

Leptospirosis dan Pengembangan Metode Deteksi Leptospirosis Pada Sapi

Leptospirosis and Development of Leptospirosis Detection Methods in Cows

¹Wida Wahidah Mubarakoh, ²Roeswandono Wirjaatmadja, ³Yos Adi
Prakoso, ⁴Asih Rahayu, ⁵M. Dzaki Wiranda Pratama

¹Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta-Magelang; ^{2,3,4}Fakultas
Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Jawa Timur;
⁵Program Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas
Wijaya Kusuma Surabaya, Jawa Timur
³email: yos.vet.docter@gmail.com

ABSTRAK

Leptospirosis merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh *Leptospira* sp. Kejadian leptospirosis di Indonesia masih belum menjadi perhatian utama pemangku kebijakan. Hal ini disebabkan karena leptospirosis umumnya tidak menimbulkan gejala klinis yang signifikan pada ternak. Namun, masih diduga kuat bahwa leptospirosis menimbulkan penurunan produksi dan kerugian ekonomi. Selain itu potensi zoonosis yang ditimbulkan harus menjadi perhatian utama. Metode deteksi leptospirosis saat ini masih terbatas pada *microscopic agglutination test* (MAT). Metode uji ini masih ditemukan banyak kekurangan sehingga seiring waktu dilakukan pengembangan metode lain, seperti histopatologi, *enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISA) maupun *reverse-transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR). Sehingga pemahaman tentang metode pengujian yang akurat untuk leptospirosis harus ditingkatkan. Hal ini terkait dengan teknik diagnostika dalam pencegahan, pengendalian, dan pemberantasan leptospirosis pada ternak di Indonesia.

Kata kunci: histopatologi, leptospirosis, MAT, RT-PCR, zoonosis.

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonosis disease that caused by Leptospira sp. The evidence of leptospirosis in Indonesia still not becoming the major of concern of the government in policies developing. It is caused by the leptospirosis clinical signs among the livestock generate asymptotically. However, leptospirosis is suspected causes the decrease of production and economic losses. In addition, the potency of zoonosis must be came a major concern. The detection method of leptospirosis is still using microscopic agglutination test (MAT). This method is found have several limitations compared to enzyme –linked immunosorbent assays (ELISA) and reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). The understanding regarding the accurate detection methods for leptospirosis should be increased. It is related to the diagnostic method on prevention, control, and

eradication of leptospirosis among the livestock in Indonesia.

Keywords: *histopathology, leptospirosis, MAT, RT-PCR, zoonosis.*

PENDAHULUAN

Leptospirosis merupakan salah satu penyakit bakterial penting. Penyakit ini disebabkan oleh *Leptospira* sp. *Leptospira* sp. memiliki banyak serovar yang memiliki sifat patogenitas berbeda antara satu serovar dengan serovar yang lain (Li *et al.*, 2013). Pada manusia sendiri dilaporkan banyak bahwa kejadian leptospirosis menjadi kejadian luar biasa (KLB). Kejadian KLB yang terjadi akibat leptospirosis pada umumnya bersamaan dengan bencana alam, seperti banjir (Schneider *et al.*, 2013). Hal ini membuat leptospirosis menjadi salah satu penyakit yang terabaikan atau dikenal sebagai *neglected disease*. Padahal jika dilakukan observasi mendalam, leptospirosis menimbulkan manifestasi klinis berat (Levett, 2001).

Laporan kejadian leptospirosis masih sangat terbatas di hewan terutama sapi. Keterbatasan metode diagnostika serta kurangnya kesadaran dari berbagai pihak menjadikan leptospirosis semakin terabaikan. Selain itu mekanisme patogenesis yang terjadi pada sapi tidak menimbulkan gejala klinis sebagaimana yang terjadi akibat infeksi penyakit lain. Hal ini membuat sulitnya deteksi leptospirosis pada sapi dan bahkan hewan ternak lainnya (Schafbauer *et al.*, 2019).

Naskah studi pustaka ini bertujuan untuk mengkomparasikan berbagai metode diagnostika yang dapat digunakan pada kejadian leptospirosis, serta dukungan dalam pengembangan metode diagnostika lain yang menunjang.

Leptospirosis Etiologi

Leptospirosis merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh *Leptospira* sp. *Leptospira* sp. merupakan bakteri motil yang memanfaatkan asam lemak dan unsur- unsur karbon sebagai sumber energy. *Leptospira* sp. merupakan bakteri Gramnegatif, namun demikian bakteri ini tidak memiliki diwarnai dengan pengecatan Gram. Bagian luar membrane *Leptospira* sp. dilengkapi dengan lipopolisakarida yang merupakan faktor virulensi utamanya (Patra *et al.*, 2015).

Leptospira sp. mampu beradaptasi dengan baik di lingkungan. Terdapat beberapa jenis *Leptospira* yang banyak memiliki variasi gen sehingga mempengaruhi patogenitasnya. Terdapat 20 spesies *Leptospira* sp. yang diketahui dan sebanyak 9 spesies bersifat patogen, 6 spesies bersifat intermediet dan lainnya bersifat saprofit (Benacer *et al.*, 2013).

Seluruh spesies *Leptospira* sp telah diketahui tersebar secara global dan mampu ditularkan dari manusia ke hewan maupun hewan ke manusia. Lebih lanjut, *Leptospira interrogans* dan *Leptospira biflexa* dibagi ke dalam beberapa serovar. Serovar inilah yang pada akhirnya dikembangkan sebagai media indikator deteksi. Beberapa serovar yang terjadi pada manusia juga diketahui dapat menjadi peluang terjadinya zoonosis.

Pencegahan zoonosis harus menjadi perhatian utama mengingat Indonesia merupakan negara *transboundary* yang menjadi lalu lintas penghubung berbagai negara Asia Pasifik (Lilenbaum dan Martins, 2014).

Transmisi

Bakteri ini dapat ditransmisikan melalui kontak ekskreta reservoir (*maintenance host*) dengan hospes. Manusia dan hewan ternak sering kali berperan sebagai hospes incidental. *Leptospira* sp. akan berkembang di dalam tubulus ginjal dan infeksiya dapat berjalan kronis (Almeida *et al.*, 2019)..

Tikus merupakan reservoir alami bagi *Leptospira* sp. Urin yang diekskresikan oleh tikus akan dapat mengkontaminasi lingkungan. Manusia dan hewan lain menjadi hospes incidental akibat air yang terkontaminasi. Ketika masuk ke dalam tubuh hospes, *Leptospira* sp. akan mensintesis faktor virulensi salah satunya yaitu *Lip32*. *Lip32* berperan dalam hemolysis dan mekanisme dalam menghindari respon imun tubuh hospes (Evangelista dan Coburn, 2010).

Leptospirosis Pada Ternak

Leptospirosis pada ternak cenderung terjadi secara asimtomatik. Dimana hewan yang terinfeksi tidak menunjukkan gejala klinis yang berat sebagaimana yang terjadi pada manusia. Hal ini disebabkan oleh faktor metabolisme dan kemampuan hewan ternak dalam merespon kejadian infeksi yang lebih cepat jika dibandingkan pada manusia. Faktor resistensi lain yang dimiliki oleh ternak juga diduga kuat sebagai penentu. Hal ini dibuktikan dengan timbulnya lesi yang berat pada ginjal dan organ lain yang menjadi predileksi *Leptospira* sp. namun kondisi ternak masih dalam keadaan yang baik (Kingscote, 1985).

Diagnosis

Leptospirosis dapat didiagnosa menggunakan beberapa jenis metode pengujian. Metode pengujian leptospirosis dapat berupa uji serologis, molekuler, maupun histopatologi. Beberapa jenis metode diagnostika yang dapat dipakai untuk mendeteksi leptospirosis yaitu uji *microscopic agglutination test* (MAT), *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR), *enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISA), serta uji histopatologi.

MAT

MAT merupakan uji *gold standard* yang digunakan untuk diagnosis leptospirosis baik pada manusia dan hewan. MAT merupakan uji panel yang digunakan untuk melihat suatu reaksi serologis antara isolate *Leptospira* sp. hidup dengan serum sampel. Prinsip uji MAT ini adalah dengan melihat adanya aglutinasi pasca reaksi antaraserum sampel dengan isolate panel (Niloofa *et al.*, 2015).

Hasil reaksi uji MAT ini diamati dengan menggunakan mikroskop medan gelap. Aglutinasi yang terjadi merupakan salah satu hasil ikatan yang spesifik antara antigen dengan serum sampel. Uji MAT juga akan menghasilkan data berupa titer. Salah satu kelebihan dari uji MAT adalah spesifitas yang tinggi.

Kelemahan uji MAT di antaranya yaitu tidak dapat diketahui fase infeksi yang telah terjadi pada kasus leptospirosis, kultur bakteri harus dilakukan pada laboratorium dengan standar yang baik, memerlukan waktu yang lama, serta dimungkinkan terjadi infeksi lain yang disebabkan oleh isolate yang tidak diujikan dalam panel pengujian MAT yang sama. Hal ini membuat pentingnya dilakukan pengembangan metode diagnosis yang lain untuk deteksi MAT. Namun demikian, uji ini masih dianggap sebagai *gold standard* dan masih digunakan sebagai pembanding dalam berbagai penelitian yang menguji sensitifitas dan spesifitas (Yitzhaki *et al* 2004).

ELISA

ELISA merupakan jenis uji serologis yang banyak dipakai pada berbagai jenis pengujian penyakit. ELISA dapat diuji dengan menggunakan kit deteksi yang telah diproduksi dan beredar secara komersial. Uji ini juga dapat menggunakan kit deteksi yang diproduksi sendiri (Rosa *et al*, 2017)

Kemampuan deteksi ELISA berbeda dengan MAT. ELISA mampu mendeteksi Ig-M secara langsung. Hal ini memungkinkan bahwa hasil uji ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi *Leptospira* pada fase infeksi awal. ELISA memiliki kemampuan deteksi yang spesifik disebabkan oleh penggunaan antigen yang bersifat tunggal. Hal ini berbeda dengan MAT. Tidak dibutuhkan isolate hidup sebagai pembanding jika kit deteksi yang komersial juga telah tersedia. Hal ini memungkinkan bahwa ELISA menjadi salah satu alat deteksi yang baik.

Kelemahan dari ELISA adalah terkadang perlu dilakukan uji tapis (tandem dengan MAT jika diperoleh hasil yang diragukan). Selain itu, uji ELISA juga tidak mampu dipakai dalam mendeteksi kejadian infeksi yang disebabkan oleh berbagai serovar khusus (Sakamoto *et al*, 2018). Kelemahan yang ditemukan baik pada uji MAT dan ELISA membuat banyak peneliti yang mengembangkan uji lain berbasis molekuler. Salah satu contohnya adalah dengan PCR.

RT-PCR

Saat ini, uji molekuler merupakan salah satu jenis uji favorit yang banyak dikembangkan dan dipakai di berbagai negara. Bahkan dalam masa pandemi ini, uji molekuler dipakai sebagai uji *gold standard*. Terkait kemampuannya yang tinggi dalam mendeteksi DNA dari suatu agen infeksi, uji molekuler pada leptospirosis mampu mendeteksi potongan DNA dengan sangat baik (Stoddard *et al*, 2018).

Uji RT-PCR juga mampu mendeteksi kejadian infeksi pada fase awal infeksi. Sedangkan setiap uji laboratorium pasti memiliki kelemahan. Di antaranya yang dimiliki oleh uji RT-PCR yaitu tidak dapat dilakukan pada laboratorium dengan tingkat cemaran yang tinggi. Sehingga hasil yang dilaporkan dapat berarti negatif-palsu atau bahkan positif-palsu (Zippelius *et al*, 1997).

Histopatologi

Uji histopatologi merupakan jenis uji untuk mengidentifikasi berbagai perubahan/ lesi histopatologi pada jaringan. Uji ini merupakan uji yang baik digunakan untuk melihat patogenesis suatu penyakit serta manifestasinya terhadap organ predileksi, seperti halnya lesi yang ditimbulkan oleh *Leptospira* sp. pada ginjal.

Kelebihan uji ini adalah jika pengambilan sampel tepat dilakukan pada lesi spesifik dari organ predileksi maka perubahan histopatologi akan terwakili dan bahkan terkadang agen infeksi akan teramati di bawah mikroskop. Kelemahan dari uji histopatologi adalah keterbatasan organ yang diambil sebagai specimen membuat seringkali hasil pengujian yang kurang mewakili mekanisme patogenesis yang sebenarnya (Waggoner dan Pinsky, 2016).

Pengembangan Uji Lain

Pengembangan uji untuk deteksi leptospirosis pada hewan perlu dikembangkan lebih lanjut. Hal ini mengingat hasil pengujian baik spesifitas dan

sensitifitas uji setiap metode berbeda satu sama lain. Pengembangan uji tidak hanya terbatas pada dibuatnya suatu metode deteksi baru tetapi juga pada pengembangan desain atau prosedur yang dimodifikasi demi meningkatkan spesifitas dan sensitifitas setiap pengujian.

Salah satu bentuk pengembangan yang dapat dilakukan adalah dengan mengembangkan lebih banyak serovar dan isolate *Leptospira* sp di laboratorium untuk meningkatkan sensitifitas dan spesifitas dari uji MAT (Dounghawee *et al*, 2017)

Selain itu pada uji ELISA dapat dikembangkan berbagai produksi antibodi spesifik lain yang dapat dipakai unuk deteksi. Hal ini terkait dengan keterbatasan uji ELISA yang hanya dapat mendeteksi satu jenis antigen dalam setiap kali pengujian. Dengan metode tandem diharapkan akan meningkatkan spesifitasnya (Cheow *et al*, 2010).

Dalam menunjang uji molekuler, maka perlu dikembangkan berbagai desain primer yang spesifik yang tidak hanya terbatas pada satu jenis faktor virulensi saja. Deteksifaktor virulensi lain akan semakin meningkatkan kemampuan deteksi uji RT-PCR.

Antibodi yang dikembangkan untuk deteksi leptospirosis pada ELISA juga dapat dimanfaatkan sebagai antibodi primer pada metode histopatologi. Terutama pada pengecatan khusus dan imunohistokimia. Produksi antibodi dapat menggunakan tikus maupun kelinci. Produksi yang dilakukan tersebut juga mampu menunjang pengembangan uji serologis lain sebagaimana yang dikembangkan oleh peneliti sebelumnya pada deteksi kasus ND di unggas (Naf'an dkk., 2020).

KESIMPULAN

Kejadian leptospirosis yang disebabkan oleh *Leptospira* sp. pada ternak masih belum diketahui secara jelas. Hal ini dikarenakan manifestasinya yang tidak memperlihatkan adanya gejala klinis. Pengembangan metode uji lain penting dilakukan untuk mendukung pencegahan dan pemberantasan dari kejadian leptospirosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Li, S., Wang, D., Zhang, C., Wei, X., Tian, K., Li, X., Nie, Y., Liu, Y., Yao, G., Zhou, J., Tang, G., Jiang, X., & Yan, J. (2013). Source tracking of human leptospirosis: serotyping and genotyping of *Leptospira* isolated from rodents in the epidemic area of Guizhou province, China. *BMC microbiology*, *13*, 75. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-75>.
- Schneider, M. C., Jancloes, M., Buss, D. F., Aldighieri, S., Bertherat, E., Najera, P., Galan, D. I., Durski, K., & Espinal, M. A. (2013). Leptospirosis: a silent epidemic disease. *International journal of environmental research and public health*, *10*(12), 7229–7234. <https://doi.org/10.3390/ijerph10127229>
- Levett P. N. (2001). Leptospirosis. *Clinical microbiology reviews*, *14*(2), 296–326. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.296-326.2001>.
- Schafbauer, T., Dreyfus, A., Hogan, B., Rakotozandrindrainy, R., Poppert, S., & Straubinger, R. K. (2019). Seroprevalence of *Leptospira* spp. Infection in Cattle from Central and Northern Madagascar. *International journal of*

- environmental research and public health*, 16(11), 2014.
<https://doi.org/10.3390/ijerph16112014>
- Patra, K. P., Choudhury, B., Matthias, M. M., Baga, S., Bandyopadhyaya, K., & Vinetz, J. M. (2015). Comparative analysis of lipopolysaccharides of pathogenic and intermediately pathogenic *Leptospira* species. *BMC microbiology*, 15, 244. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0581-7>.
- Benacer, D., Mohd Zain, S. N., Amran, F., Galloway, R. L., & Thong, K. L. (2013). Isolation and molecular characterization of *Leptospira interrogans* and *Leptospira borgpetersenii* isolates from the urban rat populations of Kuala Lumpur, Malaysia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 88(4), 704–709. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0662>.
- Lilenbaum, W., & Martins, G. (2014). Leptospirosis in cattle: a challenging scenario for the understanding of the epidemiology. *Transboundary and emerging diseases*, 61 Suppl 1, 63–68. <https://doi.org/10.1111/tbed.12233>.
- Almeida, D. S., Paz, L. N., de Oliveira, D. S., Silva, D. N., Ristow, P., Hamond, C., Costa, F., Portela, R. W., Estrela-Lima, A., & Pinna, M. H. (2019). Investigation of chronic infection by *Leptospira* spp. in asymptomatic sheep slaughtered in slaughterhouse. *PloS one*, 14(5), e0217391. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217391>.
- Evangelista, K. V., & Coburn, J. (2010). *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future microbiology*, 5(9), 1413–1425. <https://doi.org/10.2217/fmb.10.102>.
- Kingscote B. F. (1985). Leptospirosis in livestock. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 26(8), 235–236.
- Niloofoa, R., Fernando, N., de Silva, N. L., Karunanayake, L., Wickramasinghe, H., Dikmadugoda, N., Premawansa, G., Wickramasinghe, R., de Silva, H. J., Premawansa, S., Rajapakse, S., & Handunnetti, S. (2015). Diagnosis of Leptospirosis: Comparison between Microscopic Agglutination Test, IgM-ELISA and IgM Rapid Immunochromatography Test. *PloS one*, 10(6), e0129236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129236>.
- Yitzhaki, S., Barnea, A., Keysary, A., & Zahavy, E. (2004). New approach for serological testing for leptospirosis by using detection of leptospira agglutination by flow cytometry light scatter analysis. *Journal of clinical microbiology*, 42(4), 1680-1685. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1680-1685.2004>.
- Rosa, M. I., Reis, M., Simon, C., Dondossola, E., Alexandre, M. C., Colonetti, T., & Meller, F. O. (2017). IgM ELISA for leptospirosis diagnosis: asystematic review and meta- analysis. *Ciencia & saude coletiva*, 22(12), 4001–4012. <https://doi.org/10.1590/1413- 812320172212.14112016>.
- Sakamoto, S., Putalun, W., Vimolmangkang, S., Phoolcharoen, W., Shoyama, Y., Tanaka, H., & Morimoto, S. (2018). Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. *Journal of natural medicines*, 72 (1), 32–42. <https://doi.org/10.1007/s11418-017- 1144-z>.
- Stoddard R. A. (2013). Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through real-time PCR (qPCR) targeting the LipL32 gene. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 943, 257–266. https://doi.org/10.1007/978-1-60327- 353-4_17.

- Zippelius, A., Kufer, P., Honold, G., Köllermann, M. W., Oberneder, R., Schlimok, G., Riethmüller, G., & Pantel, K. (1997). Limitations of reverse-transcriptase polymerase chain reaction analyses for detection of micrometastatic epithelial cancer cells in bone marrow. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 15(7), 2701–2708. <https://doi.org/10.1200/JCO.1997.15.7.2701>.
- Waggoner, J. J., & Pinsky, B. A. (2016). Molecular diagnostics for human leptospirosis. *Current opinion in infectious diseases*, 29(5), 440–445. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000295>.
- Doungchawee, G., Sutdan, D., Niwatayakul, K., Inwisai, T., Sitthipunya, A., Boonsathorn, N., Sakulterdkiat, T., Sirawaraporn, W., & Thongboonkerd, V. (2017). Development and evaluation of an immunochromatographic assay to detect serum anti-leptospiral lipopolysaccharide IgM in acute leptospirosis. *Scientific reports*, 7(1), 2309. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02654-8>.
- Cheow, L. F., Ko, S. H., Kim, S. J., Kang, K. H., & Han, J. (2010). Increasing the sensitivity of enzyme-linked immunosorbent assay using multiplexed electrokinetic concentrator. *Analytical chemistry*, 82(8), 3383–3388. <https://doi.org/10.1021/ac9024335>.
- Naf'an, M. K., Kurniasih, K., Untari, T., & Prakoso, Y. A. (2020). Development of a coagglutination kit as a rapid test for diagnosing Newcastle disease in poultry. *Veterinaryworld*, 13(8), 1719–1724. <https://doi.org/10.14202/vetworld.20201719-1724>.