BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Leptospirosis merupakan zoonosis yang tersebar luas di dunia dan dapat berpotensi menjadi wabah yang berdampak signifikan bagi kesehatan. Leptospirosis dapat terjadi pada paparan langsung atau tidak langsung dari hewan yang terkontaminasi atau urinnya, terutama di daerah dengan tanah basa dan kondisi iklim yang mendukung (Siauw E.W et al., 2022).

Leptospirosis adalah penyakit demam akut, yang secara luas dikenal sebagai penyakit yang muncul atau muncul kembali. Di daerah tropis dan sub- tropis, penyakit ini bersifat endemis, dan paparan terhadap infeksi tersebar luas. Di daerah beriklim sedang, penyakit ini terutama merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh pekerjaan atau rekreasi, sebagaimana dibuktikan oleh wabah besar baru-baru ini di Amerika Serikat yang dikaitkan dengan berenang selama triathlon (Sandhia D et al., 2021).

Penularan leptospirosis pada manusia oleh hewan yang terinfeksi, biasanya masuk melalui konjungtiva atau kulit yang terluka. Risiko infeksi bergantung pada faktor perilaku yang meningkatkan risiko pajanan, serta faktor lingkungan yang mendorong risiko penularan penyakit secara keseluruhan (Samrot et al., 2021). Leptospirosis dianggap sebagai penyakit akibat kerja, dan dikaitkan dengan kegiatan seperti pekerjaan pertambangan, pemeliharaan selokan, peternakan dan pemotongan hewan, kedokteran hewan, dan Latihan militer.

Pada bulan Maret dilaporkan temuan 393 kasus leptospirosis dan mengakibatkan 42 orang meninggal dari 6 provinsi di Indonesia, paling banyak terdapat di Provinsi Jawa Timur. Di Sulawesi Selatan juga dilaporkan temuan 8 kasus leptospirosis dan 1 penderita meninggal dunia di daerah Pangkep, Sulawesi Selatan (Kemenkes RI, 2023).

Kelompok pekerjaan yang memiliki faktor risiko terpapar leptospirosis adalah petani atau pekerja perkebunan, petugas *pet shop*, peternak, petugas pembersih saluran air, pekerja pemotongan hewan, pengolah daging dan tentara militer (Ningsih and Wahid., 2022). Dengan kendala gejala klinis yang tidak spesifik sehingga sulit dibedakan dengan penyakit lain misalnya demam berdarah, malaria, meningitis atau demam tifoid dan juga terkendala fasilitas untuk melakukan uji laboratorium, mengakibatkan leptospirosis sulit untuk dikonfirmasi (Verma *et al.*, 2020).

Tes diagnostik cepat Leptospirosis adalah uji untuk mendeteksi antibody IgM/IgG terhadap bakteri *Leptospira sp.* dalam serum manusia, plasma atau spesimen darah lengkap, tes ini memungkinkan skrining dan diagnosis cepat pasien

yang diduga menderita leptospirosis secara cepat. Tes diagnostic cepat leptospirosis dapat digunakan di pelayanan kesehatan yang tidak memerlukan peralatan laboratorium khusus atau personel terlatih. Pengujian ini (diuji dalam kondisi epidemiologis dan klinis yang berbeda) menunjukkan sensitivitas, spesifisitas, dan nilai prediktif yang tinggi (Gillaine et. al., 2022).

Pemeriksaan ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) dapat digunakan untuk mendiagnosis leptospirosis dengan mendeteksi IgM dan IgG spesifik *Leptospira sp.* dari serum pasien yang terinfeksi serovar *Leptospira* yang berbeda (Obregón et al., 2020). Menurut sebuah studi antibodi IgM dan IgG spesifik yang dapat dideteksi oleh ELISA, bahkan dengan titer antigen yang rendah dalam serum darah pasien. Hanya beberapa subjek yang memiliki aglutinin IgG sedangkan semuanya menghasilkan aglutinin IgM. Spesifisitas dan sensitivitas tes menunjukkan bahwa teknik ELISA anti-IgM adalah metode yang cocok untuk mendeteksi antibodi *Leptospira* sp.dalam serum untuk tujuan diagnostik dan epidemiologis (Niloofa et al., 2015; Rosa et al., 2017).

Penelitian mengenai leptospirosis ini maupun penelitian mengenai besarnya angka kejadian leptospirosis pada manusia khususnya di kota Makassar menjadi perhatian peneliti untuk mengetahui lebih lanjut mengenai insidensi penyakit ini terutama pada orang-orang dengan risiko tinggi terinfeksi leptospirosis yang asimtomatik. Oleh karena itu, penelitian ini akan menjadi data awal mengenai adanya infeksi bakteri *Leptospira sp.* pada pasien dengan gejala demam di Puskesmas Kota Makassar.

1.2. Rumusan Masalah

Leptospirosis adalah zoonosis yang ditularkan dari binatang ke manusia, banyak terjadi pada musim hujan dengan mortalitas tinggi akibat diagnosis klinis tidak spesifik sehingga perlu diagnosis laboratorium yang cepat dan tepat untuk menurunkan angka kematian.

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka masalah penelitian ini adalah**:** "Apakah *Leptospira sp.* Dapat Diidentifikasi Secara Serologis Pada Penderita Demam Yang Dirawat Inap Di Beberapa Puskesmas Di Kota Makassar?"

1.3. Pertanyaan Penelitian

1. Apakah terdapat *Leptospira* patogenik pada darah penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Kota Makassar menggunakan metode *Leptospira* IgM/IgG?
2. Apakah terdapat *Leptospira* patogenik pada darah penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Kota Makassar menggunakan pemeriksaan serologi IgM ELISA?
3. Bagaimanakah distribusi penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar, berdasarkan jenis kelamin?

4. Bagaimanakah distribusi penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar, berdasarkan risiko pekerjaan?
5. Bagaimanakah distribusi penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar, berdasarkan risiko kebiasaan hidup?
6. Bagaimanakah distribusi penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar, berdasarkan risiko tempat tinggal?

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Untuk mendeteksi genus dan spesies *Leptospira p*ada darah penderita demam yang dirawat inap di beberapa puskesmas di kota Makassar dengan menggunakan metode Lepto Dipstick dan ELISA.

1.4.2 Tujuan Khusus.

1. Untuk bisa mengidentifikasi genus *Leptospira* pada darah penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar menggunakan metode tes diagnostic cepat dan ELISA.
2. Untuk bisa mendistribusi penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar, berdasarkan kelompok usia.
3. Untuk bisa mendistribusi penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar, berdasarkan jenis kelamin.
4. Untuk bisa mendistribusi penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar, berdasarkan risiko pekerjaan.
5. Untuk bisa mendistribusi penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar, berdasarkan risiko kebiasaan hidup.
6. Untuk bisa mendistribusi penderita demam yang dirawat inap di beberapa Puskesmas di Makassar, berdasarkan risiko tempat tinggal

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Akademik

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan penelitian selanjutnya tentang Leptospirosis di Kota Makassar.

1.5.2 Manfaat untuk Instansi Kesehatan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat:

1. Digunakan oleh petugas kesehatan sebagai bahan promosi untuk pengendalian leprospirosis sehingga angka kejadian dan kematian akibat leptospirosis dapat diturunkan.
2. Memberikan informasi kepada klinisi untuk tidak melupakan leptospirosis sebagai penyebab demam pada penderita, terutama pada musim hujan.

1.5.3 Manfaat untuk Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengalaman meneliti dan menulis bagi peneliti

1.6 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah tentang identifikasi *Leptospira spp.* pada darah penderita dengan demam.

1.7 Keterbaruan Penelitian

Penelitian tentang leptospirosis di Indonesia masih kurang dikarenakan gejala klinis yang tidak spesifik, karenanya melalui penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan data angka kejadian leptospirosis pada penderita demam di beberapa Puskesmas Kota Makassar.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Leptospirosis

2.1.1 Definisi Leptospirosis

Leptospirosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh bakteri spirochetes dari genus *Leptospira* dengan distribusi yang luas di seluruh dunia, yang hidup di ginjal inang alami mereka dengan manifestasi klinis berkisar dari asimtomatik hingga penyakit berat dengan kemungkinan hasil yang fatal. Manusia dapat terinfeksi melalui kontak dengan urin hewan atau lingkungan yang terkontaminasi urin hewan. Konjungtiva, kulit yang terluka, makanan dan minuman yang terkontaminasi urin tikus yang mengandung *Leptospira* merupakan jalan masuk *Leptospira* ke tubuh manusia. Presentasi klinis berkisar dari penyakit seperti flu ringan hingga penyakit berat dengan kemungkinan hasil yang fatal (Mahon and Lehman, 2019; Riedel *et al.*, 2019)

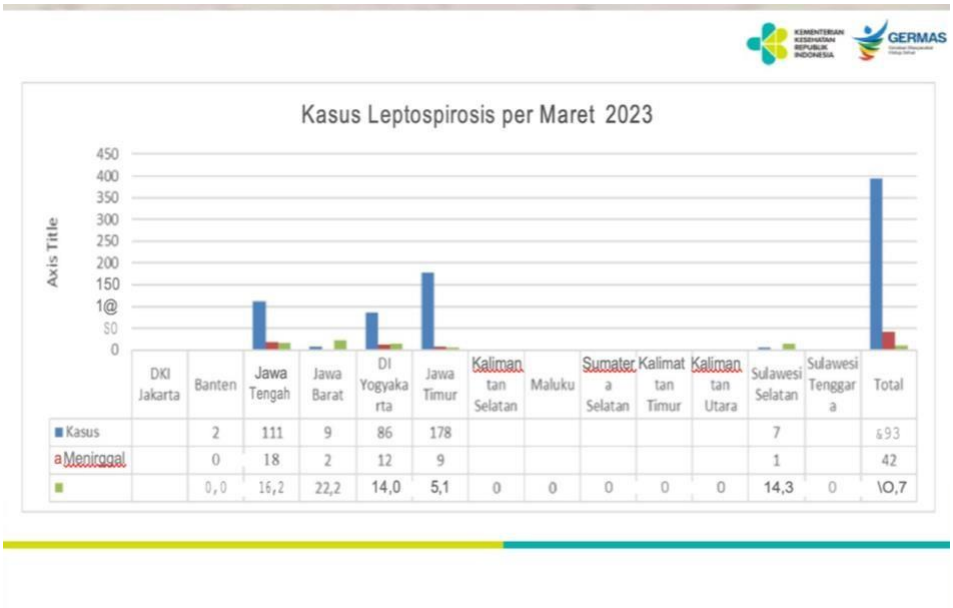
Diperkirakan lebih dari satu juta kasus leptospirosis dilaporkan setiap tahunnya di seluruh dunia, dan lebih dari 70% dari kasus berasal dari negara tropis dan subtropis terutama yang memiliki iklim hujan lembab (Jiménez *et al.*, 2018)

2.1.2 Epidemiologi

Leptospirosis merupakan masalah medis dan kedokteran hewan yang penting dan dianggap sebagai zoonosis yang terutama terkait dengan paparan pekerjaan atau rekreasi. Bekerja dengan hewan atau di lingkungan yang dipenuhi tikus menimbulkan bahaya bagi dokter hewan, pekerja susu, penangan babi, pekerja rumah jagal, penambang, pekerja saluran pembuangan, dan pengolah ikan dan unggas. Di Amerika Serikat, sebagian besar kasus leptospirosis hasil dari eksposur pasca rekreasi. Leptospirosis berhenti menjadi penyakit yang dapat dilaporkan secara nasional pada tahun 1995 tetapi dipulihkan kembali pada Januari 2013. Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit (CDC) memperkirakan bahwa 100 hingga 200 kasus leptospirosis terjadi setiap tahun di Amerika Serikat, dan 50% dari kasus tersebut terjadi di Hawaii. Kasus kemungkinan tidak diakui secara nasional dan tidak dilaporkan (Mahon and Lehman, 2019).

Dari tahun 2016-2020, ada 21 negara Eropa yang melaporkan kasus leptospirosis. Di tahun 2016 ditemukan 783 kasus Leptospirosis, tahun 2017 mengalami peningkatan menjadi 932 kasus, tahun 2019 meningkat menjadi 1049 kasus. Tetapi di tahun 2020 kasus yang ditemukan menurun menjadi 565. Negara Jerman merupakan negara dengan jumlah wabah tertinggi di negara Eropa, diikuti oleh Perancis (European Centre for Disease Prevention and Control., 2022)

Sedangkan di Indonesia, ada sebanyak 1408 kasus Leptospirosis yang dilaporkan pada tahun 2022, dengan *case fatality rate* sebanyak 9,87% (139 kasus). Jumlah tersebut mengalami peningkatan dibandingkan tahun 2019-2021. Di Sulawesi Selatan dilaporkan terjadi *outbreak* di Kabupaten Pangkep pada bulan Maret 2023, sebanyak 8 kasus Leptospirosis dilaporkan dan 1 penderita meninggal dunia (Kemenkes RI, 2023).



	DKI Jakarta	Banten	Jawa Tengah	Jawa Barat	DI Yogyakarta	Jawa Timur	Kalimantan Selatan	Maluku	Sumatera Selatan	Kalimantan Timur	Kalimantan Utara	Sulawesi Selatan	Sulawesi Tenggara	Total
Kasus		2	111	9	86	178						7		693
aMeninggal		0	18	2	12	9						1		42
		0,0	16,2	22,2	14,0	5,1	0	0	0	0	0	14,3	0	\O,7

Gambar 2.1. Kasus Leptospirosis di beberapa provinsi di Indonesia
Sumber: (Kemenkes RI, 2023).

2.1.3 Faktor risiko Leptospirosis

Faktor risiko Leptospirosis meliputi kondisi yang ada pada individu (misalnya riwayat, usia, jenis kelamin dan keluarga) dan kebiasaan (perilaku hidup sehari-hari) yang lebih umum diantara orang yang terkena Leptospirosis dibandingkan orang yang tidak terjangkit Leptospirosis. Secara epidemiologik bahwa penyakit dipengaruhi oleh tiga faktor utama yaitu pertama faktor agent penyakit yang berkaitan dengan penyebab (jumlah, virulensi, patogenitas kuman *Leptospira*), faktor kedua yang berkaitan dengan faktor host (pejamu/tuan rumah/penderita) termasuk di dalamnya adalah keadaaan kebersihan perorangan, keadaan gizi, usia, taraf pendidikan, jenis pekerjaan, sosial ekonomi, dll. Faktor ketiga adalah lingkungan fisik (selokan tidak terawat, banyak genangan air) lingkungan biologic (banyaknya populasi tikus di dalam atau sekitar rumah), hewan peliharaan sebagai hospes perantara), lingkungan sosial ekonomi (jumlah pendapatan), lingkungan budaya (Goarant, 2016).

Faktor Risiko berdasarkan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pencegahan Dan Pengendalian Penyakit:

1. Kejadian Leptospirosis menurut umur dan jenis kelamin

Kasus Leptospirosis terbanyak pada usia 15-69 tahun. Kasus Leptospirosis pada anaka jarang dilaporkan, karena tidak terdiagnosis atau manifestasi klinis yang berbeda dengan orang dewasa. Laki-laki dan perempuan memiliki peluang yang sama tertular Leptosipirosis (Kemenkes RI, 2017).

2. Kejadian Leptospirosis menurut pekerjaan

Infeksi pada manusia bisa di dapat melalui pekerjaan, aktivitas di luar pekerjaan, rekreasi, kegemaran orang yang bekeria atau melakukan aktivitas di lingkungan yang berhubungan dengan tikus atau lingkungan yang tercemart urin tikus terinfeksi, maka orang tersebut mempunyai risiko terinfeksi. Pekerja laboratorium yang berhubungan dengan pertanian atau binatang, pekerja peternakan, pekerja perkebunan kart, pekerja abbatoir, pengolahan ikan dan unggas, jagal, penggali selokan, pekerja selokan, petani, pekerja pasar, dokter hewan, pekerja tambang, pekerja hewan, pengelola sampah di daerah endemis Leptospirosis. Kontak dengan air, lumpur, tanah maupun rumput yang tercemari urin tikus terinfeksi, saat latihan militer, rekreasi seperti berenang, hiking, kamping, berburu, memancing, berkebun dan penggunaan air tanah hujan, serta berjalan disekitar rumah tapa alas kaki mempunyai risiko tinggi untuk tertulari Leptospira (Kemenkes RI, 2017).

3. Faktor Risiko Kejadian Leptospirosis menurut kebiasaan penderita host/penjamu

Beberapa faktor vang merupakan faktor risiko kejadian LeptospirosIs menurut kebiasaan seperti kebiasaan aktifitas ditempat berair dengan kondist adanva luka di badan. kebiasaan tidak merawat luka dengan baik di daerah banyak genangan air juga merupakan faktor risiko Leptospirosis. Kebiasaan tidak memakai alas kaki, kebiasaan mandi di sungai, perilaku hidup bersih yang kurang baik seperti keberadaan sampah di dalam rumah dan kurang pengetahuan tentang Leptospirosis (Kemenkes RI, 2017).

4. Kejadian Leptospirosis menurut keberadaan tikus di rumah

Faktor risiko kejadian Leptospirosis yang penting adalah keberadaan tikus didalam rumah dan lingkungan di sekitar rumah. Tikus merupakan hewan penular utama Leptospirosis (lebih dari 50%). Berdasarkan referensi penelitian sebelumnya bahwa adanya tikus di dalam rumah mempunyai risiko 4 kali lebih tinggi terkena leptospirosis (Dewi, Rahardjo and Murti, 2020). Jens tikus yang sering sebagai reservoar terjadinva Leptospirosis adalah tikus riul (*R. norvegicus*), tikus rumah (*R.*

diardi), tikus kebun (*R. exulans*) celurut rumah (*Suncus murinus*). Disamping keberadaan binatang disekitar rumah juga merupakan faktor risiko seperti anjing, kucing, kambing, sapi dan lain-lain (Kemenkes RI, 2017)

5. Kejadian Leptospirosis menurut keberadaan hewan ternak/piaraan

Di sebagian besar negara tropis termasuk negara berkembang kemungkinan paparan Leptospirosis terbesar pada manusia karena terinfeksi dari binatang ternak, binatang rumah, maupun binatang liar. Di Salem distrik di Tanil Nadu India, pada bulan Oktober tahun 2000 dilaporkan adanya seorang pekerja di pegilingan padi yang lingkungannya banyak binatang ternak, anjing, tikus, dan kucing menderita Leptospirosis, setelah dilakukan pemeriksaan MAT terhadap hewan- hewan tersebut didapatkan 12 dari 23 (52, 1%) tikus, 6 dari 9 (66, 6%) kucing, 2 dari 4 (50%) anjing, 18 dari 34 (52, 9%) hewan ternak test MAT positif (Natarajaseenivasan *et al.*, 2002; Kemenkes RI, 2017)

6. Kejadian Leptospirosis menurut Lingkungan abiotik dan biotik

Kondisi lingkungan dapat merupakan faktor risiko timbulnya Leptospirosis. seperti di daerah rawan banjir, daerah kumuh, persawahan/perkebunan dan tempat rekreasi (kolam renang, danau). Dari beberapa referensi penelitian diketahui beberapa faktor risiko di lingkungan rumah dengan kondisi rumah tidak sehat, lingkungan tanah becek banyak genangan air, selokan dekat rumah yang tidak mengalir, sampah sekitar rumah yang tidak dikelola. *Leptospira* dapat bertahan hidup di lingkungan yang ber pH mendekati netral (6,8 - 74). Curah hujan secara tidak langsung dapat di kaitkan dengan angka kejadian *Leptospira*, hal ini karena curah hujan yang tinggi dapat mengakibatkan terjadinya banjir dan adanva genangan air vang dapat merupakan faktor risiko Leptospirosis. *Leptospira* dapat hidup berbulan-bulan dalam lingkungan yang hangat (22 ^{o}C) dan pH relatif netral (pH 6, 2-8). Bila di air dan lumpur yang paling cocok untuk bakteri *Leptospira* adalah dengan pH antara 7.0-7.4. Temperatur antara 28 ^{0}C-30 ^{0}C. Bakteri ini dapat hidup dalam air yang mengenang Karakteristik air pada sawah yang cocok untuk bakteri *Leptospira* adalah air vang menggenang dengan ketinggian 5-10 cm dan pH antara 6,7-8,5 (Kemenkes RI, 2017).

Orang Dengan Risiko Tinggi: (Goarant, 2016)

Tukang perahu, rakit rambu, pemulung	Peternak, pemeliharaan hewan dan dokter hewan yang terpajan karena menangani ternak atau hewan, terutama saat memerah susu, menyentuh hewan mati, menolong hewan melahirkan, atau kontak dengan bahan lain seperti plasenta dan cairan amnion dan bila kontak dengan percikan infeksius saat hewan berkemih
Yang mencuci atau mandi di sungai atau danau	Pekerja tambang

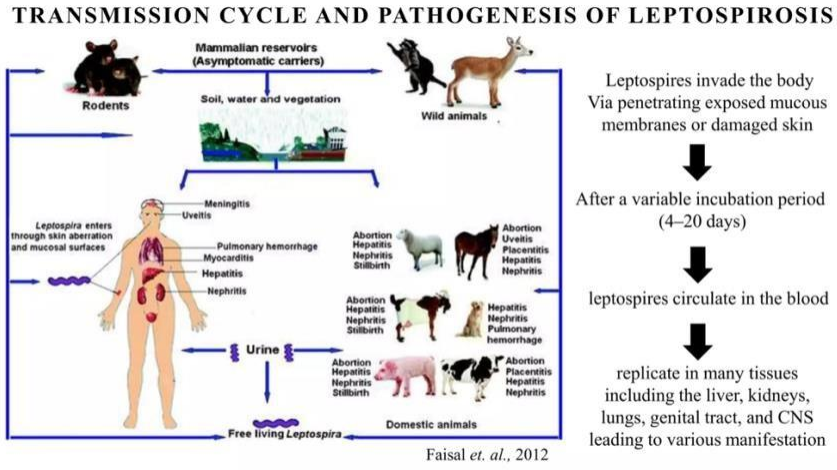
Tukang kebun atau pekerjaan di perkebunan	Pemancing ikan, pekerja tambak atau ikan tawar
Petani tanpa alas kaki di sawah	Anak-anak yang bermain di taman, genangan air hujan atau kubangan
Pembersih selokan	Yang berekreasi di air tawar: berenang, arum jeram dan olah raga air lain, trilomba juang (triathlon), memasuki gua, mendaki gunung
Pekerja potong hewan, tukang daging yang terpajan saat memotong hewan	

2.1.4 Penyebab Leptospirosis

Leptospirosis disebabkan oleh genus *Leptospira*, dari famili Leptospiraceae, ordo Spirochaetales, suatu mikroorganisme spirochaeta (Sampedro and de Asís Ramirez, 2022).

2.1.5 Penularan Leptospirosis

Di Indonesia, penularan paling sering terjadi melalui tikus pada kondisi banjir. Keadaan banjir menyebabkan adanya perubahan lingkungan seperti banyaknya genangan air, berlumpur, serta banyak timbunan sampah yang menyebabkan mudahnya bakteri *Leptospira* berkembang biak. Urin tikus terbawa banjir kemudian masuk ke tubuh manusia melalui permukaan kulit yang terluka, selaput lendir mata dan hidung. Tikus merupakan reservoar dan penyebar utama leptospirosis karena bertindak sebagai inang alami dan memiliki daya reproduksi tinggi (Ningsih and Wahid., 2022). Urin tikus terbawa banjir kemudian masuk ke dalam tubuh manusia melalui permukaan kulit yang terluka, selaput lendir mata dan hidung, dapat juga melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi urin tikus yang terinfeksi *Leptospira* (Steneroden, Hill and Salman, 2011).



GAMBAR 2.2. Siklus penularan Leptospirosis.
Sumber: (Faisal, McDonough and Chang, 2012)

Leptospirosis tidak menular langsung dari pasien ke pasien. Masa inkubasi leptospirosis berkisar antara 2 hingga 26 hari. Sekali berada di aliran darah, bakteri ini bisa menyebar ke seluruh tubuh dan mengakibatkan gangguan khususnya hati dan ginjal. Saat mikroba masuk ke ginjal, *Leptospira* akan melakukan migrasi ke interstitium (cairan tubuh), tubulus renal, dan lumen tubular ginjal menyebabkan nefritis interstitial (kondisi ginjal yang ditandai oleh pembengkakan di antara tubulus ginjal) dan nekrosis tubular. Jika berlanjut menjadi gagal ginjal biasanya disebabkan karena kerusakan tubulus, hipovolemia (kekurangan volume cairan) karena dehidrasi dan peningkatan permeabilitas kapiler. Gangguan hati tampak nekrosis sentrilobular dengan proliferasi sel Kupffer, ikterus terjadi karena disfungsi hepatoselular (David A Haake and Levett, 2015). *Leptospira* juga dapat menginvasi otot skeletal menyebabkan edema (bengkak), vakuolisasi miofibril dan nekrosis fokal. Pada kasus berat *disseminated vasculitic syndrome* akan menyebabkan kerusakan endotelium kapiler. Dapat terjadi gangguan paru sebagai mekanisme sekunder akibat kerusakan pada alveolar dan vaskular interstitial yang mengakibatkan hemoptoe (batuk darah). *Leptospira* juga dapat menginvasi akuos humor mata yang dapat menetap dalam beberapa bulan, seringkali mengakibatkan uveitis (peradangan pada lapisan tengah mata (uvea) kronis dan berulang. Meskipun kemungkinan dapat terjadi komplikasi yang berat tetapi lebih sering terjadi *self limiting disease* dan tidak fatal. Sejauh ini, respon imun sistemik dapat mengeliminasi bakteri dari tubuh, tetapi dapat pula memicu reaksi inflamasi yang dapat mengakibatkan *secondary end-organ injury* (Mahon and Lehman, 2019).

2.1.6 Patomekanisme Leptospirosis

Setelah *Leptospira* masuk ke dalam tubuh hewan, mereka beredar dalam aliran darah kemudian masuk ke dalam kapiler glomerulular atau pertibular. Bakteri kemudian masuk ke lumen tubulus ginjal dan berkolonisasi. Hal ini menyebabkan bakteri *Leptospira* terikut dalam urin tanpa hewan mengalami efek buruk yang signifikan. Hubungan antara hewan dan bakteri ini dikenal sebagai hubungan komensal, dan hewan ini dikenal sebagai inang reservoir.

Manusia adalah inang *Leptospira* yang tidak disengaja. Bakteri memasuki tubuh manusia melalui kulit atau selaput lendir, kemudian ke aliran darah. Bakteri kemudian menempel pada sel-sel endotel pembuluh darah dan matriks ekstraseluler (jaringan kompleks protein dan karbohidrat hadir di antara sel-sel). Bakteri menggunakan flagela mereka untuk bergerak di antara lapisan sel. Mereka mengikat sel-sel seperti fibroblas, makrofag, sel endotel, dan sel epitel ginjal. Mereka juga mengikat beberapa protein manusia seperti protein komplemen, trombin, fibrinogen, dan plasminogen menggunakan protein *leptospiral immunoglobulin-like* (Lig) permukaan seperti LigB dan LipL32, yang gennya ditemukan di semua spesies pathogen (Picardeau, 2017).

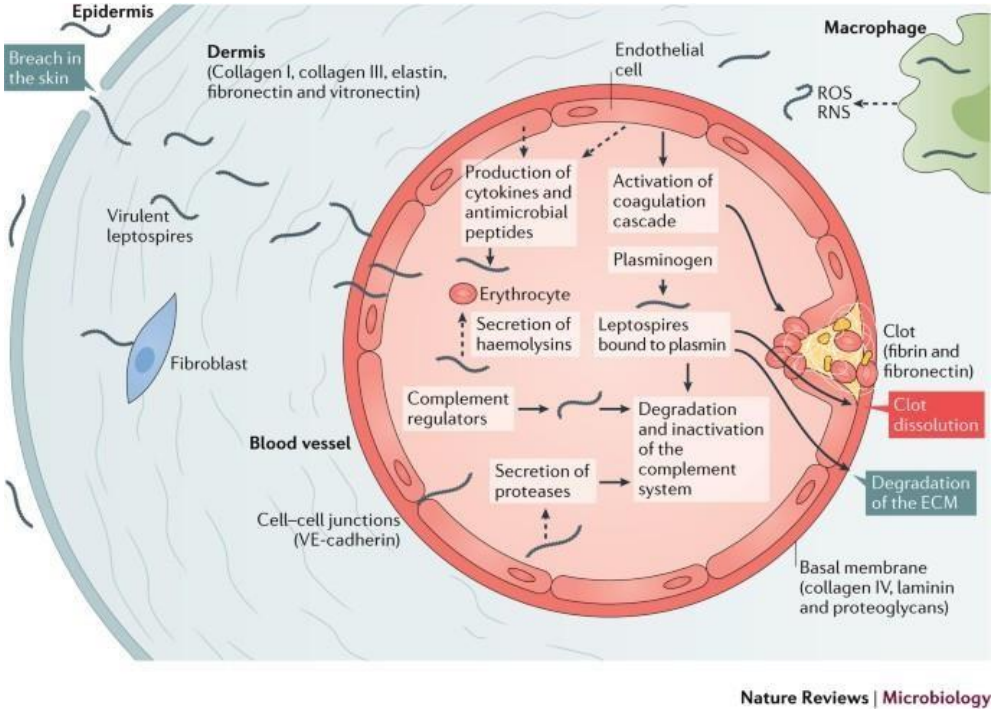
Melalui peptida kekebalan tubuh bawaan, sel-sel endotel kapiler dalam tubuh manusia diaktifkan oleh kehadiran bakteri ini. Sel-sel endotel menghasilkan sitokin dan peptide antimikroba terhadap bakteri. Produk-produk ini mengatur kaskade koagulasi dan pergerakan sel darah putih. Makrofag yang disajikan pada manusia mampu menelan *Leptospira*. Namun, *Leptospira* dapat berada dan berkembang biak dalam matriks sitoplasma setelah dicerna oleh makrofag. Mereka yang menderita leptospirosis parah dapat mengalami sitokin tingkat tinggi seperti interleukin 6, tumor necrosis factor–alpha (TNF–α) dan interleukin–10. Tingkat sitokin yang tinggi menyebabkan gejala seperti sepsis yang mengancam jiwa alih-alih membantu melawan infeksi. Mereka yang memiliki risiko tinggi sepsis selama infeksi leptospirosis ditemukan memiliki, genotype HLA-DQ6 mungkin karena aktivasi superantigen, yang merusak organ tubuh (David A Haake and Levett, 2015).

Leptospira LPS hanya mengaktifkan toll-like receptor 2 (TLR2) pada monosit pada manusia. Molekul lipid A bakteri tidak dikenali oleh reseptor TLR4 manusia. Oleh karena itu, kurangnya pengenalan *Leptospira* oleh reseptor TLR4 mungkin berkontribusi pada proses penyakit leptospirosis pada manusia.

Meskipun ada berbagai mekanisme dalam tubuh manusia untuk melawan bakteri, *Leptospira* beradaptasi dengan baik terhadap kondisi peradangan yang diciptakan olehnya. Dalam aliran darah, dapat mengaktifkan plasminogen inang untuk menjadi plasmin yang memecah matriks ekstraseluler, menurunkan gumpalan fibrin dan protein komplementer (C3b dan C5) untuk menghindari opsonisasi. Ini juga dapat merekrut regulator komplemen seperti Faktor H, protein pengikat C4b, protein pengikat faktor H-like, dan vitronektin untuk mencegah aktivasi kompleks serangan membran pada permukaannya. Ini juga mengeluarkan protease untuk menurunkan protein komplemen seperti C3. Hal ini dapat mengikat trombin

yang mengurangi pembentukan fibrin. Berkurangnya pembentukan fibrin meningkatkan risiko perdarahan (Picardeau, 2017).

.



Gambar 2.3. Patogenesis Leptospirosis
Sumber: (Picardeau, 2017).

Leptospira sp. terbukti ditemukan dalam aliran darah hanya 10 menit setelah menginfeksi hewan uji melalui intra-peritoneal, intradermal dan intra-okular (Wunder *et al.*, 2016; Samrot *et al.*, 2021). Gerakan memutar flagela periplasma memainkan peran penting dalam temuan tersebut, memungkinkan *Leptospira* memasuki aliran darah inang hanya dalam beberapa menit (Fontana *et al.*, 2016). Penyebaran hematogen spontan *Leptospira* sangat kontras dengan spesies spirochete lain seperti *Treponema pallidum* dan *Borrelia burgdorferi*, yang lebih memilih untuk membangun infeksi lokal di kulit dan menghasilkan lesi yang jelas (David A Haake and Levett, 2015). Bakteremia yang disebabkan oleh leptospirosis sangat berbeda dengan bakteremia yang disebabkan oleh agen bakteremia khas seperti *Enterobacteriaceae*. TLR4 manusia dapat dengan mudah mengenali konsentrasi LPS yang sangat rendah yang berasal dari *E.coli*, tetapi tidak dapat melakukannya dalam kasus LPS leptospiral. Residu fosfat termetilasi yang sangat khas yang ditemukan pada lipid A LPS leptospira, yang tidak ditemukan pada spesies lain yang berbeda seperti *E.coli*. Hal ini memungkinkan *Leptospira* untuk

menyamarkan diri dari respon imun bawaan inang, pada dasarnya memberi mereka cukup waktu untuk menimbulkan kerusakan sebelum terdeteksi. Terlepas dari semua ini, keterlibatan TLR2, TLR4 dan TLR5 masih merupakan faktor signifikan dalam pertahanan pejamu terhadap leptospirosis, dan penelitian lebih lanjut harus dilakukan untuk lebih menjelaskan mekanisme patofisiologi *Leptospira* (Werts *et al.*, 2001).

2.1.7 Gambaran Klinik Leptospirosis

Gambaran klinis leptospirosis sangat bervariasi dan tidak spesifik, tergantung pada faktor host dan patogen. Proporsi yang signifikan dari infeksi kemungkinan asimtomatik atau subklinis, dan ketika gejala terjadi, onset biasanya 2 sampai 30 hari setelah terpapar, dengan waktu inkubasi rata-rata 7 sampai 12 hari (World Health Organization, 2003; David A Haake and Levett, 2015; Chacko *et al.*, 2021). Sebagian besar kasus bergejala (hingga 90%) mengikuti pola bifasik, terdiri dari fase leptospiramik simtomatik awal yang berlangsung 5 sampai 7 hari diikuti oleh fase imun di mana gejala dapat berangsur-angsur membaik saat pejamu meningkatkan respons antibodi, meskipun secara klinis dua fase mungkin sulit untuk dibedakan (Levett and Haake, 2010; Lane and Dore, 2016).

1. Fase Leptospiraemia

Tahap awal (akut) infeksi leptospira dijelaskan dengan menggunakan berbagai terminologi, seperti *leptospiraemic, anicteric* dan *bacteraemic*, yang semuanya pada dasarnya menunjukkan fase infeksi yang sama (Samrot *et al.*, 2021). Timbulnya mialgia, demam, dan sakit kepala yang tiba-tiba merupakan manifestasi utama dari fase ini. Ada juga beberapa gejala non-spesifik seperti anoreksia, mual dan sakit perut, yang juga terlihat pada penyakit lain yang tidak terkait. *Leptospira* terbukti ditemukan dalam aliran darah hanya 10 menit setelah menginfeksi hewan uji melalui intra-peritoneal, intradermal dan intra-okular. Pada leptospirosis, nyeri otot sering terfokus pada betis dan punggung bawah, dan sakit kepala biasanya bersifat frontal dan berdenyut (David A Haake and Levett, 2015). Sufusi konjungtiva (eritema tanpa eksudat) adalah temuan fisik yang paling khas, tetapi keberadaannya dapat bervariasi (terlihat di mana saja dari 7% hingga 60% pasien berdasarkan tinjauan beberapa rangkaian kasus besar) (Levett and Haake, 2010).

Gejala gastrointestinal (anoreksia, mual, muntah, diare) yang umum, dan batuk nonproduktif terjadi pada sekitar setengah dari kasus (David A Haake and Levett, 2015).

2. Fase Imun

Setelah fase akut, sebagian kecil pasien dengan leptospirosis *anicteric* mengalami fase imun yang ditandai dengan komplikasi spesifik. Pasien dengan fase

imun telah mengalami fase akut simtomatik sebelumnya. Fase imun biasanya berlangsung sekitar satu minggu, dan tidak lebih dari 30 hari, kecuali untuk komplikasi oftalmologis. Gejala tergantung pada organ tubuh yang terganggu. Jika yang terkena adalah selaput otak, maka akan terjadi depresi, sakit kepala dan kecemasan. Pada pemeriksaan fungsi hati ditemukan jaundis, pembesaran hati (hepatomegaly) dan tanda koagulopati, gangguan paru-paru berupa batuk berdarah dan sulit bernapas. Kelainan hematologic berupa pendarahan dan pembesaran limpa (splenomegali). Kelainan jantung berupa gagal jantung atau pericarditis. Meningitis aseptik merupakan manifestasi klinik yang khas dari fase kekebalan tubuh, dengan gejala sakit kepala dan nyeri leher atau kekakuan yang terjadi pada sekitar setengah dari pasien. Gejala meningitis biasanya mereda dalam satu atau dua hari dan jarang dapat bertahan hingga tiga minggu. Pada pemeriksaan cairan serebrospinal didapatkan neutrofilik atau limfositik dengan protein sedikit meningkat. Temuan ini didapatkan pada 50 hingga 85 persen pasien yang cairan serebrospinalnya diperiksa selama fase kekebalan tubuh, termasuk pasien tanpa gejala meningitis (Day, 2022).

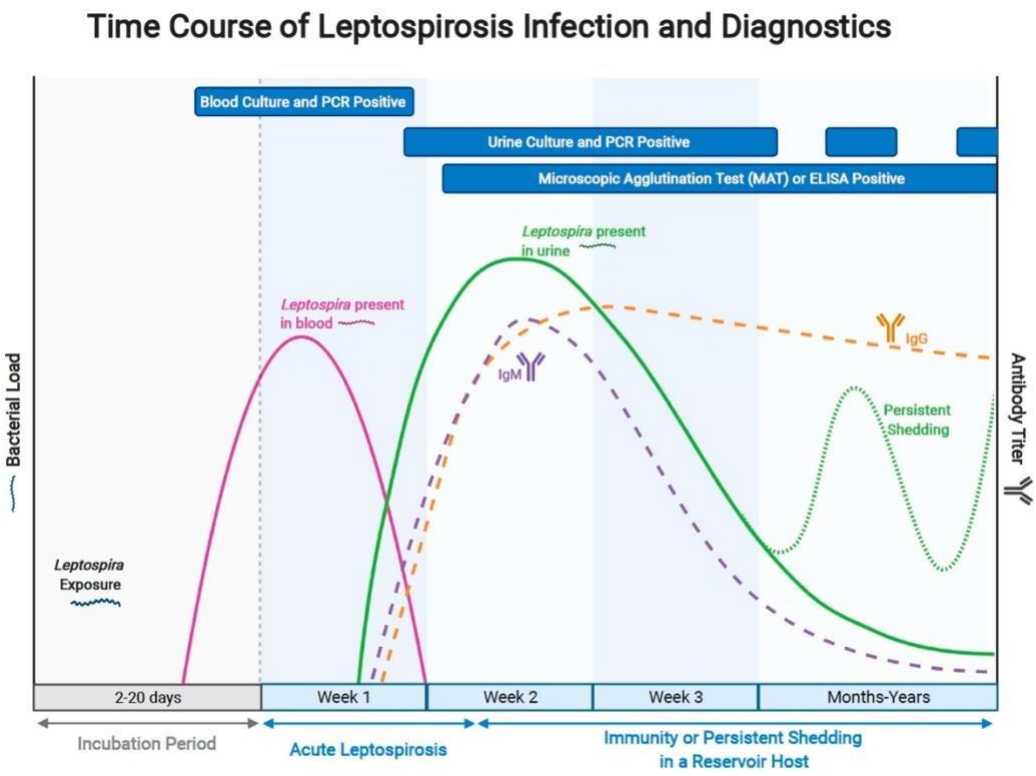
3. Fase Ikterik (penyakit *Weil*)

Kombinasi penyakit kuning, gagal ginjal, dan perdarahan dikenal sebagai penyakit *Weil* dan merupakan pola paling khas yang terkait dengan leptospirosis berat, meskipun setiap sistem organ dalam tubuh dapat terpengaruh karena penyebaran hematogen yang luas selama fase leptospiramik. Keterlibatan ginjal adalah umum karena kecenderungan organisme untuk tubulus ginjal di host alami mereka, dan gagal ginjal terjadi pada 16% -40% kasus (Lane and Dore, 2016). Disfungsi ginjal pada leptospirosis biasanya non-oligurik dan berhubungan dengan hipokalemia. Meskipun fungsi ginjal biasanya pulih dengan perawatan suportif yang tepat, kehadirannya dikaitkan dengan kematian yang lebih tinggi (Taylor, Paris and Newton, 2015). Keterlibatan hati biasanya terjadi dalam pola kolestatik, dengan kadar bilirubin terkonjugasi yang tinggi dan peningkatan aminotransferase serum yang lebih ringan. Meskipun perbaikannya lambat, gagal hati umumnya reversibel dan bukan merupakan kontributor independen untuk peningkatan mortalitas (David A Haake and Levett, 2015). Komplikasi koagulopati dan hemoragik dapat terjadi karena gangguan fungsi sintetik. Manifestasi paru dari leptospirosis berat termasuk perdarahan alveolar (disebut sindrom hemoragik paru parah atau SPHS) dan edema paru, yang keduanya dapat menyebabkan sindrom gangguan pernapasan akut (ARDS) (Helmerhorst *et al.*, 2012). Keterlibatan paru dikaitkan dengan kematian yang lebih tinggi secara signifikan dari leptospirosis, dengan tingkat kematian kasus diperkirakan dari 50%-70% (Costa *et al.*, 2015). Infeksi *Leptospira juga dapat melibatkan jantung, paling sering menyebabkan kelainan* ekokardiogram nonspesifik (bahkan pada penyakit ringan).

2.1.8 Diagnosis Leptospirosis

1. Diagnosis Klinik

Pada tahap awal, dokter sering tidak menyadari bahwa pasien mereka terinfeksi *Leptospira sp*. Diagnosis hanya sering dibuat ketika gejala klinis yang menggambarkan penyakit Weil, perdarahan paru, penyakit kuning atau gagal ginjal tampak jelas. Diagnosis banding untuk gejala ini membingungkan dan berkisar dari sindrom virus jinak pada masa kanak-kanak hingga meningitis dan sepsis. Terkadang tingkat keparahannya juga bervariasi tergantung pada individu. Beberapa individu mungkin memiliki antigen dari serovar tertentu dari spesies *Leptospira* tetapi mungkin tidak menunjukkan atau tidak memiliki gejala infeksi. Oleh karena itu, diagnosis leptospirosis tidak harus dilakukan dengan gejala klinis yang ditunjukkan oleh pasien melainkan dengan diagnosis laboratorium (Samrot *et al.*, 2021). Alat diagnostik yang lebih efektif dan akurat telah dikembangkan untuk memastikan adanya infeksi leptospirosis. Alat diagnostik leptospirosis yang ada saat ini meliputi uji serologis (uji aglutinasi mikroskopis (MAT), uji fase padat, uji imunosorben terkait enzim (ELISA) dan uji hemaglutinasi tidak langsung), metode diagnostik langsung (mikroskop, khususnya mikroskop fase kontras atau mikroskop lapangan gelap), pewarnaan histokimia dan immunostaining), metode kultur dan teknik molekuler seperti nested polymerase chain reaction (PCR). Seiring dengan teknik ini, para ilmuwan dan peneliti juga telah mengembangkan teknik lanjutan lainnya seperti flow cytometry. Kemajuan masa depan dan penyempurnaan alat diagnostik saat ini pasti akan mempercepat proses diagnosis leptospirosis, bahkan pada tahap awal (World Health Organization, 2003).



Gambar 2.4 Gambaran Fase Infeksi Leptospirosis dan Metode Diagnosis
Sumber: (Sykes *et al.*, 2022).

2. Diagnosa Laboratorium Klinik

a. Kimia Darah

Temuan laboratorium umumnya terkait dengan leptospirosis umumnya tidak spesifik, tetapi mungkin termasuk leukositosis ringan sering dengan pergeseran kiri hingga 2/3 pasien, serta trombositopenia (World Health Organization, 2003). Penanda inflamasi (ESR, CRP) dapat meningkat. Dalam kasus dengan manifestasi ginjal yang lebih parah, kreatinin serum sering meningkat, dan hipokalemia dan hiponatremia dapat terjadi (David A Haake and Levett, 2015). Bahkan ketika manifestasi klinis ringan, hiperbilirubinemia terkonjugasi sering muncul, dan dapat mencapai tingkat hingga 40-80 mg/dL (Bharti *et al.*, 2003; David A Haake and Levett, 2015). Peningkatan ringan transaminase serum sering terlihat (World Health Organization, 2003; Lane and Dore, 2016). Urinalisis dapat mengungkapkan proteinuria, piuria, dan hematuria mikroskopis sesekali (Bharti *et al.*, 2003). Kreatin kinase dan amilase serum juga dapat meningkat. Pemeriksaan cairan serebrospinal biasanya konsisten dengan meningitis aseptik, dengan pleositosis

limfositik, peningkatan protein sedang, dan kadar glukosa normal (David A Haake and Levett, 2015).

b. Urinalisa

Urinalisis dapat mengungkapkan adanya protein, sel darah putih, dan hematuria mikroskopis. Karena bakteri menetap di ginjal, kultur urin akan positif untuk leptospirosis mulai setelah minggu kedua sakit sampai 30 hari infeksi.

3. Diagnosis Bakterialis

a. Pemeriksaan Mikroskopis

Mikroskop langsung dan *phase contrast darkfield microscope* digunakan untuk mendeteksi *Leptospira* dalam cairan tubuh seperti darah, urin, dan CSF. *Leptospira* dapat divisualisasikan dengan penampilan morfologisnya (batang motil aktif yang tipis, cerah) dan karakteristik motilitas yang cepat berputar dan menyentak. Kerugian dari metode ini terletak pada kenyataan bahwa jumlah minimum *Leptospira* yang akan divisualisasikan adalah sekitar 10 sel/ml dan hasil positif menurun hingga 90% jika infeksi melebihi satu minggu. Selain itu, sangat sulit untuk menganalisis positif palsu dan negatif palsu dengan metode diagnosis ini. Namun, mikroskop dapat digabungkan dengan *silver stain* seperti *Warthin-Starry stain* atau *immunostaining* dengan antibodi spesifik tetapi tidak menguntungkan pada infeksi awal (Verma *et al.*, 2020).

Berbagai pewarnaan histopatologi digunakan untuk mendeteksi *Leptospira* dalam spesimen klinis. Meskipun pewarnaan perak dapat digunakan dalam literatur (Gunasekara *et al.*, 2017), akan tetapi pewarnaan *Warthin-Starry* lebih banyak digunakan. Pewarnaan histopatologis (termasuk pewarnaan *Warthin-Starry*) terkadang dapat memberikan hasil negatif palsu, karena beban leptospirosis dalam biopsi jaringan (seperti ginjal) mungkin tidak signifikan (Azizi, Kheirandish and Rahimi, 2014). Selain pewarnaan histopatologi, uji imunohistokimia dan pewarnaan imunoglobulin fluoresen juga digunakan sebagai alat diagnostik untuk leptospirosis. Pewarnaan imunoglobulin biasanya dilakukan pada jaringan dengan imunoreaktivitas positif terhadap antigen *Leptospira* (Wild *et al.*, 2002; Samrot *et al.*, 2021). Teknik ini berkisar pada penggunaan label enzimatik atau logam pada antibodi sekunder. Fosfatase, peroksidase atau antibodi berlabel emas metalik dapat digunakan dalam berbagai format untuk mewarnai leptospira dalam spesimen klinis (B A, 2015). Teknik ini memiliki keuntungan berguna dengan jaringan yang difiksasi formalin. Ini juga dapat digunakan untuk mendeteksi *Leptospira* bahkan ketika jumlahnya sangat sedikit, atau jika ada bahan yang menghalangi penggunaan mikroskop medan gelap. Namun, immunostaining membutuhkan antibodi primer yang spesifik untuk serovar yang dicari (Budihal and Perwez, 2014). Terlalu banyak varietas serovar dalam kolam akan mengencerkan salah satunya, sehingga diperlukan konjugat antiserum titer tinggi. Dengan kata

lain, mungkin tidak menguntungkan pada infeksi awal. Ini tidak banyak digunakan sebagai alat diagnostik utama dalam penelitian terbaru (Gunasekara *et al.*, 2017).

b. Metode Kultur

Pemeriksaan kultur *Leptospira* dapat dilakukan pada sampel yang berasal dari darah, urin maupun organ lain. Untuk mengisolasi bakteri ini dari dalam darah, pengambilan sampel harus dilakukan pada fase leptospiremia yakni pada minggu pertama onset gejala. Sementara untuk isolasi bakteri ini dari organ biasanya hanya dilakukan pada hewan percobaan. Pada eksperimen menggunakan tikus, *Leptospira* dapat ditemukan dalam darah, organ hati, limpa, paru-paru, ginjal maupun organ lainnya pada masa 9 hari setelah infeksi dan hanya akan ada di ginjal setelah melewati waktu tersebut (Verma *et al.*, 2020).

Kultur urin dapat menjadi positif selama minggu kedua penyakit dan tetap positif hingga 30 hari setelah resolusi gejala. Kemampuan *Leptospira* untuk menetap dalam ginjal dan dikeluarkan bersama urin mash perlu diteliti lebih lanjut. Monahan dkk, menyebutkan bahwa hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan distribusi genetik dari masing. masing individu (Monahan, Miller and Nally, 2009).

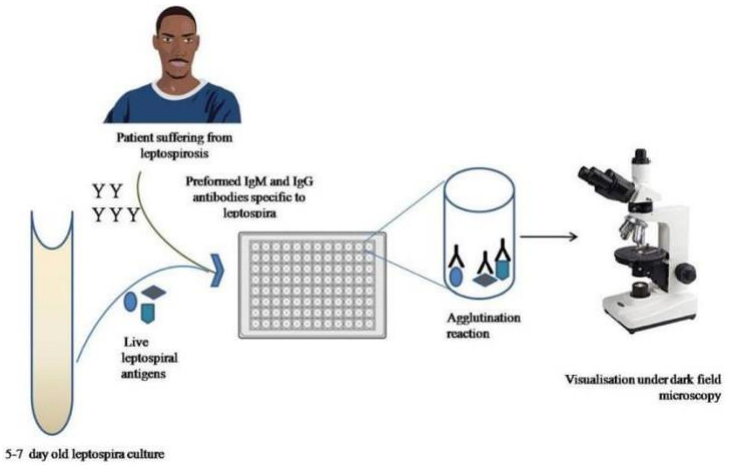
Medium kultur dasar yang dapat digunakan yaitu Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), BSA Tween™M 80 Agar/ Broth, Fletcher's Medium, Korthofs Medium, dan Leptospira Protein-Free Medium. Medium ini dapat dimodifikasi dengan penambahan rabbit sera tau *Leptospira enrichm*ent dan fluorouracil (FU) untuk menyuburkan pertumbuhan *Leptospira* dan mencegah kontaminasi (Tenriesa M., 2021).

4. Diagnosis Serologi

a. Uji Aglutinasi Mikroskopis (MAT)

MAT dianggap sebagai “gold standar” untuk semua teknik diagnostik, uji ini memiliki sensitivitas tinggi dan memungkinkan untuk mendeteksi antibodi spesifik kelompok (Chirathaworn *et al.*, 2014; Lizer *et al.*, 2017). MAT telah banyak digunakan untuk diagnosis leptospirosis melalui deteksi antibodi yang dihasilkan terhadap antigen serovar *Leptospira* (Samrot *et al.*, 2021). Teknik ini menggunakan biakan bakteri hidup dan rutin dilakukan dengan menginkubasi serum pasien dengan berbagai serovar *Leptospira* (Musso and La Scola, 2013). Titer MAT diperoleh dengan menguji berbagai pengenceran serum dengan serovar positif. Peningkatan titer antibodi MAT empat kali lipat merupakan bukti pasti infeksi *Leptospira*. Di daerah di mana leptospirosis sering terjadi, mungkin ada sebagian besar populasi dengan titer MAT yang tinggi. Selain itu, serum dari pasien dapat bereaksi dengan serovar yang berbeda dari yang terinfeksi. Dalam hal jumlah sampel banyak, melakukan MAT akan sangat sulit karena merupakan tes yang rumit. Selain itu, laboratorium diagnostik juga diharuskan memiliki semua jenis serovar

Leptospira yang bersirkulasi, yang mungkin mahal (Samrot *et al.*, 2021). Ini tidak akan berguna selama tahap awal penyakit karena antibodi terhadap *Leptospira* biasanya tidak ada, atau jika ada, akan berada pada tingkat yang sangat rendah dalam cairan serebrospinal (Budihal and Perwez, 2014). Oleh karena itu, teknik diagnostik lain telah dikembangkan yang lebih cepat dan lebih mudah untuk dilakukan (Budihal and Perwez, 2014; Samrot *et al.*, 2021).



Gambar 2.5 Pemeriksaan *Microscopic Agglutination Test* (MAT) untuk leptospirosis
Sumber:(Samrot *et al.*, 2021)

b. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

ELISA juga dapat digunakan untuk mendiagnosis leptospirosis dengan memanfaatkan IgM dan IgG spesifik leptospiral dari serum pasien yang terinfeksi serovar leptospiral yang berbeda (Obregón *et al.*, 2020). Menurut sebuah studi antibodi IgM dan IgG spesifik yang dapat dideteksi oleh ELISA, bahkan dengan titer antigen yang rendah dalam serum mereka. Hanya beberapa subjek yang memiliki aglutinin IgG sedangkan semuanya menghasilkan aglutinin IgM. Spesifisitas dan sensitivitas tes menunjukkan bahwa teknik ELISA anti-IgM adalah metode yang cocok untuk mendeteksi antibodi *Leptospira* dalam serum untuk tujuan diagnostik dan epidemiologis (Niloofa *et al.*, 2015; Rosa *et al.*, 2017). Spesifisitas antiserum yang digunakan untuk menyiapkan konjugat dikonfirmasi oleh imunodifusi dan imunoelektroforesis terhadap imunoglobulin IgM dan IgG manusia yang dimurnikan (Gambar 2). Meskipun memang efektif, tingkat antibodi umumnya rendah atau tidak ada selama fase awal infeksi. Ini bisa menjadi masalah dalam hal diagnostik, karena hal ini dapat dengan mudah menyebabkan diagnosis negatif palsu (Samrot *et al.*, 2021).

c. Tes Lepto Lateral Flow

Tes lepto lateral flow merupakan salah satu tes diagnostik cepat yang mudah dan memungkinkan untuk skrining serta diagnosis cepat pada pasien yang diduga menderita leptospirosis. Tes lepto lateral flow tidak memerlukan peralatan laboratorium khusus atau personel terlatih.Tes ini didasarkan pada imunokromatograf dengan menggunakan antibody IgM (jalur uji M) dan IgG anti-manusia monoclonal (jalur uji G) yang dimobilisasi pada strip nitroselulosa. Sampel diteteskan dan akan mengalir secara lateral melalui bantalan penyerap dan akan bercampur dengan konjugat. Konjugat mengandung *colloidal gold* yang terkonjugasi dengan antigen *Leptospira* yang dibuat dari kultur bakteri. Jika sampel mengandung antibody IgM dan/atau IgG spesifik *Leptospira*, maka akan sampel akan membentuk kompleks dengan konjugat emas antigen *Leptospira* sehingga membentuk kompleks antibodi antigen. Kompleks ini kemudian bermigrasi melalui membrane nitroselulosa melalui aksi kapiler. Ketika kompleks bertemu dengan garis antibody monoclonal yang dimobilisasi (M & G), kompleks ini menghasilkan garis merah/merah muda, yang menunjukkan bahwa sampel tersebut reaktif. Garis control procedural merah/merah muda harus selalu berkembang di wilayah 'C' untuk menunjukkan bahwa tes telah dilakukan dengan benar sebagai bukti telah lolos uji kualitas internal. Pengujian ini (diuji dalam kondisi epidemiologis dan klinis yang berbeda) menunjukkan sensitivitas, spesifisitas, dan nilai prediktif yang tinggi (Siauw Ek Hwee, *et. al*., 2022)

d. Diagnosis Molekular

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction adalah salah satu metode molekuler yang akurat dan banyak digunakan untuk mendeteksi antigen *Leptospira* dari sampel spesimen urine, darah, jaringan (pre dan post mortem), dan cairan serebrospinal (World Health Organization, 2003). Untuk deteksi *Leptospira*, gen yang menjadi target antara lain *lfb*, *LipL32*, *secY*, *16S rrs*, dan *gyrB*. Namun, *lfb1* dan *LipL32* lebih spesifik untuk mendeteksi *Leptospira* pathogen sedangkan *gyrB*, *secY* dan *16S rrs* dapat mendeteksi seluruh spesies termasuk *Leptospira* yang saprofit (Waggoner and Pinsky, 2016). Selain itu, terdapat gen lain yang bisa dipakai untuk mendeteksi *Leptospira* patogenik yaitu gen *flaB*. Gen ini adalah gen yang mengkode kemampuan pergerakan (motilitas) *Leptopspira* yang membantu *Leptospira* masuk dalam jaringan (Cameron, 2015). Gen ini bisa dipakai sebagai primer dan hanya teramplifikasi pada isolat *Leptospira* yang patogenik (Kawabata *et al.*, 2001; Natarajaseenivasan *et al.*, 2010).

Selama leptospirosis akut, titer antibodi mungkin tidak cukup tinggi untuk diagnosis serologis yang akurat. Keuntungan utama menggunakan PCR adalah hasil yang dihasilkan sangat cepat, dibandingkan dengan teknik konvensional seperti kultur (Shafighi *et al.*, 2014; Samrot *et al.*, 2021). Prosedur PCR standar memerlukan penggunaan elektroforesis gel agarosa selanjutnya untuk mendeteksi gen *Leptospira* target (Villumsen *et al.*, 2010). Namun, *real-time* PCR (RT-PCR) mampu memberikan hasil diagnosis segera setelah konten DNA diamplifikasi (Samrot *et al.*, 2021). RT-PCR sangat sensitif dan spesifik, memberikan hasil yang akurat dalam jangka panjang (Merien *et al.*, 2005).. Penggunaan lebih dari satu target mungkin penting untuk membedakan antara hasil PCR yang benar dan positif palsu. Nested PCR juga membantu dalam mendeteksi situs DNA yang lebih spesifik dan sensitif menggunakan set primer tambahan (Nassi *et al.*, 2003; Natarajaseenivasan, Raja and Narayanan, 2012; Blanco and Romero, 2014).

Karena tren diagnostik saat ini untuk leptospirosis sangat menyarankan penggunaan teknik serologis dan molekuler untuk akurasi yang lebih tinggi, penggunaan kombinasi PCR dan ELISA (sebagai pengganti MAT standar emas yang rumit) untuk diagnosis dini adalah alternatif yang kuat di negara-negara miskin sumber daya (Gasem *et al.*, 2020), menyoroti pentingnya teknik kombinatorial dalam diagnosis. Selain itu, teknik revolusioner *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) untuk mendeteksi gen 16S rRNA (rrs) yang biasanya ditemukan dalam urin pasien yang terinfeksi leptospira patogen. Teknik ini juga cocok untuk negara berkembang karena hemat biaya, cepat dan sangat akurat dalam menghasilkan hasil yang konsisten. Untuk meringkas, nilai PCR dalam diagnosis klinis tidak ada bandingannya. Peningkatan lebih lanjut dan kemajuan teknik PCR saat ini (serta teknik revolusioner lainnya seperti LAMP) dapat memperluas teknik ini sebagai tes rutin untuk leptospirosis (Samrot *et al.*, 2021).

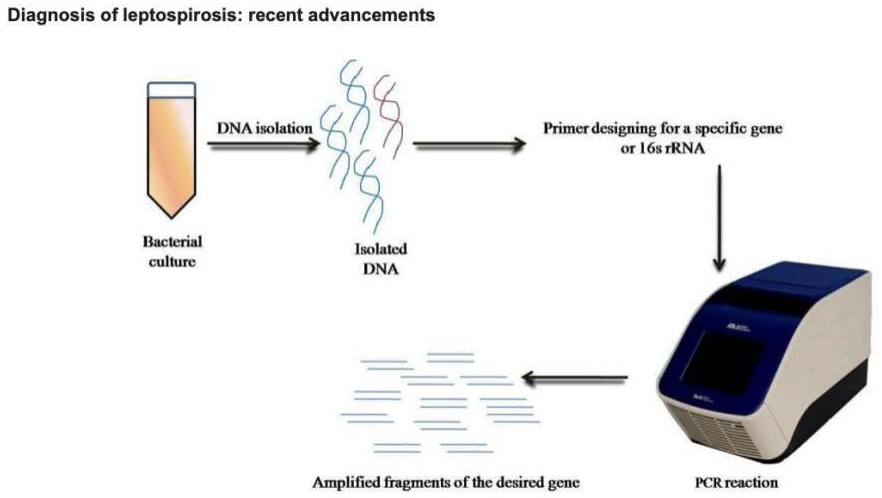


Figure 2. Schematic representation of PCR.

Gambar 2.6. Pemeriksaan PCR diagnosis leptospirosis (Samrot *et al.*, 2021)

Metode PCR ini terbagi atas 3 tahapan:

a. **Denaturasi**

Dalam tahapan ini terjadi dicapai pemisahan dari dua strand DNA melalui peningkatan suhu. Suhu denaturasi terjadi pada suhu 90 – 98℃. Ketika suhu lebih dari 80℃, ikatan-ikatan hidrogen pada matriks DNA akan mulai terlepas dan terjadi single-stranded DNA

b. *Annealing*/hibridisasi

Pada proses berikutnya ialah annealing. Tahapan ini menggunakan suhu sekitar 40℃ dan 70℃, dimana suhu ini merupakan suhu hibridisasi primer. Pada tahap ini, sekuens pendek dari single-stranded DNA akan berikatan dengan primer. Pada suhu hibridisasi yang semakin tinggi, proses hibridisasi menjadi semakin spesifik dan selektif.

c. Ekstensi/ elongasi

Pada tahap ketiga terjadi proses elongasi pada suhu 72̊ C. Tahapan ini adalah tahapan sintesis dari strand komplementer. Single-stranded DNA yang berikatan dengan primer akan terikat pada Taq polymerase dan mulai mengkatalisis replikasi dengan dNTP yang ada dalam campuran reagen yang mulai terjadi pada primer 5' ke 3'.

Ketiga proses PCR ini akan berulang sebanyak 20 –40 siklus dan menghasilkan DNA yang akan dianalisis. DNA yang mengalami penggandaan

dari siklus sebelumnya akan terjadi pada setiap siklus selanjutnya. Reaksi PCR ini berlangsung cepat dan hanyandalam beberapa jam saja (30 siklus PCR selama 2 – 3 jam) (Hill and Stewart, 1992; Pelt-verkuil, van Belkum and Hays, 2008).

2.1.9 Penatalaksanaan Leptospirosis

Pengobatan suportif dengan observasi ketat untuk mendeteksi dan mengatasi keadaan dehidrasi, hipotensi, perdarahan dan gagal ginjal sangat penting pada leptospirosis. Gangguan fungsi ginjal umumnya dengan spontan akan membaik dengan membaiknya kondisi pasien. Namun pada beberapa pasien membutuhkan tindakan hemodialisa temporer. Perawatan suportif yang baik dan dialisis telah mengurangi mortalitas penyakit ini dalam beberapa tahun terakhir. Bila protrombin terganggu dapat diberikan vitamin K.

Sebagian besar kasus leptospirosis ringan dan sembuh secara spontan. Inisiasi awal terapi antibiotik (seperti amoxycillin, ampisilin, doksisiklin atau eritromisin; sefalosporin generasi ketiga (ceftriaxone dan cefotaxime] dan antibiotik kuinolon) dapat mencegah beberapa pasien berkembang menjadi penyakit yang lebih parah. Identifikasi leptospirosis pada tahap awal sebagian besar merupakan diagnosis klinis dan bergantung pada indeks kecurigaan yang tinggi berdasarkan faktor risiko pasien, riwayat pajanan, dan tanda dan gejala yang muncul. Tes diagnostik cepat untuk leptospirosis membaik, tetapi hasil negatif tidak boleh diandalkan untuk menyingkirkan infeksi dini. Untuk alasan ini, terapi empiris harus dimulai segera setelah diagnosis leptospirosis dicurigai (World Health Organization, 2003; Bandara *et al.*, 2021).

Terapi untuk pasien dengan leptospirosis yang berat untuk dirawat di rumah sakit biasanya diberikan penisilin intravena (1,5 juta unit IV setiap 6 jam), ampisilin (0,5–1 g IV setiap 6 jam), ceftriaxone (1 g IV setiap 24 jam), atau cefotaxime (1 g IV setiap 6 jam). Ceftriaxone telah terbukti tidak lebih inferior dibandingkan penisilin pada kasus leptospirosis berat dan selain dosis hanya sekali sehari, ceftriaxone juga memiliki manfaat tambahan administrasi intramuskular sebagai alternatif terapi intravena dalam pengaturan di mana rawat inap tidak mungkin. Pasien rawat jalan dewasa dengan penyakit awal harus menerima doksisiklin 100 mg per oral dua kali sehari atau azitromisin 500 mg per oral sekali sehari. Azitromisin atau amoksisilin juga dapat diberikan kepada ibu hamil dan anak-anak (Bandara *et al.*, 2021).

2.1.10 Komplikasi Leptospirosis

Meningitis aseptik merupakan komplikasi yang paling sering ditemukan, namun dapat pula terjadi ensefalitis, mielitis, radikulitis, neuritis perifer (tidak biasa) pada minggu kedua karena terjadinya reaksi hipersensitivitas (Chellappan *et al.*, 2022). Komplikasi berat pada penderita leptospirosis berat dapat berupa syok,

perdarahan masif dan acute respiratory distress syndrome (ARDS) yang merupakan penyebab utama kematian leptospirosis berat (So *et al.*, 2022). Syok terjadi akibat perubahan homeostasis tubuh yang berperan pada timbulnya kerusakan jaringan. Gagal ginjal, kerusakan hati, perdarahan paru, vaskulitis dan ganguan jantung berupa miokarditis, perikarditis dan aritmia jarang ditemukan walaupun umumnya sebagai penyebab kematian. Meskipun jarang dapat ditemukan uveitis setelah 2 tahun timbul gejala leptospira (Lau *et al.*, 2018).

2.1.11 Prognosis Leptospirosis

Prognosis umumnya baik dan pasien dapat sembuh total dari leptospirosis (Li et al., 2022). Kematian akibat leptospirosis bervariasi dari 1% sampai lebih dari 20%. Kematian tergantung pada banyak faktor termasuk serovar yang dicurigai dengan serovar *icterohaemorrhagiae* dan *copenhageni* yang memiliki kecenderungan untuk menghasilkan penyakit yang berat. Selain serovar dan keparahan spektrum klinis, jenis manifestasi klinis dan komplikasi juga berpengaruh pada tingkat kematian. Outcome yang fatal terutama terkait dengan gagal ginjal meskipun gambaran lain seperti hiperkalemia, trombositopenia, gagal jantung dengan hipotensi dan aritmia, dan gagal napas dengan hemoptisis masif diketahui berkontribusi pada angka kematian. Manifestasi neurologis (misalnya gangguan kesadaran, delirium dan kekakuan pada leher) dan gejala sistem pencernaan (misalnya perdarahan gastrointestinal, mual dan muntah berulang, sakit perut, perut kembung dan cegukan) juga berhubungan dengan angka kematian yang tinggi. Selain itu prognosis juga dipengaruhi dari faktor pasien itu sendiri seperti usia tua, status gizi dan adanya comorbid penyakit lain sering dikaitkan dengan penyakit klinis yang lebih parah dan peningkatan kematian. (Kobayashi, 2005).

Jika pasien dalam kondisi yang parah tidak diobati dalam waktu 2-3 hari setelah timbulnya penyakit, itu dapat berkembang menjadi kondisi berat dan kadang-kadang berakibat fatal. Profesional medis, terutama dokter perawatan primer, paling bertanggung jawab untuk diagnosis dan pengobatan, perlu mengetahui tentang gejala dan tanda awal leptospira, serta temuan laboratorium klinis awal. Pemberian terapi antimikroba secara dini dalam waktu 4-5 hari setelah timbulnya penyakit dan terapi suportif yang tepat serta penggunaan dialisis untuk mengobati gagal ginjal akan mengurangi mortalitas terkait leptospirosis (Kobayashi, 2005).

2.1.12 Pengendalian Leptospirosis

Meskipun dapat diprediksi oleh model yang divalidasi atau bahkan ketika tidak ada model yang memungkinkan menunjuk ke risiko insiden *Leptospira* yang lebih tinggi, tindakan pencegahan dapat diterapkan sebelum periode risiko tertinggi, yang mungkin diketahui dari perubahan musim. Ini mungkin dilakukan dengan, misalnya, program pengendalian hewan pengerat dan pembersihan tepi sungai dan sistem pembuangan limbah untuk meminimalkan risiko banjir (Goarant, 2016).

Kesadaran adalah kunci untuk diagnosis yang tepat dan pengobatan dini leptospirosis. Kesiapsiagaan, oleh karena itu, termasuk meningkatkan kesadaran praktisi medis, terutama di daerah dengan insiden tertinggi, tetapi kesadaran kelompok berisiko tinggi yang diidentifikasi oleh tenaga medis, pada populasi umum juga dianggap berguna. Dalam pengaturan sumber daya rendah dan populasi umum, termasuk di sekolah, pesan kesadaran biasanya sangat sederhana dan fokus pada meminimalkan risiko infeksi ("jangan bertelanjang kaki", "gunakan sepatu bot dan sarung tangan untuk memberi makan kandang hewan ternak seperti babi, sapi atau saat main di halaman belakang Anda atau saat bekerja di lapangan", "dengan cepat mencuci goresan luka pada kulit dengan air keran dan sabun yang jernih") dan hewan pengerat domestik ("simpan makanan apa pun dalam wadah tertutup", "jangan menyimpan sampah dalam wadah terbuka di dekat rumah") (Goarant, 2016).

Skema global infeksi manusia yang dijelaskan sebelumnya memberikan indikasi langkah demi langkah tentang kemungkinan jalur pencegahan. Tindakan pencegahan harus fokus pada 1) membatasi reservoir mamalia dan 2) membatasi paparan manusia. Selain program pengendalian hewan pengerat yang sayangnya jarang dilaksanakan, tindakan apa pun yang bertujuan meminimalkan beban leptospirosis hewan kemungkinan akan meminimalkan risiko infeksi pada manusia. Ada bukti (terutama dari Selandia Baru) yang menunjukkan bahwa vaksinasi hewan ternak mungkin sangat berkontribusi pada leptospirosis kerja yang lebih rendah pada petani, dokter hewan, pekerja rumah jagal, dan tukang daging (Dreyfus *et al.*, 2014). Kampanye vaksinasi ini juga telah meningkatkan kesadaran dan mendorong penggunaan alat perlindungan diri (Goarant, 2016).

2.2 *Leptospira* species

2.2.1. Definisi *Leptospira* species

Genus *Leptospira* merupakan anggota dari spirochetes, dan spesies patogen ini telah ditemukan menyebabkan penyakit zoonosis di seluruh dunia yang dikenal sebagai leptospirosis. *Leptospira*, berasal dari Bahasa Yunani, istilah *leptos* (kecil) dan kata latin *speira* (kumparan), adalah bakteri spirochete gram negatif, berbentuk spiral yang bergerak secara aktif dengan flagel internal, dan mereka biasanya melengkung di satu atau dua ujung (Cameron, 2015; Mahon and Lehman, 2019; Md-Lasim *et al.*, 2021). *Leptospira* dengan panjang 5-15 um, memiliki spiral yang sangat halus dengan diameter 0.1-0.2 pm, satu ujungnya sering tertekuk dan membentuk kait (Cameron, 2015; Mahon and Lehman, 2019).

2.2.2 Klasifikasi *Leptospira species*

Klasifikasi Filo	eni	Leptospira
Kingdom	:	*Bacteria*
Subkingdom	:	*Negibacteria*
Phylum	:	*Spirochaetae*
Class	:	*Spirochaetes*
Order	:	*Spirochaetales*
Family	:	*Leptospiraceae*
Genus	:	*Leptospira*
Species	:	*Leptospira Interrogans*

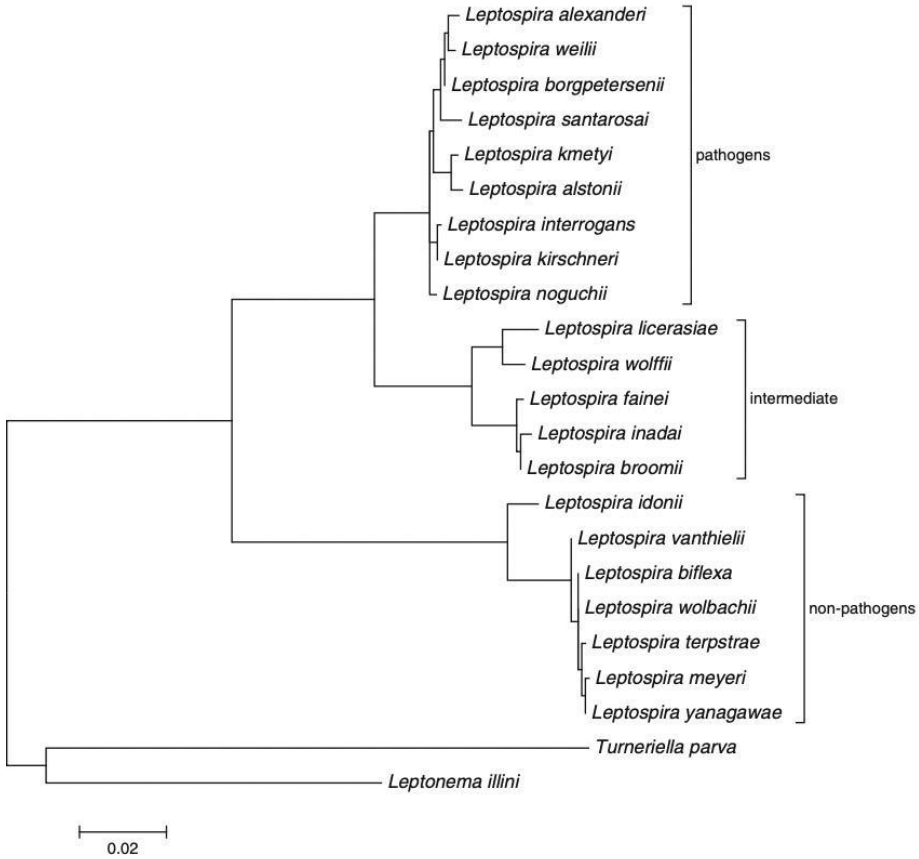
Cakupan klasifikasi dari spesies *Leptospira* dapat dilihat pada table 1 (Morey *et al.*, 2006; Levett and Haake, 2010; Marquez *et al.*, 2017; Picardeau, 2017; Parker, Tindall and Garrity, 2019; Arent *et al.*, 2022).

Leptospira diklasifikasikan ke dalam berbagai serovar berdasarkan ekspresi berbeda dari epitop yang terpapar permukaan dalam mosaik antigen lipopolisakarida (LPS) mereka (Mohammed *et al.*, 2011). Awalnya, *Leptospira* hanya diklasifikasikan menjadi *L. interrogans* dan *L. biflexa*, yang secara jelas membedakan spesies patogen dan non-patogen. Kemudian, kedua klasifikasi ini dibagi lagi menjadi serovar spesifik berdasarkan keberadaan antigen homolog (hampir 60 serovar di bawah *L. biflexa* dan setidaknya 225 serovar di bawah *L. interrogans*). Seiring berjalannya waktu, setidaknya 21 spesies lebih telah diidentifikasi di bawah *Leptospira* dengan lebih dari 200 serovar spesifik (Mohammed *et al.*, 2011; Bulach and Adler, 2018).

Tabel 1. Kelompok Serovar *Leptospira*

Serovar	Species
Bataviae	*L. interrogans*, *L. santarosai*
Bulgarica	*L. interrogans*, *L. kirschneri*
Grippotyphosa	*L. interrogans*, *L. kirschneri*
Hardjo	*L. borgpetersenii*, *L. interrogans*, *L. meyeri*
Icterohaemorrhagiae	*L. interrogans*, *L. inadai*
Kremastos	*L. interrogans*, *L. santarosai*
Mwogolo	*L. interrogans*, *L. kirschneri*
Paidjan	*L. interrogans*, *L. kirschneri*
Pomona	*L. interrogans*, *L. noguchii*
Pyrogenes	*L. interrogans*, *L. santarosai*
Szwajizak	*L. interrogans*, *L. santarosai*
Valbuzzi	*L. interrogans*, *L. kirschneri*

Spesies *Leptospira* dibagi menjadi tiga kelompok, terdiri dari patogen, non-patogen dan kelompok menengah. Filogeni serupa dapat diproduksi menggunakan beberapa gen penyandi, termasuk rrs (Morey et al. 2006), rpoB (La Scola et al. 2006), dan gyrB (Slack et al. 2006). Spesies *Leptospira* yang saat ini diakui tidak sesuai dengan dua spesies sebelumnya (*L. interrogans sensu lato* dan *L. biflexa sensu lato*). Menariknya, serovar patogen dan nonpatogenik terjadi dalam beberapa spesies. Namun, juga jelas bahwa beberapa strain referensi telah salah label, yang mengarah ke klasifikasi yang salah (Slack et al. 2009a). Heterogenitas genetik dalam serovar telah ditunjukkan (Brenner et al. 1999; Bulach et al. 2000; Feresu et al. 1999). Kehadiran gen biosintesis LPS yang sama dalam strain spesies yang berbeda menyiratkan transfer genetik; bukti transfer antar spesies telah terdeteksi (Haake et al. 2004). Dengan demikian, baik serogroup maupun serovar dari isolat saat ini memprediksi spesies Leptospira. Selain itu, karakteristik fenotipik yang sebelumnya digunakan untuk membedakan *L. interrogans sensu lato* dari *L. biflexa sensu lato* tidak membedakan genomospesies (Levett PN, 2015)



Gambar 2.7 Analisis filogenetik molekuler sekuens gen *Leptospiraceae* 16S rRNA Sumber: (David A Haake and Levett, 2015).

2.2.3 Struktur *Leptospira* species

Struktur bakteri ini dari lapisan paling luar ke bagian dalam terdiri atas outer membrane/ membran luar (OM), ruang periplasmik, peptidoglikan dan inner membrane/ membran sitoplasma (IM). Membran luar (OM) tersusun atas fosfolipid, lipopolisakarida (LPS), protein permukaan/ lipoprotein (LigA, LigB, LenA LenB, Loa22) dan protein transmembrane (Outer membrane protein, Omp) (OmpL1). Selain itu juga terdapat protein subsurface LipL (LipL 32, LipL21, LipL45, LipL31, LipL36, LipL41, LipL71) (Nally *et al.*, 2007; Cameron, 2015; David A Haake and Levett, 2015; Fraga *et al.*, 2015). Komponen protein tersebut telah banyak digunakan dalam metode diagnostik serologis dengan perannya masing-masing pada pathogenesis infeksi (Raja and Natarajaseenivasan, 2015).

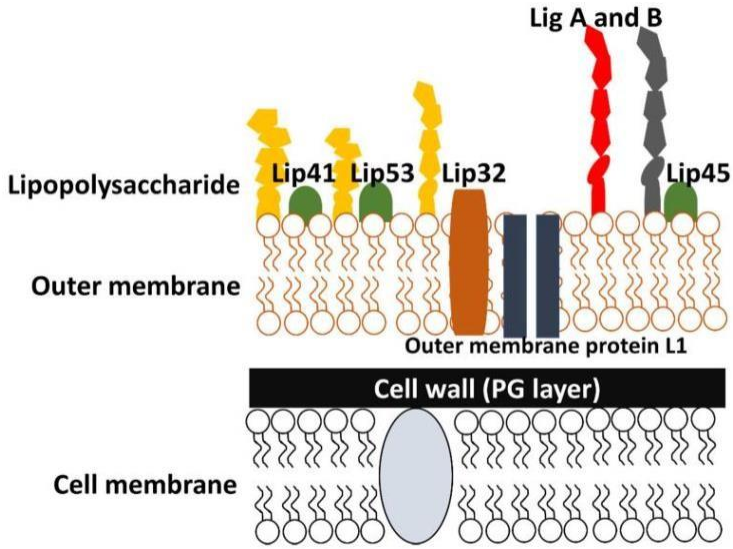
Komponen dinding sel LPS memiliki aktifitas endotoksik yang lebih rendah

Variasi yang terdapat pada antigen-O dari komponen inilah yang menyebabkan perbedaan antigenik di antara serovar yang ada (Faisal, McDonough and Chang, 2012).

1. Membran luar

Membran luar *Leptospira* terdiri dari fosfolipid, protein membran luar (OMPs) dan LPS. LPS adalah komponen utama dari membran luar *Leptospira*. Kehadirannya memberikan kontribusi untuk integritas struktural *Leptospira* sejak khelasi kation divalen yang terlibat dalam menjembatani molekul LPS mempromosikan destabilisasi membran luar (Haake and Zückert, 2015). Meskipun mirip dengan LPS Gram-negatif lainnya, komponen lipid A dari LPS leptospiral memiliki fosfat termetilasi yang unik, yang tidak ditemukan pada bakteri lain (Fraga *et al.*, 2015). Fitur yang tidak biasa ini tampaknya terkait dengan toksisitas rendah *Leptospira* LPS, yang kira-kira 12 kali lebih toksik daripada *Escherichia coli* LPS. Data mutagenesis terbaru menunjukkan bahwa LPS merupakan faktor virulensi *Leptospira*. *Leptospira* mutan yang tidak menghasilkan molekul LPS gagal untuk mempromosikan infeksi yang sukses. Juga telah ditunjukkan bahwa kandungan LPS, khususnya kadar antigen-O, berhubungan dengan terjadinya infeksi ginjal akut. Selain itu, molekul LPS lebih banyak dan lebih lama di *L. interrogan* patogen daripada di *L. biflexa* saprofit, mencerminkan keterlibatan LPS dalam virulensi bakteri (Cullen, Haake and Adler, 2004; Fraga *et al.*, 2015).

.



Gambar 2.9. ilustrasi yang menggambarkan lapisan luar spesies *Leptospira*, dengan berbagai protein yang ditemukan di membran luar.
Sumber: (Samrot *et al.*, 2021)

a. Loa22

Loa22 adalah lipoprotein dengan domain OmpA. Protein ini diprediksi berinteraksi dengan peptidoglikan *Leptospira*, menghubungkan membran luar ke dinding sel dan, dengan demikian, menstabilkan struktur amplop (Ristow *et al.*, 2007; Fraga *et al.*, 2015). Gangguan pada gen loa22 menyebabkan fenotipe bakteri avirulen yang tidak dapat menyebabkan kematian atau kerusakan jaringan pada model hewan leptospirosis. Sebuah ortolog Loa22 hadir dalam *L. biflexa* yang hidup bebas, dan telah disarankan bahwa protein ini mungkin terkait dengan kelangsungan hidup bakteri daripada dengan bertindak secara langsung sebagai faktor virulensi (Ristow *et al.*, 2007).

b. Protein Lig

Protein lig A dan B termasuk dalam superfamili protein domain berulang seperti imunoglobulin bakteri, yang mencakup penentu virulensi, seperti intimin dari *Escherichia coli* enteropatogenik dan invasin dari *Yersinia pseudotuberculosis* (Fraga *et al.*, 2015). Protein lig mampu menginduksi respon antibodi pada pasien dan hewan yang terinfeksi (Yan *et al.*, 2013; Fraga *et al.*, 2015; Haake and Matsunaga, 2020). Protein lig telah diidentifikasi sebagai protein pengikat matriks ekstraseluler karena mampu berinteraksi dengan fibronektin, laminin, kolagen, fibrinogen, elastin dan tropoelastin (Fraga *et al.*, 2015). Mereka juga berkontribusi pada penghindaran kekebalan *Leptospira* dengan berinteraksi dengan regulator komplemen manusia Faktor H dan Protein Pengikat C4b. Sebuah fragmen protein LigA telah terbukti menjadi kandidat vaksin yang paling menjanjikan, memberikan perlindungan tingkat tinggi pada model hamster leptospirosis (Fraga *et al.*, 2015; Conrad *et al.*, 2017).
Ekspresi protein Lig terkait erat dengan infeksi inang karena protein Lig diekspresikan dalam galur virulen tetapi tidak pada leptospira yang dilemahkan kultur (Fraga *et al.*, 2015). Namun, gangguan pada gen ligB tidak mempengaruhi virulensi Leptospira pada model hamster. Hilangnya ekspresi LigB dapat dikompensasi oleh ekspresi protein permukaan leptospiral lainnya, seperti LigA, sebuah fenomena yang dikenal sebagai redundansi fungsional (Murray *et al.*, 2009; Fraga *et al.*, 2015).

c. LipL32

LipL32 adalah lipoprotein terkait membran yang melimpah (Fernandes *et al.*, 2022), yang sangat terkonservasi di antara spesies Leptospira patogen dan tidak memiliki ortolog dalam saprofit *Leptospira* biflexa. Telah ditunjukkan bahwa LipL32 meningkatkan hemolisis yang dimediasi oleh sphingomyelinase H (SphH), dan untuk alasan ini, juga diidentifikasi sebagai protein terkait hemolisis 1 (Hap-1). Diekspresikan pada tingkat tinggi baik dalam kultur laboratorium dan pada infeksi *Leptospira*, LipL32 adalah protein yang sangat imunogenik (Fraga *et al.*, 2015). LipL32 berinteraksi dengan beberapa protein matriks ekstraseluler dan dengan protein plasma plasminogen dan fibronectin (Hauk *et al.*, 2012). Namun, terlepas dari perannya dalam adhesi *Leptospira*, mutan lipl32 memiliki virulensi normal baik pada model infeksi akut maupun kronis. (Lambert *et al.*, 2012).

2. Flagela dan Gerak Periplasma

Berbeda dengan bakteri lain, flagela spirochete tidak terpapar dengan lingkungan luar. Flagela tertutup dalam ruang periplasma, antara sitoplasma dan membran luar dan disebut flagela periplasma atau endoflagella (Wolgemuth, 2015; San Martin *et al.*, 2022). Meskipun spirochetes lain dapat memiliki puluhan hingga ratusan flagela (misalnya, 100 di *Cristispira*, 7-11 di *Borrelia*, dan dua di *Treponema*), *Leptospira* hanya memiliki dua endoflagella. Endoflagella dimasukkan dalam arah yang berlawanan dari silinder sel, satu di setiap ekstremitas bakteri. Flagela periplasma diperpanjang melalui struktur *Leptospira*; namun, mereka relatif pendek dan tidak tumpang tindih di tengah bakteri (di *Borrelia* dan *Treponema*, endoflagella tumpang tindih di tengah sel) (Fraga *et al.*, 2015).

Secara khas, *Leptospira* memiliki seluruh badan sel yang melingkar. Bentuk 'seperti kait' dan 'bentuk spiral' mereka mengacu pada tingkat struktur yang lebih tinggi, di mana badan sel melingkar membentuk kait dan spiral. Menariknya, tampaknya struktur ini bersifat sementara dan merupakan konsekuensi langsung dari keberadaan dan/atau rotasi endoflagella. Bukti hipotesis ini adalah bahwa *Leptospira* mutan dengan endoflagella nonfungsional atau tidak ada (mutan *L. biflexa flaB* dan *L. interrogans flaA2* mutan) tidak menunjukkan struktur berbentuk kait atau spiral (Fraga *et al.*, 2015).

Baru-baru ini, dijelaskan bahwa gerakan endoflagella sangat penting untuk pembentukan infeksi *Leptospira* (Fontana *et al.*, 2016). *L. interrogans* mutan yang tidak menghasilkan endoflagella fungsional kehilangan kemampuan mereka untuk mempromosikan infeksi yang sukses pada model hewan (Fraga *et al.*, 2015).

Struktur flagella dari golongan spirocheta terdiri atas *flaB* pada bagian inti dan *flaA* sebagai protein pembungkus pada bagian luarnya. Gen yang menentukan kedua protein tersebut berupa gen *flaB* dan gen *flaA*. Pada Leptospira terdapat 4 gen *flaB* dan 2 gen *flaA* (Lambert *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian menggunakan analisis PCR-RFLP, gen *flaB* hanya dapat dideteksi pada *Leptospira* patogenik dan tidak pada *Leptospira* non patogenik (Krishna *et al.*, 2008). Ini juga dibuktikan oleh penelitian di India yang membandingkannya dengan primer lain untuk mendeteksi *Leptospira* patogenik dari sampel darah dan urin manusia, ginjal tikus, urin sapi, darah anjing dan sampel air (Natarajaseenivasan *et al.*, 2010).

2.2.4 Sifat-sifat *Leptospira* species

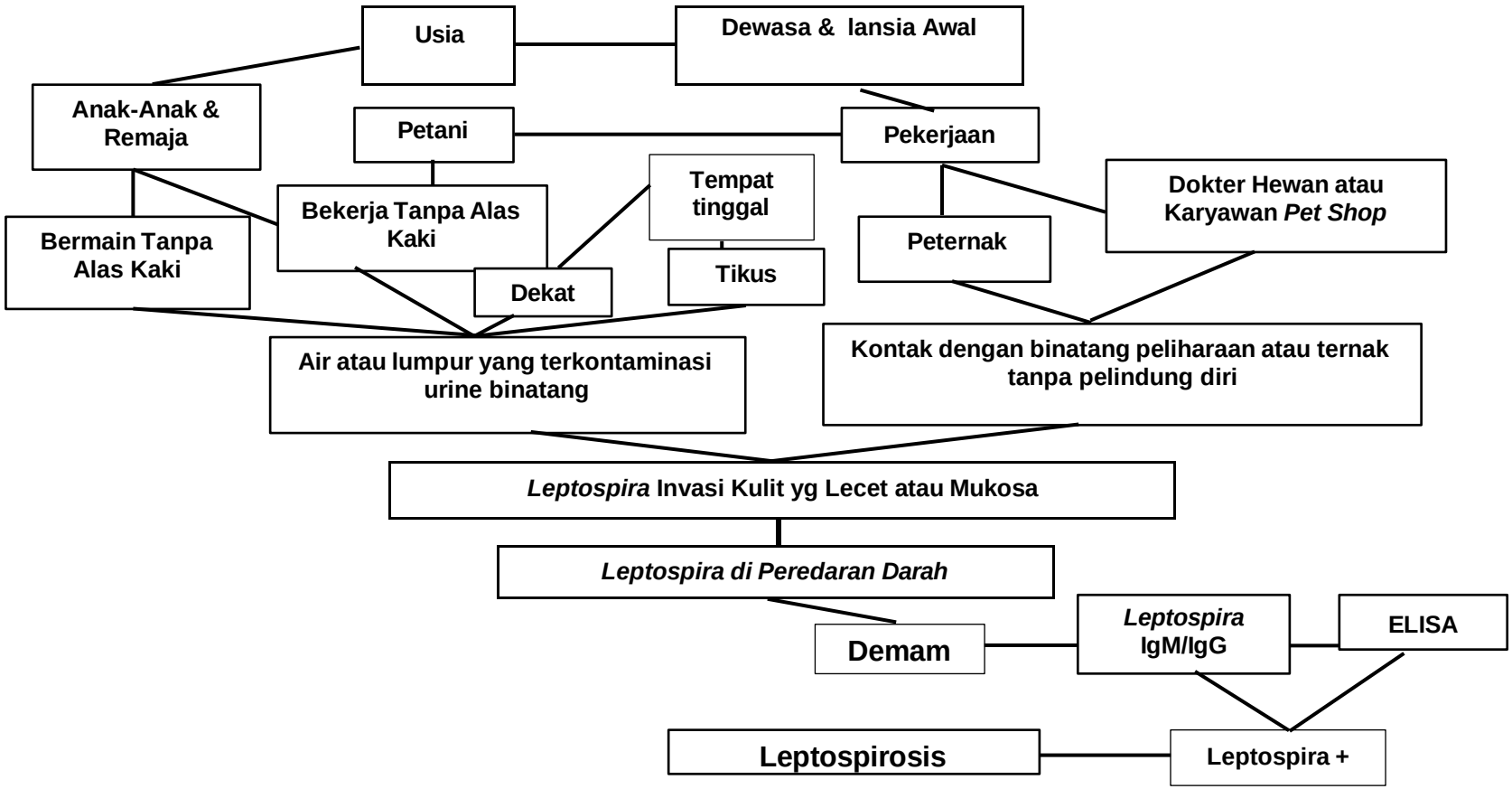
Leptospira membutuhkan kondisi husus untuk bertahan hidup, yaitu di tanah, lumpur, rawa, sungai, organ dan jaringan dari hewan yang hidup maupun mati dan pada susu yang encer. Kelangsungan hidup Leptospira pathogen di lingkungan tergantung pada beberapa factor termasuk pH, suhu, dan beberapa senyawa penghambat. Secara mum, Leptospira sangat sensitif terhadap kekeringan, panas, suasana asam dan desienfektan.

Pada suasana laboratorium, *Leptospira* yang ada dia air pada suhu ruang dapat hidup beberapa bulan pada pH 7,2 sampai 8. *Leptospira spp.* tidak dapat

berkembang biak di luar tubuh inang. Pada lingkungan dengan kelembaban yang tinggi dan suhu >50°C *Leptospira* akan mati. *Leptospira* akan hidup beberapa minggu sampai beberapa bulan di tanah yang terkontaminasi dan beberapa minggu pada kotoran hewan ternak (Mohammed *et al.*, 2011).

Leptospira dapat ditumbuhkan pada medium pertumbuhan yang sederhana yang diperkaya dengan vitamin (vitamin B2 dan B12), rantai Panjang asam lemak dan garam ammonium. Asam lemak rantai panjang digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon dan dimetabolisme oleh oksidasi B. Lapisan lipopolisakarida pada dinding *Leptospira* memiliki komposisi yang mirip dengan bakteri gram negatif lainnya, tetapi memiliki aktivitas endotoksik yang lebih rendah. Leptospira dapat diwarnai dengan menggunakan pewarnaan karbol fuchsin (Mohammed *et al.*, 2011).

Genus *Leptospira* terbagi dalam dua serovarian yaitu *L. interrogate* yang bersifat pathogen (yaitu memiliki potensi untuk menyebabkan penyakit pada hewan dan manusia) dan serovarian *L. biflexa* yang bersifat non pathogen/ saprophytic (yaitu hidup bebas dan umumnya dianggap tidak menyebabkan penyakit).

Leptospira pathogen dipelihara di alam di tubulus ginjal dan saluran kelamin hewan tertentu. Saprophytic *Leptospira* ditemukan di berbagai jenis lingkungan basah atau lembab mulai dari permukaan air dan tanah lembab. Bahkan untuk Saprophytichalophilic (menyukai garam) Leptospira dapat ditemukan dalam air laut (Kemenkes RI, 2017)

2.3 Kerangka Teori