/007	97.27	97.27	97.27	97.27	97.27	97.27	97.27	97.27	97.27	97.27		96.76
WS/WK/006	96.42	96.42	96.42	96.42	96.42	96.42	96.42	96.42	96.42	96.42	96.76	

Gambar 4. Indeks Similaritas Gen VCS (CSP) antara Isolat *P. vivax* Kabupaten Kulon Progo dengan Isolat Kabupaten Wonosobo, di DIY dan Provinsi Jateng Tahun 2022.

Indeks Similaritas (IS) atau tingkat kemiripan gen CSP antar tujuh isolat *P. vivax* intra wilayah Kabupaten Kulon Progo sangat identik satu sama lain (IS 100%). Demikian pula tiga isolat *P. vivax* Wonosobo (WS/SY/003, WS/SY/001 dan WS/WK/002), juga memiliki tingkat kemiripan genetik yang tinggi dengan isolat dari Kulon Progo (IS 100%). Akan tetapi, dua di antara lima isolat *P. vivax* Wonosobo memiliki tingkat kemiripan genetik yang lebih rendah dengan isolat *P. vivax* Kulon Progo, yaitu isolat WS/WK/006 (IS 96,42%) dan isolat WS/MS/007 (IS 97,27%). Bila dilihat dari konstruksi pohon filogenetik, kedua isolat ini tampak terpisah klaster dengan isolat *P. vivax* Kulon Progo – Wonosobo. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik gen CSP dari 12 isolat *P. vivax* Kulon Progo dan isolat *P. vivax* Wonosobo ditampilkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Pohon Filogenetik Gen CSP (VCS) antar Isolat *P. vivax* Kabupaten Kulon Progo (KP) dan Wonosobo di DIY dan Provinsi Jateng Tahun 2022

Konstruksi pohon filogenetik gen VCS dari 12 isolat *P. vivax* Kulon Progo dan Wonosobo menunjukkan semua isolat *P. vivax* Kulon Progo membentuk klaster sama dengan

sebahagian besar isolat *P. vivax* Wonosobo. Isolat-isolat tersebut mengelompok dalam satu klaster pada kondisi IS gen VCS 100%. Temuan ini mengindikasikan bahwa antara tujuh isolat *P. vivax* Kulon Progo dengan tiga isolat *P. vivax* Wonosobo memiliki hubungan kekerabatan genetik yang dekat satu sama lain. Sementara dengan dua isolat *P. vivax* Wonosobo yang lain memiliki hubungan kekerabatan genetik yang lebih rendah (IS < 100%), yaitu secara berurutan memiliki IS 97,27% dan IS 96,42%. Dengan IS genetik yang lebih rendah tersebut menjadikan isolat *P. vivax* Wonosobo dengan kode spesimen WS/WK/006 tampak lebih mengelompok pada klaster isolat Papua New Guinea, sementara isolat *P. vivax* WS/MS/007 lebih mendekati pada klaster isolat *P. vivax* Sumatra.

Adanya isolat *P. vivax* Wonosobo (WS/WK/006) yang lebih cenderung mengelompok dengan isolat *P. vivax* klaster Papua New Guinea dapat dikaitkan dengan status kasus WS/WK/006, yaitu sebagai kasus impor dari Papua. Pencarian data susunan nukleotida (genotipe) isolat *P. vivax* dari Papua melalui BLAST pada Genbank tidak ditemukan data isolat *P. vivax* untuk dapat dibandingkan dengan isolat *P. vivax* pada penelitian ini. Namun pada Genbank hanya ditemukan data isolat *P. vivax* Papua New Guinea, yaitu negara yang berbatasan langsung dengan Papua. Papua New Guinea merupakan negara yang secara geografis terletak di bagian timur Pulau Papua dan berbatasan darat langsung dengan provinsi di Indonesia, yakni Provinsi Papua, Papua Pegunungan, dan Papua Selatan di sebelah barat. Kedekatan jarak antara Papua New Guinea dengan pulau di Papua dapat menjelaskan mengapa isolat WS/WK/006 lebih cenderung mengelompok pada klaster isolat *P. vivax* Papua New Guinea. Demikian halnya dengan isolat WS/MS/007 yang cenderung mendekati pada klaster *P. vivax* Sumatra. Dapat diduga bahwa isolat *P. vivax* yang menginfeksi subjek dengan kode WS/MS/007 kemungkinan merupakan strain *P. vivax* Sumatra, bukan strain *P. vivax* Wonosobo. Dalam hal ini sangat perlu penelusuran yang lebih mendalam pada kasus ini, terutama terkait informasi status kasus, dan asal wilayah kasus bila kasus ini dipastikan sebagai malaria impor.

Penggunaan gen CSP (VCS) sebagai marker genetik dalam mengkarakterisasi genotipe isolat *P. vivax* antar wilayah geografis berbeda, yakni antara isolat dari kabupaten berbatasan langsung di wilayah Bukit Menoreh (Kulon Progo – Purworejo – Magelang) dengan kabupaten yang tidak berbatasan langsung, tampak dapat memisahkan isolat ke dalam klaster berbeda, terutama daerah yang terisolasi secara jarak. Temuan ini mengindikasikan bahwa karakterisasi genetik berdasar gen CSP dapat bermanfaat dalam membedakan suatu kasus sebagai kasus impor atau indigenus, bilamana data dasar genotipe isolat *Plasmodium* sp di Indonesia telah tersedia.

Indonesia sebagai negara yang menuju eliminasi malaria tahun 2030 penting tersedia data dasar genotipe *Plasmodium* sp yang bersirkulasi di kabupaten/kota yang masih terdapat kasus malaria, baik malaria indigenus maupun malaria impor. Hal ini berguna di

saat Indonesia telah mencapai eliminasi, dan diperlukan upaya penegakkan diagnosa kasus impor. Penetapan kasus impor yang hanya berdasar informasi riwayat perjalanan sering mengalami kendala. Oleh karena itu penting dukungan data molekuler genotipe *Plasmodium* sp di Indonesia.

BBTKLPP Yogyakarta telah menginisiasi kajian karakterisasi genetik *P. falciparum* dan *P. vivax* di 4 kabupaten di DIY dan Jateng. Sampel yang digunakan dalam kajian ini masih sangat terbatas. Untuk mendapatkan data yang lebih banyak maka kegiatan kajian ini perlu dilakukan secara terus menerus (surveilans), tidak hanya untuk kabupaten/kota di DIY dan Jawa Tengah, melainkan juga perlu replikasi pada kabupaten/kota di seluruh provinsi. Kajian molekuler karakter genetik *Plasmodium* sp dapat diintegrasikan dengan kegiatan surveilans kasus malaria secara mikroskopis yang berjalan selama ini. Sebagai upaya awal, setiap kasus suspek yang ditemukan perlu dilakukan pengambilan sediaan darah jari secara lengkap, yakni dalam bentuk slide hapus tipis dan tebal, juga dalam bentuk DBS, terutama untukantisipasi agar tidak ada sampel yang terlewat bilamana diperlukan data genotipe. Surveilans molekuler pada agent malaria dapat dilaksanakan terintegrasi pada kegiatan surveilan sentinel malaria, melalui kerjasama Dinas Kesehatan Kabupaten/Kota atau Dinas Kesehatan Provinsi dengan Balai/Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat terdekat di wilayah setempat.

Unit utama, dalam hal ini Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, terkhusus Tim Kerja Penyakit Tular Vektor, dan Direktorat Jenderal terkait – Direktorat Jenderal Kesehatan masyarakat (Ditjen Kesmas) perlu menginisiasi kajian serupa untuk provinsi lain di Indonesia. UPT Ditjen. P2P atau Ditjen Kesmas yang ada di daerah, dalam hal ini Balai/Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat (B/BB Labkesmas) yang memiliki sumber daya memadai, baik sumber daya manusia, peralatan, dan teknologi dalam pemeriksaan dan analisis data secara molekuler dapat dioptimalkan dalam pelaksanaan kajian ini. Bila di semua daerah malaria telah dilakukan surveilans molekuler agent malaria maka akan tersedia basis data nasional genotipe *Plasmodium* sp yang bersirkulasi di Indonesia. Data yang dihasilkan harus dimasukkan ke *GenBank* agar semua pihak yang berkepentingan dapat mengakses data tersebut. Juga menjadi bukti bahwa di Indonesia telah dilakukan kegiatan pemetaan genotipe, sebagaimana disyaratkan dalam Kepmenkes nomor 293 Tahun 2009 tentang Eliminasi Malaria di Indonesia. Data hasil kajian ini akan kurang manfaatnya bila tidak didaftarkan pada *GenBank*. Sebagaimana diketahui bahwa sampai saat ini sangat kurang ketersediaan data genotipe isolat *Plasmodium* sp dari Indonesia pada *GenBank*.

Ketersediaan data genotipe *Plasmodium* sp di setiap daerah endemis pada *GenBank* tidak hanya berguna bagi daerah setempat dalam membedakan apakah *Plasmodium* sp yang menginfeksi penderita di wilayahnya merupakan strain *Plasmodium* setempat atau

bukan, melainkan juga unit utama. Ketersediaan data genotipe *Plasmodium sp* di seluruh provinsi endemis pada GenBank sangat berguna, terutama saat Indonesia berada dalam fase pemeliharaan maka akan lebih mudah menegakkan adanya kasus impor dari negara lain, misalnya negara China yang dapat menegakkan kejadian kasus malaria *P. vivax* yang ada di wilayahnya adalah bukan malaria *indigenus* melainkan kasus malaria impor dari Indonesia, dengan berdasarkan ketersediaan data genotipe *P. vivax* pada negara mereka dan data genotipe *P. vivax* Indonesia yang ada pada GenBank³.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kasus malaria pada kajian karakterisasi genetik *Plasmodium sp* di kabupaten berbatasan wilayah langsung (Kulon Progo, Purworejo, Magelang) dengan kabupaten tidak berbatasan langsung (Wonosobo) di kawasan Bukit Menoreh tahun 2022 sebagian besar merupakan malaria infeksi tunggal, baik oleh *P. falciparum* maupun oleh *P. vivax*. Hanya sebagian kecil oleh infeksi campuran, yakni oleh *P. falciparum* dan *P. vivax*.

Berdasar karakteristik gen MSP1, isolat *P. falciparum* antar tiga kabupaten berbatasan wilayah langsung di Bukit Menoreh, yakni Kulon Progo, Purworejo dan Magelang memiliki kekerabatan genetik yang lebih dekat dibanding dengan isolat dari kabupaten yang tidak berbatasan langsung, yakni Wonosobo. Namun pada sebagian isolat *P. vivax* Wonosobo juga memiliki kekerabatan genetik yang dekat dengan isolat Kulon Progo, meski kedua wilayah tidak berbatasan langsung.

Agar ketersediaan data karakteristik genetik (genotipe) gen MSP1 pada *P. falciparum*, dan gen CSP (VCS) pada *P. vivax* di kabupaten berbatasan langsung dan tidak berbatasan langsung di kawasan Bukit Menoreh dan sekitarnya, termasuk kabupaten/kota yang lain di DIY dan Jawa Tengah serta provinsi lain di Indonesia semakin lengkap, sebagai data dasar eliminasi, perlu replikasi kegiatan karakterisasi genetik *Plasmodium sp* di kabupaten dengan variasi kondisi geografis, yang terintegrasi dalam kegiatan surveilans sentinel malaria.

DAFTAR PUSTAKA

1. Helen DP. Update Situasi, Capaian, dan Strategi Eliminasi Malaria tahun 2030. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2022.
2. Kemenkes RI. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 293/Menkes/SK/IV/2009 Tentang Eliminasi Malaria di Indonesia. 2009.
3. Liu Y, Zhang HW, Zhou RM, Yang CY, Qian D, Zhao YL, Xu BL. First Imported Relapse Case of *Plasmodium vivax* Malaria and Analysis of Its Origin by CSP Sequencing in Henan Province, China. *Malaria Journal* 13:4. 2014.
4. Achmadi UF. Manajemen Penyakit Berbasis Wilayah. Universitas Indonesia (UI-Press). 2008.

5. Kemenkes RI. Petunjuk Teknis Pelaksanaan Penyelidikan Epidemiologi Kasus Malaria dan Pemetaan wilayah Fokus (Daerah eliminasi dan pemeliharaan). Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tular Vektor dan Zoonotik, Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit. 2017.
6. Brockman A. Genotypic Analysis of *P. falciparum* from Malaria Field Samples by the Polymerase Chain Reaction. Identification of recrudescence infections of *P. falciparum* ver 2.2 March 2006.
7. Etemadi S, Nateghpour M, Haghi AM, Eslami H, Mohebbi M, Setayesh N, Farivar L, Teimouri A. Genotyping and Phylogenetic Analysis of Plasmodium vivax Circum Sporozoite Protein (PvCSP) Gene of Clinical Isolates in South-Eastern Iran. *Iran J Public Health*, Vol. 49, No. 5. Pp 981-988. 2020.
8. Sardjono TW, Fitri LE. *Kupas Bahas Ringkas tentang Malaria*. UB Press. 2019.

PANDUAN BAGI PENULIS BULETIN EPIDEMIOLOGI BBTKLPP YOGYAKARTA

Ketentuan Umum

1. Naskah ditulis dalam Bahasa Indonesia sesuai dengan Format yang ditentukan, minimal 8 halaman, maksimal 15 halaman.
2. Naskah tersebut belum pernah diterbitkan di media lain yang dibuktikan dengan pernyataan tertulis yang ditandatangani oleh penulis utama bahwa naskah tersebut belum pernah dipublikasikan. Pernyataan tersebut dilampirkan pada naskah.
3. Naskah dikirim dalam bentuk *softcopy*.
Softcopy dikirim via e-mail ke bidangsebbtklppjogja@gmail.com atau menyerahkan kepada :
Redaksi Buletin Epidemiologi Bidang Surveilans Epidemiologi BBTKLPP Yogyakarta Jl. Imogiri Timur No. 7 (Km 7,5), Botokenceng, Wirokerten, Banguntapan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta 55191, Telp (0274) 371588 (Hunting), 4295270, Fax (0274) 4295271.

Standar Penulisan:

1. Arial berukuran 11 point; margin kiri, kanan, atas, dan bawah masing-masing 2,5 cm.
2. Halaman tidak perlu diberi nomor.

Urutan Penulisan Naskah:

**JUDUL SINGKAT, JELAS, INFORMATIF
(HURUF KAPITAL, 12 PT ARIAL, CENTER, BOLD, SPASI 1, MAKSIMAL 20 KATA)**

Nama penulis lengkap tanpa gelar akademis (11 pt, Arial, center, 1 spasi)

ABSTRAK

Latar Belakang: Latar belakang masalah dituliskan dengan singkat dan jelas

Tujuan: Tujuan umum

Metode: Berisi jenis penelitian, tempat dan waktu penelitian, sasaran dan target, subyek penelitian, bahan dan alat, cara pengumpulan data, dan cara pengolahan/analisis data.

Hasil: Menyajikan uraian hasil penelitian sendiri dan deskripsi hasil penelitian disajikan secara jelas.

Kesimpulan dan Saran: Memuat ringkasan hasil penelitian dan jawaban atas tujuan penelitian.

Abstrak ditulis tidak lebih dari 250 kata (11 pt, Arial, justify, 1 spasi)

Kata Kunci: maksimal 5 kata (dua spasi setelah paragraf terakhir abstrak 11 pt, Arial, italic).

PENDAHULUAN (HURUF KAPITAL, 11 PT ARIAL, ALIGN LEFT, BOLD)

Berisi latar belakang, rumusan masalah, tujuan, serta pustaka pendukung (11 pt Arial, 1,5 spasi, justify). Jika mengutip pendapat orang lain, dicantumkan sitasi dengan membuat nomor rujukan atau referensi dengan penomoran, mengikuti *Vancouver style*. Contoh: (1). Sumber rujukan harus masuk dalam daftar pustaka.

METODOLOGI PENELITIAN (HURUF KAPITAL, 11 PT ARIAL, ALIGN LEFT, BOLD)

Berisi jenis penelitian, tempat dan waktu penelitian, sasaran dan target, subyek penelitian, bahan dan alat, cara pengumpulan data, dan cara pengolahan/analisis data (11 pt Arial, 1,5 spasi, justify).

HASIL DAN PEMBAHASAN (HURUF KAPITAL, 11 PT ARIAL, ALIGN LEFT, BOLD)

Menyajikan uraian hasil penelitian sendiri. Deskripsi hasil penelitian memuat utamanya diskusi tentang hasil penelitian disajikan secara jelas (11 pt Arial, 1,5 spasi, justify).

1. Judul tabel, grafik, histogram, sketsa, dan gambar (foto diberi nomor urut, judul singkat tetapi jelas beserta satuan-satuan yang dipakai. Judul ilustrasi ditulis dengan menggunakan huruf Arial berukuran 10 point, setiap awal kata menggunakan huruf kapital, dengan jarak satu spasi.
2. Keterangan tabel ditulis di atas menggunakan huruf Arial berukuran 10 point, jarak satu spasi.
3. Keterangan gambar/grafik ditulis di bawah menggunakan huruf Arial berukuran 10 point, jarak satu spasi.
4. Penulisan angka desimal dalam tabel (Bahasa Indonesia) dipisahkan dengan koma (,), Nama *Latin*, *Yunani* atau *Daerah* dicetak miring, dan *istilah asing* dicetak miring.
5. Foto/gambar berukuran 4 R berwarna atau hitam putih dan harus tajam.
6. Satuan pengukuran menggunakan Sistem Internasional (SI).

Tabel 1. Judul tabel, huruf awalnya besar tanpa titik di akhir judul tabel

No	Baris ini	Italic
1	jika tidak mencukupi, dapat mengecilkan ukuran huruf sampai 8 points.	Font isi tabel regular

Usahakan tabel tidak terpotong pada halaman yang berbeda, kecuali jika besarnya melebihi satu halaman. Jika harus terpotong, jangan lupa tulis ulang *header row* untuk setiap kolomnya, diberi nomor urut tabel yang sama, dan judul diganti dengan *Lanjutan*. Judul tabel tidak diakhiri dengan titik. Tabel tidak perlu menggunakan garis vertikal (tanpa *gridline*, tanpa *outer border*)

Seperti halnya tabel, setiap gambar diberi nomor urut dan judul. Buang garis atau tampilan yang tidak perlu agar data lebih terbaca.

Jika mengutip pendapat orang lain, dicantumkan sitasi dengan membuat nomor rujukan atau referensi, mengikuti *Vancouver style*. Contoh: (1). Sumber rujukan harus masuk dalam daftar pustaka.

KESIMPULAN DAN SARAN (HURUF KAPITAL, 11 PT, ARIAL, ALIGN LEFT, BOLD)

Memuat ringkasan hasil penelitian dan jawaban atas tujuan penelitian (11 pt Arial, 1,5 spasi, justify).

DAFTAR PUSTAKA (HURUF KAPITAL, 11 PT ARIAL, ALIGN LEFT, BOLD, 1 SPASI)

1. Hanya memuat referensi yang diacu dalam naskah dan ditulis sesuai nomor/urutanmu cul di tulisan dengan mengacu pada sistem penulisan pustaka *Vancouver*
2. Referensi/rujukan diambil maksimal 10 tahun terakhir dengan proporsi pustaka primer (jurnal) minimal 80 %.



KEMENTERIAN
KESEHATAN
REPUBLIK
INDONESIA

**Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit
(BBTKLPP) Yogyakarta**

Jl. Imogiri Timur Km. 7,5, Grojogan, Wirokerten, Kec. Banguntapan, Kabupaten Bantul,
Daerah Istimewa Yogyakarta, 55194

Telp (0274) 371588 (Hunting), 443283. Fax (0274) 443284.
E-mail : info@btkjogja.or.id ; Website.btkjogja.or.id

