

014.438
RRI
n e



NILAI DIAGNOSTIK
TES PANBIO LEPTOSPIRA IgM ELISA
PADA PENDERITA LEPTOSPIROSIS BERAT
DI RUMAH SAKIT SE-KOTA SEMARANG

TESIS

Oleh :

F. Dony Kristianto

BAGIAN / SMF ILMU PENYAKIT DALAM
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
RUMAH SAKIT DOKTER KARIADI
SEMARANG

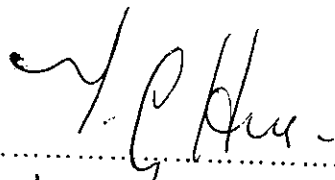
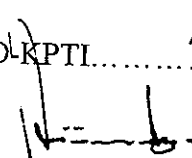
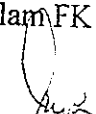

2004

LEMBAR PENGESAHAN
TESIS
NILAI DIAGNOSTIK TES *PANBIO LEPTOSPIRA IgM ELISA*
PADA PENDERITA LEPTOSPIROSIS BERAT DI RUMAH SAKIT
SE-KOTA SEMARANG

OLEH
F. DONY KRISTIANTO

Tesis ini disusun dalam rangka menyelesaikan
Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

DISETUJUI OLEH :

1. Pembimbing
Dr. Muhammad Hussein Gasem, PhD. SpPD-KPTI.....
2. Konsultan
Dr. Budi Riyanto, MSc. SpPD-KPTI.....
3. Ketua Program Studi Ilmu Penyakit Dalam FK UNDIP/
RS. Dr. Kariadi Semarang
Dr. Murni Indrasti, SpPD-KGH.....
4. Ketua Bagian / SMF Ilmu Penyakit Dalam FK UNDIP/
RS. Dr. Kariadi Semarang
DR. Dr. Darmono, SpPD-KEMD.....

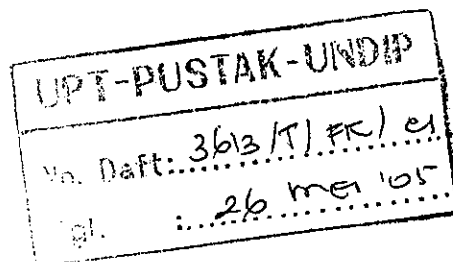
KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kasih atas rahmat yang dilimpahkanNya, sehingga kami dapat menyelesaikan laporan penelitian yang berjudul : **"Nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* pada penderita leptospirosis berat di rumah sakit se-Kota Semarang"**. Penelitian ini merupakan salah satu persyaratan dalam menyelesaikan Pendidikan Dokter Spesialis I bidang Ilmu Penyakit Dalam di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RS. Dr. Kariadi Semarang.

Penelitian ini dapat terlaksana berkat bantuan, bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, kami mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada :

1. Dr. Muhammad Hussein Gasem, PhD. SpPD-KPTI, Pj. Kepala Sub Bagian Penyakit Tropik Infeksi dan pembimbing penelitian yang telah memberikan arahan, dorongan dan bimbingan selama penelitian ini.
2. Dr. Budi Riyanto, MSc. SpPD-KPTI, sebagai konsultan penelitian yang telah memberikan ijin, arahan dan bimbingan dalam penelitian ini.
3. DR. Dr. Darmono, SpPD-KEMD, Ketua Bagian / SMF Ilmu Penyakit Dalam FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan bimbingan dan nasihat selama mengikuti pendidikan spesialis Ilmu Penyakit Dalam.
4. Dr. Murni Indrasti, SpPD-KGH, Ketua Program Studi Ilmu Penyakit Dalam FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan arahan, dorongan dan nasihat selama proses pendidikan spesialis Ilmu Penyakit Dalam.
5. Prof. Dr. Pasiyan Rachmatullah, SpPD-KP, sebagai anggota tim peneliti yang telah memberikan bimbingan dalam menyelesaikan penelitian ini.
6. Dr. Bambang Isbandrio, SpMK dan analis laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang erat selama penelitian ini.
7. Drs. Med. Pieter Jansen, *University Medical Center Nijmegen* Belanda, yang telah membantu penelitian pada tahap-tahap awal.
8. Petugas laboratorium Bagian Patologi Klinik FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang, Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP, laboratorium Prodia Semarang dan Jakarta yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu, atas kerjasamanya selama penelitian ini.

9. Direktur RS. Dr. Kariadi Semarang, RSUD Kota Semarang, RS. Telogorejo, RS. Elisabeth, RS. Roemani, RS. Panti Wilasa Citarum dan RS. Panti Wilasa Dr. Cipto Semarang yang telah memberikan ijin dan dukungan selama penelitian ini.
 10. Dr. Budi Riyanto, MSc. SpPD-KPTI, Dr. F. Soemanto PM, MSc. SpPD-KGEH, Dr. Suyatmi Awizar, SpPD-KGEH, Dr. Murni Indrasti, SpPD-KGH, Dr. Lestariningsih, SpPD-KGH, Dr. Shofa Chasani, SpPD-KGH, Dr. Arwedi Arwanto, SpPD-KGH, Dr. Muchlis A.U. Sofro, SpPD, Dr. Herry Djagat Poernomo, SpPD, Dr. Roy Hardjalukita, SpPD, yang telah memberi ijin dan kesempatan untuk menyelesaikan penelitian pada penderita yang dirawat di rumah sakit swasta.
 11. Dekan FK UNDIP dan Direktur RS. Dr. Kariadi Semarang yang telah memberi kesempatan untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I di bidang Ilmu Penyakit Dalam.
 12. Semua Guru Besar, Kepala Sub Bagian dan Staf Ilmu Penyakit Dalam FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang yang telah mendidik dan membimbing kami dalam menjalani pendidikan spesialis Ilmu Penyakit Dalam.
 13. Segenap sejawat residen Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang erat selama penelitian dan proses pendidikan spesialis Ilmu Penyakit Dalam.
 14. Staf paramedis, staf administrasi di lingkungan Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang yang telah bekerjasama selama menjalani pendidikan spesialis Ilmu Penyakit Dalam.
 15. Ayah, ibu, kakak dan seluruh anggota keluarga atas segala doa, bimbingan, dorongan, pengertian dan pengorbanannya.
 16. Istri terkasih Agustina Yusmawati, anak kami Kevin Adiatma dan Dina Nathania yang telah sabar dan setia mendampingi selama menempuh pendidikan spesialisasi.
- Semoga Tuhan Yang Maha Kasih senantiasa melimpahkan rahmat dan berkatNya kepada kita semua. Amin.



Semarang, Juli 2004

F. Dony Kristianto

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Daftar Isi.....	v
Daftar Tabel.....	vii
Abstrak.....	viii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1. Latar Belakang.....	1
I.2. Rumusan Masalah.....	3
I.3. Tujuan.....	3
I.4. Manfaat.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1. Definisi.....	4
II.2. Etiologi.....	4
II.3. Epidemiologi.....	5
II.4. Patogenesis.....	6
II.5. Gambaran Klinis.....	9
II.5.1. Leptospirosis anikterik.....	10
II.5.2. Leptospirosis ikterik.....	10
II.6. Diagnosis Klinis.....	12
II.7. Diagnosis Laboratorium.....	14
II.7.1. <i>Microscopic Agglutination Test (MAT)</i>	15
II.7.2. <i>Macroscopic Slide Agglutination Test (MSAT)</i>	15
II.7.3. <i>Dipstick assay</i>	16
II.7.4. <i>Lateral-flow assay</i>	16
II.7.5. <i>Latex based agglutination test</i>	17
II.7.6. Tes <i>PanBio Leptospira IgM ELISA</i>	17
A. Prinsip pemeriksaan.....	17
B. Bahan yang tersedia dalam Kit.....	18
C. Bahan tambahan yang diperlukan.....	19

	D. Prosedur pemeriksaan.....	19
	E. Prosedur pencucian <i>plate</i>	20
	F. <i>Quality control</i>	21
	G. Perhitungan.....	21
	H. Interpretasi hasil.....	22
BAB III.	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN ALUR PENELITIAN.....	23
	III.1. Kerangka Teori.....	23
	III.2. Kerangka Konsep.....	24
	III.3. Alur Penelitian.....	24
BAB IV.	METODOLOGI PENELITIAN.....	25
	IV.1. Desain Penelitian.....	25
	IV.2. Tempat dan Waktu.....	25
	IV.3. Baku Emas (<i>Gold Standard</i>).....	25
	IV.4. Populasi dan Sampel.....	25
	IV.5. Besar Sampel (Responden).....	26
	IV.6. Kriteria Sampel.....	26
	IV.7. Bahan dan Alat.....	27
	IV.8. Definisi Operasional.....	27
	IV.9. Pengumpulan Data.....	28
	IV.10. Analisis Statistik.....	29
BAB V.	HASIL PENELITIAN.....	30
BAB VI.	PEMBAHASAN.....	34
	KETERBATASAN PENELITIAN.....	36
BAB VII.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
	VII.1. Kesimpulan.....	38
	VII.2. Saran.....	38
	Daftar Pustaka.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kriteria diagnosis leptospirosis menurut Faine, WHO.....	12
Tabel 2. Distribusi usia dan jenis kelamin penderita dengan klinis leptospirosis berat....	30
Tabel 3. Tabel 2X2 nilai diagnostik tes <i>PanBio Leptospira IgM ELISA</i> dengan menggunakan serum A1 penderita klinis leptospirosis berat.....	32
Tabel 4. Tabel 2X2 nilai diagnostik tes <i>PanBio Leptospira IgM ELISA</i> dengan menggunakan serum A1 dan A2 penderita klinis leptospirosis berat.....	33

ABSTRACT

Background : *Leptospirosis is characterized by wide clinical variability, from mild to severe form of the disease. It is not easy for inexperienced doctors to make clinical diagnosis of severe leptospirosis since many diseases may mimic this life-threatening condition. On the other side, the criteria that identify the severe forms of leptospirosis are not well defined. Microscopic Agglutination Test (MAT) is the gold standard of the serodiagnosis of leptospirosis but it is restricted to the laboratories that are capable of maintaining strains as live antigens. An immunoglobulin M (IgM) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is often used as an alternative to MAT in routine diagnostic laboratories because of the capacity to detect specific IgM antibodies as sign of current or recent leptospirosis. PanBio Leptospira IgM ELISA is a commercial test for the diagnosis of acute leptospiral infection.*

Objective of the study : *To evaluate the diagnostic performance of PanBio Leptospira IgM ELISA in patients with clinical suspicion of severe leptospirosis hospitalized in hospitals Semarang city (Dr. Kariadi, Telogorejo, St. Elisabeth, Roemani, Panti Wilasa, and Municipal hospital).*

Methods : *A cross sectional study was conducted during period of November 2002 to March 2004. Sera samples that were drawn from all study subjects, divided into MAT and PanBio Leptospira IgM ELISA testing. MAT was conducted in Dept. of Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine, Diponegoro University, Dr. Kariadi hospital, and ELISA was analyzed in Prodia Laboratory, Jakarta. Both tests were performed independently. Data were calculated for sensitivity, specificity, positive and negative predictive values using two-by-two tables. A 95% confidence interval of the values were also calculated.*

Results : *During period of study, sera samples were obtained from 43 patients with severe leptospirosis, consisted of 29 males and 14 females. Serovar icterohaemorrhagiae was detected in majority of the patients. PanBio Leptospira IgM ELISA was 95.2% (95% CI: 88.8%–100%) sensitive and 100% specific. The test had a positive predictive value (PPV) of 100% and a negative predictive value (NPV) of 33.3% (95% CI: 19.2%–47.4%) with accuracy value was 95.3% (95% CI: 88.9%–100%).*

Conclusions : *The PanBio Leptospira IgM ELISA is a high sensitive and specific diagnostic test for severe leptospirosis. Because of high specificity, this test will be very useful for diagnosis confirmation of patients with severe leptospirosis.*

ABSTRAK

Latar Belakang : Leptospirosis merupakan penyakit yang mempunyai ciri variabilitas klinis yang luas, dari bentuk ringan sampai berat. Bukan merupakan hal mudah bagi dokter yang kurang berpengalaman untuk mendiagnosis leptospirosis berat secara klinis, karena beberapa penyakit menunjukkan kondisi yang mirip, serta memerlukan penanganan segera. Di lain pihak, kriteria untuk mengidentifikasi leptospirosis berat belum ditetapkan dengan baik. *Microscopic Agglutination Test* (MAT) merupakan baku emas untuk diagnosis serologi leptospirosis, tetapi pemeriksaan ini terbatas pada laboratorium yang mampu memelihara beberapa *strain* antigen hidup. *Immunoglobulin M* (IgM) *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) sering digunakan sebagai alternatif pemeriksaan MAT pada laboratorium diagnostik rutin, karena kemampuannya untuk mendeteksi antibodi IgM spesifik sebagai tanda infeksi yang baru. *PanBio Leptospira IgM ELISA* merupakan sebuah tes komersial untuk diagnosis infeksi leptospira akut.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* pada penderita dengan klinis leptospirosis berat yang dirawat di rumah sakit se-Kota Semarang (RS. Dr. Kariadi, RS. Telogorejo, RS. St. Elisabeth, RS. Roemani, RS. Panti Wilasa dan RSUD Kota Semarang).

Metodologi : Penelitian ini dilakukan dengan metode *cross sectional* selama periode November 2002 sampai dengan Maret 2004. Semua subyek penelitian diambil serumnya untuk dilakukan pemeriksaan MAT dan *PanBio Leptospira IgM ELISA*. Pemeriksaan MAT dilakukan di laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang dan ELISA dianalisis di laboratorium Prodia Jakarta. Kedua pemeriksaan tersebut dilakukan secara independen. Dari data yang terkumpul, kemudian dihitung sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan negatifnya dengan menggunakan tabel 2X2. Pada penelitian ini, nilai interval kepercayaan 95% juga dihitung.

Hasil : Selama periode penelitian didapatkan 43 penderita dengan klinis leptospirosis berat, terdiri dari 29 pria dan 14 wanita. Serovar *icterohaemorrhagiae* dideteksi pada sebagian besar penderita. Sensitivitas tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* 95,2% (95% CI: 88,8%–100%) dan spesifisitasnya 100%. Tes ini memiliki nilai ramal positif 100%, nilai ramal negatif 33,3% (95% CI: 19,2%–47,4%) dan akurasi 95,3% (95% CI: 88,9%–100%).

Kesimpulan : *PanBio Leptospira IgM ELISA* merupakan tes diagnostik yang sensitivitas dan spesifisitasnya tinggi untuk leptospirosis berat. Karena spesifisitasnya tinggi, tes ini sangat berguna untuk konfirmasi diagnosis penderita dengan leptospirosis berat.

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. LATAR BELAKANG

Leptospirosis adalah penyakit infeksi akut yang menyerang manusia dan hewan. Penyakit ini disebabkan oleh spesies *Leptospira interrogans* dari golongan *spirochaeta*. Leptospirosis merupakan zoonosis yang tersebar luas di dunia. Saat ini terdapat lebih dari 200 serovar spesies *Leptospira interrogans*.^{1, 2, 3}

Insiden leptospirosis belum diketahui pasti, karena penyakit ini sering tidak terdiagnosis atau tidak dilaporkan. Kejadian luar biasa leptospirosis di sejumlah negara, menjadikan penyakit ini sebagai salah satu dari *the emerging of infectious disease*. *International Leptospirosis Society* menyatakan Indonesia sebagai negara dengan insiden leptospirosis tinggi.⁴ Berdasarkan data Semarang tahun 1998-2000, insiden leptospirosis adalah 1,2 per 100.000 penduduk per tahun dengan angka kematian 16,7%.⁵ Pada bulan Februari-April 2002, terjadi kejadian luar biasa leptospirosis pasca banjir berkepanjangan di propinsi DKI Jakarta. Angka kematian cukup tinggi yaitu 21 penderita dari 103 yang dirawat di rumah sakit (20%).⁶

Leptospirosis pada manusia selalu dikaitkan dengan faktor-faktor risiko yang berhubungan dengan infeksi leptospira, seperti riwayat pekerjaan tertentu (petani, pekerja rumah pemotongan hewan, pembersih selokan), faktor lingkungan (tinggal di daerah rawan banjir, kontak dengan binatang rumah, populasi tikus di sekitar tempat tinggal), melakukan aktivitas tertentu (berkebun, menabur pupuk di sawah), serta higiene perorangan (berjalan di genangan air, tanpa proteksi diri, luka di kaki). Manifestasi klinis leptospirosis bervariasi, mulai dari subklinis sampai berat. Para ahli membagi penyakit ini menjadi leptospirosis anikterik dan leptospirosis ikterik, untuk

pendekatan diagnosis klinis dan penanganannya. Leptospirosis harus dipikirkan sebagai diagnosis banding dari penyakit demam akut terutama pada pasien yang berhubungan dengan faktor-faktor risiko tertentu, agar tidak terjadi keterlambatan atau kesalahan diagnosis.^{5, 7, 8, 9}

Pemeriksaan laboratorium memegang peranan penting untuk konfirmasi diagnosis leptospirosis, namun seringkali fasilitas ini tidak tersedia terutama di negara-negara berkembang. Diagnosis laboratorium leptospirosis terutama didasarkan pada pemeriksaan serologi, yaitu pemeriksaan *Microscopic Agglutination Test (MAT)*, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)* dan *immuno-fluorescent antibody test*. Pemeriksaan MAT digunakan sebagai *gold-standard* dalam mengevaluasi tes diagnostik leptospirosis yang baru, karena tes ini mempunyai sensitivitas yang tinggi dan dapat mendeteksi antibodi pada tingkat serovar. Pemeriksaan MAT tidak mudah dikerjakan, karena memerlukan peralatan mahal, petugas yang terlatih, *battery of strains leptospira*, sepasang sera dari pasien pada periode akut dan 5-7 hari sesudahnya. Di Indonesia, hanya laboratorium Badan Penelitian Veteriner Bogor dan laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang yang dapat melakukan pemeriksaan MAT ini. Dengan adanya permasalahan tersebut maka perlu dilakukan pemeriksaan serologi yang relatif mudah dikerjakan namun tidak mengurangi akurasi.^{5, 7}

Antibodi IgM muncul 3 hari setelah infeksi dan menetap selama 5 bulan sampai beberapa tahun. Deteksi antibodi spesifik IgM leptospira dengan metode ELISA merupakan prosedur *screening* yang dapat dipercaya untuk diagnosis leptospirosis. Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dapat mendeteksi infeksi yang disebabkan oleh beberapa serovar *Leptospira interrogans*, termasuk *hardjo*, *pomona*, *copenhageni*,

australis, medanesis, kremastos, nokolaevo, celledoni, canicola, grippotyphosa, szwajizak, djasiman dan tarassovi.^{10, 11, 12}

Mengingat latar belakang tersebut diatas dan masih sedikitnya penelitian mengenai metode ELISA untuk diagnosis leptospirosis, maka penulis mengajukan penelitian ini yang diharapkan dapat memberikan alternatif selain pemeriksaan MAT, yang selama ini digunakan sebagai pemeriksaan standar.

I.2. RUMUSAN MASALAH

Mengetahui nilai diagnostik *PanBio Leptospira IgM ELISA* sebagai salah satu tes diagnostik pada penderita leptospirosis berat yang dirawat di rumah sakit, dengan MAT sebagai baku emas

I.3. TUJUAN

Umum

Mengetahui nilai diagnostik *PanBio Leptospira IgM ELISA* sebagai salah satu tes diagnostik pada penderita leptospirosis berat yang dirawat di rumah sakit.

Khusus

1. Mengetahui sensitivitas dan spesifisitas.
2. Mengetahui nilai ramal positif dan nilai ramal negatif.
3. Mengetahui akurasi.

I.4. MANFAAT

PanBio Leptospira IgM ELISA diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif pilihan penunjang diagnostik dalam menegakkan diagnosis leptospirosis terutama pada penderita yang dirawat di rumah sakit.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. DEFINISI

Leptospirosis adalah penyakit infeksi akut yang disebabkan spesies *Leptospira interrogans*, bersifat patogen dan menyerang hewan serta manusia (zoonosis).^{1,2}

II.2. ETIOLOGI

Leptospira adalah *spirochaeta* berbentuk spiral, bersifat aerob obligat, bergerak aktif, ukuran 0,1 μm x 6-20 μm . Kedua ujungnya memiliki kait berupa flagellum periplasmik dan berputar pada sumbu panjangnya. Kuman ini dapat tumbuh optimal dalam media nutrisi agar pepton atau serum kelinci 10%, dengan pH 6,8-7,4 dan suhu 28-30^o C. Organisme ini termasuk dalam ordo *Spirochaetales*, famili *Leptospiraceae*, genus *Leptospira*.^{1,2,3,5}

Genus *Leptospira* dibagi menjadi 2 spesies yaitu *Leptospira interrogans* yang bersifat patogen dan *Leptospira biflexa* yang bersifat saprofit. *Leptospira interrogans* terdiri dari 24 *serogroup* dengan lebih dari 200 serovar, yaitu :^{1,2}

- | | | |
|-----------------------|-------------|---------------|
| - Icterohaemorrhagiae | - Cynopteri | - Javanica |
| - Hebdomadis | - Djasiman | - Sejroe |
| - Autumnalis | - Sarmin | - Panama |
| - Pyrogenes | - Mini | - Pomona |
| - Bataviae | - Tarassovi | - Ranarum |
| - Grippotyhosa | - Ballum | - Manhao |
| - Canicola | - Celledoni | - Shermani |
| - Australis | - Louisiana | - Hurstbridge |

II.3. EPIDEMIOLOGI

Leptospirosis merupakan salah satu *re-emerging disease*, sehingga dapat muncul sewaktu-waktu secara sporadis. Penyakit ini tersebar luas di dunia, baik daerah beriklim tropis maupun subtropis. *International Leptospirosis Society* menyatakan Indonesia sebagai negara dengan insiden leptospirosis tinggi. ⁴ Berdasarkan data Semarang tahun 1998-2000, insiden leptospirosis adalah 1,2 per 100.000 penduduk per tahun. ⁵ Di Indonesia, leptospirosis tersebar antara lain di Propinsi Jawa Barat, Jawa Tengah, DI Yogyakarta, Lampung, Sumatera Selatan, Bengkulu, Riau, Sumatera Barat, Sumatera Utara, Bali, NTB, Sulawesi Selatan, Sulawesi Utara, Kalimantan Timur dan Kalimantan Barat. ^{6,7}

Penelitian tentang leptospirosis pertama kali dilakukan oleh Adolf Heil (1886), yang melaporkan adanya penyakit pada manusia dengan gambaran klinis demam, pembesaran hati dan limpa, ikterus dan tanda kerusakan fungsi ginjal. Penyakit tersebut oleh Goldsmith (1887) disebut sebagai *Weil's Disease* dan Inada (1915) berhasil membuktikan bahwa penyakit ini disebabkan oleh *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Sejak itu beberapa jenis leptospira dapat diisolasi baik dari manusia maupun hewan. ⁶

Di Indonesia, leptospirosis dilaporkan dalam risalah Partoatmodjo (1964), bahwa sejak tahun 1936 telah diisolasi berbagai serovar leptospira, baik dari hewan liar maupun hewan peliharaan. Esseveld dan Colier (1938) dapat mengisolasi *L. pomona* dan *L. javanica* dari kucing. Serovar *hardjo* diisolasi oleh Wolf (1938) dari darah pekerja kebun karet di Deli. Kejadian pada manusia dilaporkan oleh Fresh (1971) di Sumatera Selatan dan Pulau Bangka, serta Light (1971) di beberapa rumah sakit di Jakarta. ⁶

Penularan ke manusia dapat secara langsung dan tidak langsung, karena dibawa oleh binatang yang terinfeksi leptospira. Binatang yang menjadi sumber penularan leptospirosis adalah rodent (tikus), babi, sapi, kambing, domba, kuda, anjing, kucing, burung, insektivora (landak, kelelawar, tupai). Binatang tersebut dianggap sebagai hospes *reservoir*, dimana leptospira hidup di dalam ginjal ataupun urin. Manusia terinfeksi melalui kontak dengan air, tanah (lumpur), tanaman, makanan minuman yang dikotori air seni hewan penderita leptospirosis. Bakteri leptospira masuk ke dalam tubuh melalui selaput lendir mata, hidung, kulit luka atau saluran cerna.^{6,8,9}

Leptospirosis umumnya menyerang para petani, pekerja perkebunan, pekerja tambang/selokan, pekerja rumah potong hewan dan militer. Studi faktor-faktor risiko kejadian penyakit dan kematian pada leptospirosis yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa faktor-faktor risiko yang diduga berhubungan dengan kejadian leptospirosis adalah higiene perorangan seperti kebiasaan mandi, riwayat adanya luka, lingkungan kurang bersih, pekerjaan, sosial ekonomi, banyaknya populasi tikus dalam rumah. Sedangkan faktor risiko yang berpengaruh terhadap kematian leptospirosis adalah umur penderita lebih dari 60 tahun, adanya komplikasi, kadar albumin serum rendah, produksi urin kurang dan kenaikan titer serologik (+). Angka kematian leptospirosis berat masih relatif tinggi berkisar 30-50%, meskipun saat ini ada kecenderungan menurun sampai 20%.^{8,9}

II.4. PATOGENESIS

Leptospira masuk ke dalam darah melalui *port d'entrée* di kulit, selaput lendir oral, nasal, konjungtiva dan sebagainya, yang selanjutnya berkembang biak dan menyebar melalui aliran darah ke organ-organ dan jaringan tubuh. Kuman leptospira merusak

endotel pembuluh darah kecil, sehingga menimbulkan vaskulitis dan peningkatan permeabilitas kapiler, yang menyebabkan kebocoran dan ekstrasvasasi cairan.^{1,5}

Beberapa faktor virulensi diduga berperan dalam patogenesis penyakit, namun masih belum diketahui dengan pasti. Dalam perkembangan terakhir faktor-faktor tersebut dijelaskan sebagai berikut :

- Produksi toksin

Areán membuktikan produksi toksin oleh leptospira secara in vivo (Levett, 2001). Aktivitas endotoksin dilaporkan pada beberapa serovar leptospira. Hemolisin diproduksi oleh serovar *ballum*, *hardjo*, *pomona*, *tarassovi* dan *canicola*, yang mengakibatkan lisisnya eritrosit dan membran sel lain yang mengandung fosfolipid. Serovar *pomona* dan *copenhageni* memproduksi sitotoksin protein yang secara in vivo berhubungan dengan infiltrasi makrofag dan sel polimorfonuklear.^{1,5}

- Perlekatan (*attachment*)

Leptospira terbukti melekat pada sel epitel. Leptospira yang virulen secara in vitro menempel pada sel epitel renal dan proses adesi ditingkatkan oleh adanya aglutinasi antibodi. Lipopolisakarida (LPS) leptospira memacu perlekatan netrofil pada sel endotel dan agregasi trombosit, serta diduga berperan dalam terjadinya trombositopenia.^{1,5}

- Mekanisme imunologi

Fase kedua dari leptospirosis akut adalah fase imun, yang ditandai dengan munculnya antibodi terhadap leptospira. Kadar kompleks imun yang berada di sirkulasi berhubungan dengan beratnya gejala penyakit, dan penurunan kadar kompleks imun di sirkulasi sejalan dengan perbaikan klinis.^{1,5}

Pada percobaan dengan babi Guinea menunjukkan bahwa antigen leptospiral terdapat di interstisial ginjal dan IgG serta C3 menumpuk di glomeruli dan dinding kapiler. Uveitis pada percobaan dengan kuda, berhubungan dengan adanya limfosit B pada retina. ¹

Antibodi antitrombosit ditemukan pada manusia dengan leptospirosis dan septikemia, yang diduga berperan dalam trombositopenia. Autoantibodi lain seperti IgG antibodi antikardiolipin dan antibodi antinetrofil sitoplasmik diduga berperan dalam patogenesis cedera vaskuler pada leptospirosis. *Leptospira* yang virulen memacu apoptosis secara *in vivo* dan *in vitro*. Apoptosis limfosit dipacu oleh TNF α pada percobaan tikus. ¹

- Protein permukaan

Membran luar *leptospira* terdiri dari lipopolisakarida (LPS) dan beberapa lipoprotein. Lipopolisakarida (LPS) bersifat imunogenik dan menentukan spesifisitas serovar. Komponen membran luar *leptospira* mungkin berperan dalam patogenesis nefritis interstisial. ¹

Infeksi *leptospira* dapat mengakibatkan gangguan hemostasis. Penelitian Jaroonvesema dkk (1975) mengemukakan bahwa *leptospira* dapat menyebabkan pemanjangan masa protrombin serta menurunnya faktor pembekuan V dan X, yang mungkin terjadi akibat *consumption coagulopathy* dan penurunan produksi faktor tersebut karena gangguan fungsi hati. Pemanjangan masa perdarahan dapat terjadi akibat kerusakan endotel kapiler oleh endotoksin yang dihasilkan *leptospira*. ⁹

Leptospira akan menghilang atau menurun jumlahnya dengan adanya respon imun baik humoral maupun seluler. *Leptospira* akan dieliminasi dari semua organ, namun *leptospira* dapat menetap di dalam ginjal dan sebagian akan mencapai *convoluted*

tubulus, serta membentuk koloni pada dinding lumen dan selanjutnya masuk dalam kemih. Pada keadaan ini di ginjal dapat terjadi nefritis yang menetap. *Leptospira* dapat dijumpai dalam air kemih 8 hari sampai beberapa minggu setelah infeksi (fase penyembuhan), bahkan sampai berbulan-bulan / bertahun-tahun.^{5,9}

II.5. GAMBARAN KLINIS

Gambaran klinis leptospirosis bervariasi mulai dari gejala ringan mirip influenza sampai gejala berat yang sering berakibat fatal. Pendapat terdahulu yang mengatakan bahwa leptospirosis identik dengan *Weil's disease* sesungguhnya tidak tepat. Para ahli membagi penyakit ini menjadi leptospirosis anikterik dan leptospirosis ikterik untuk pendekatan diagnosis klinis dan penanganannya. Masa inkubasi penyakit berkisar antara 2-20 hari, dengan rata-rata 10 hari. Perjalanan klinis leptospirosis umumnya bifasik karena mempunyai 2 fase yaitu fase leptospiremia dan fase imun yang dipisahkan oleh periode asimtomatik. Namun ada juga yang membagi menjadi 3 fase yaitu fase leptospiremia, fase imun dan fase penyembuhan.^{1,2,5,7}

Fase 1 (fase leptospiremia) adalah fase dijumpainya leptospira dalam darah, berlangsung 4-9 hari dan biasanya berakhir dengan menghilangnya gejala dan tanda klinis untuk sementara (periode asimtomatik) selama 2-3 hari. Fase 2 (fase imun) berkaitan dengan munculnya antibodi IgM dalam sirkulasi. Fase ini ditandai dengan munculnya kembali demam yang tidak melebihi 39°C selama 1-3 hari, kadang disertai meningismus. Pada fase ini dapat dijumpai iridosiklitis, neuritis optik, mielitis, ensefalitis dan neuritis perifer. Fase 3 (fase penyembuhan) terjadi pada minggu ke-2 s/d minggu ke-4. ditandai dengan perbaikan klinis berupa pulihnya kesadaran, hilangnya ikterus, produksi urin membaik, demam dan nyeri otot berangsur-angsur menghilang.^{1,2,5,7}

II.5.1. Leptospirosis anikterik

Manifestasi klinis leptospirosis anikterik diperkirakan mencapai 90% dari seluruh kasus leptospirosis di masyarakat. Pasien leptospirosis anikterik umumnya tidak berobat karena keluhannya dapat sangat ringan. Leptospirosis anikterik dapat sembuh sendiri (*self-limited*) dan gejala klinisnya menghilang dalam 2-3 minggu. Awitan leptospirosis anikterik mendadak yang ditandai demam ringan atau tinggi bersifat remiten, nyeri kepala, menggigil dan mialgia. Dijumpai nyeri otot betis, punggung dan paha yang sering berakibat pasien mengeluh sulit berjalan. Pemeriksaan fisik yang khas adalah *conjunctival suffusion* dan nyeri tekan daerah betis. Dapat dijumpai kelainan mata berupa uveitis, iridosiklitis. Limfadenopati, hepatomegali, splenomegali dan *rash* makulopapuler jarang ditemukan.^{1,7,9}

Gambaran klinis terpenting leptospirosis anikterik adalah meningitis aseptik yang sering terlewatkan karena tidak spesifik. *Leptospira* dapat ditemukan dalam cairan serebrospinal pada fase leptospiremia, namun menghilang pada minggu kedua setelah muncul antibodi dalam fase imun. Nyeri kepala pada fase imun leptospirosis anikterik merupakan petunjuk adanya meningitis aseptik. Pasien leptospirosis anikterik, tes, torniketnya dapat positif sehingga sering didiagnosis sebagai infeksi dengue. Penyakit ini harus dipikirkan sebagai salah satu diagnosis banding penyakit demam akut lain, terutama di daerah endemis.^{1,5,7}

II.5.2. Leptospirosis ikterik

Demam pada leptospirosis ikterik dapat persisten sehingga fase imun menjadi tidak jelas atau *overlapping* dengan fase leptospiremia. Ada tidaknya fase imun dipengaruhi oleh jenis serovar, jumlah kuman leptospira, status imunologi dan nutrisi pasien, serta kecepatan pemberian terapi yang tepat. Komplikasi yang terjadi pada leptospirosis ikterik menunjukkan bahwa penyakit ini bersifat

multisistem. Berat ringannya ikterik tidak mempunyai nilai prognostik. Bilirubin dapat meningkat tinggi, serum transaminase umumnya sedikit meningkat dan fungsi hati akan kembali normal setelah pasien sembuh. Leptospirosis ikterik merupakan penyebab tersering gagal ginjal akut. Azotemia, oliguria atau anuria umumnya terjadi pada minggu ke-2.^{1, 5, 7}

Pada leptospirosis ikterik sering dijumpai trombositopenia, sedang hipoprotrombinemia terjadi pada sebagian kecil pasien. Komplikasi pada paru berkisar antara 20-70%, umumnya berupa batuk, nyeri dada, hemoptisis, edema paru dan dapat terjadi *Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS)* yang fatal. Komplikasi kardiovaskuler dapat berupa miokarditis, gagal jantung kongestif dan gangguan irama jantung. Kelainan gambaran EKG yang tersering adalah blok atrioventrikuler derajat I dan fibrilasi atrium. Hipotensi sering dijumpai pada saat pasien masuk rumah sakit dan sering mengakibatkan gangguan fungsi ginjal. Komplikasi lain yang jarang adalah rhabdomyolisis, *thrombotic thrombocytopenic purpura*, kolesistitis akut tanpa batu, stenosis aorta, artritis reaktif, eritema nodosum, epididimitis dan sindroma Guillain-Barre.^{5, 7, 13, 14}

Komplikasi berat seperti miokarditis hemoragik, *multi-organ failure*, perdarahan masif dan ARDS merupakan penyebab utama kematian leptospirosis ikterik. Sedangkan penyebab kematian leptospirosis ikterik di RS. Dr. Kariadi periode 1979-1982 adalah koma uremikum, syok septik, gagal kardiorespirasi dan syok hemoragik. Angka kematian leptospirosis ikterik di RS. Dr. Kariadi berkisar 30-50%, meskipun telah mendapatkan terapi. Faktor-faktor prognostik yang berkaitan dengan kematian pada leptospirosis adalah oliguria, hiperkalemi, hipotensi, dispnea, lekositosis $> 12.900/\text{mm}^3$, kelainan EKG dan adanya infiltrat paru pada foto radiologis dada.^{5, 7, 15, 16}

II.6. DIAGNOSIS KLINIS

Diagnosis ditegakkan berdasarkan anamnesis keluhan dan gejala, serta pemeriksaan fisik dan ditunjang oleh pemeriksaan laboratorium. Menurut *The Center for Disease Control of Leptospirosis Report*, diagnosis leptospirosis dibagi dalam 3 klasifikasi, yaitu :^{5,17}

- *Suspect*, bila ada gejala klinis, tanpa dukungan uji laboratorium.

Diagnosis berdasarkan gejala klinis dan data epidemiologi menurut *Faine score* (tabel 1) yang direkomendasikan WHO tahun 1982.

- *Probable*, bila gejala klinis sesuai leptospirosis dan hasil tes serologi penyaring yaitu *dipstick*, *lateral flow* atau *Dri-Dot* positif.

- Definitif, bila :

1. Ditemukan leptospira atau antigen leptospira dari spesimen darah, jaringan/cairan tubuh, dengan pemeriksaan mikroskopik, kultur, inokulasi hewan atau reaksi polimerase berantai.
2. Gejala klinis sesuai leptospirosis dan didukung dengan hasil uji MAT atau IgM ELISA yang positif.

Tabel 1. Kriteria diagnosis leptospirosis menurut Faine, WHO, 1982

Daftar pertanyaan	Jawaban	Nilai
A. Gejala dan laboratorium		
• Sakit kepala mendadak	ya/tidak	2/0
• <i>Conjunctival suffusion</i>	ya/tidak	4/0
• Demam	ya/tidak	2/0
• Demam lebih dari 38 ⁰ C	ya/tidak	2/0
• Meningismus	ya/tidak	4/0
• Meningismus, nyeri otot, <i>conjunctival suffusion</i>	ya/tidak	10/0
• Ikterik	ya/tidak	1/0

<ul style="list-style-type: none"> Albuminuria atau azotemia 	ya/tidak	2/0
B. Faktor-faktor epidemiologi <ul style="list-style-type: none"> Riwayat kontak dengan binatang pembawa <i>leptospira</i>, pergi ke hutan, rekreasi, tempat kerja, diduga atau diketahui kontak dengan air yang terkontaminasi 	ya/tidak	10/0
C. Hasil laboratorium serologi <ul style="list-style-type: none"> Serologi (+) dan daerah endemis <ul style="list-style-type: none"> Serum tunggal (+), titer rendah Serum tunggal (+), titer tinggi Serum sepasang, titer meningkat Serologi (+) dan bukan daerah endemis <ul style="list-style-type: none"> Serum tunggal (+), titer rendah Serum tunggal (+), titer tinggi Serum sepasang, titer meningkat 	ya/tidak	2/0 10/0 25/0 5/0 15/0 25/0

Dikutip dari pustaka 17

Berdasarkan kriteria di atas, leptospirosis dapat ditegakkan jika :

- *Suspect* leptospirosis, bila A+B antara 20 – 25
- *Probable* leptospirosis, bila A atau A+B > 26 atau A+B+C > 25

Kriteria diagnosis leptospirosis ini mempunyai beberapa kelemahan. Faktor epidemiologi dalam kriteria diagnosis tersebut mempunyai nilai tinggi jika positif, padahal faktor ini bersifat subyektif dan tidak spesifik. Hasil pemeriksaan serologis dalam kriteria diagnosis tersebut menjadi kendala bagi klinisi, karena pemeriksaan serologis jarang tersedia dan hasilnya baru dapat diperoleh setelah beberapa hari. Karena itu kriteria diagnosis leptospirosis ini harus diterapkan secara hati-hati.^{7,8}

Faktor-faktor risiko yang berhubungan dengan leptospirosis baik subyektif maupun obyektif, merupakan *high index of suspicion* diagnosis leptospirosis pada manusia. Identifikasi faktor-faktor risiko leptospirosis pada saat pasien masuk rumah sakit akan

bermanfaat dalam menetapkan diagnosis kerja dan terapi awal. Faktor risiko leptospirosis sangat luas, mencakup beberapa faktor seperti riwayat pekerjaan tertentu, melakukan aktivitas tertentu, faktor lingkungan dan higiene perumahan.^{7,8}

II.7. DIAGNOSIS LABORATORIUM

Pemeriksaan bakteriologis langsung pada darah atau urin dengan mikroskop medan gelap mempunyai nilai positif palsu tinggi, karena filamen protein sering ditemukan pada sampel dan sangat mirip dengan leptospira. Karenanya pemeriksaan ini harus dikerjakan oleh seorang yang berpengalaman. Isolasi leptospira dapat diperoleh secara langsung dari darah, urin, jaringan tubuh atau kultur. Hasil kultur dapat digunakan sebagai diagnosis pasti, namun pemeriksaan mikrobiologi ini tidak dianjurkan sebagai *gold standard* karena sensitivitasnya rendah (20%) dan hasilnya baru diketahui setelah beberapa minggu.^{5,7}

Diagnosis laboratorium leptospirosis terutama didasarkan atas pemeriksaan serologi. Pemeriksaan serologi yang sering digunakan adalah *Microscopic Agglutination Test (MAT)*, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)* dan *immuno-fluorescent antibody test*. Pemeriksaan ini tidak mudah dikerjakan, memerlukan peralatan khusus, serta petugas terlatih. Tes serologi penyaring leptospirosis yang cepat, telah dikembangkan oleh *The Royal Tropical Institute (KIT)* Amsterdam dengan menggunakan metode *dipstick assay*, *lateral flow assay* dan *latex based agglutination test (LeptoTek Dri-Dot™)*. Saat ini pemeriksaan molekuler telah dikembangkan untuk diagnosis leptospirosis. DNA leptospira dapat dideteksi dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dari spesimen serum, urin, *humour aqueous*, cairan serebrospinal dan jaringan otopsi.^{5,7}

II.7.1. *Microscopic Agglutination Test (MAT)*

MAT adalah pemeriksaan secara mikroskopik untuk mendeteksi titer antibodi aglutinasi. Prinsip uji MAT adalah serum diencerkan secara serial, kemudian dicampur dengan suspensi kuman leptospira hidup pada suhu dan waktu tertentu, dan dicari aglutinasi 50% sebagai *end point titre* dengan mikroskop lapang gelap.⁵

Pemeriksaan MAT merupakan tes referensi utama dan sering digunakan sebagai *gold standard* dalam mengevaluasi tes diagnostik leptospirosis yang baru, karena mempunyai sensitivitas tinggi. MAT mendeteksi antibodi pada tingkat serovar, sehingga dapat mengidentifikasi *strain* leptospira. Pemeriksaan ini memerlukan panel suspensi kuman leptospira hidup dari semua jenis serovar dan sepasang sera dari pasien pada periode akut dan 5-7 hari sesudahnya. Pemeriksaan MAT dikatakan positif bila terjadi serokonversi berupa kenaikan titer 4 kali atau titer $\geq 1 : 320$ dengan satu atau lebih antigen tanpa kenaikan titer.^{7,10}

Kelemahan MAT adalah memerlukan fasilitas biakan untuk memelihara kuman leptospira (media cair EMJH/*Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris*), teknik pemeriksaannya sulit dan lama. Antibodi tidak dapat dideteksi bila panel kuman leptospira tidak lengkap dan ada kemungkinan munculnya serovar baru yang belum diketahui. Di Indonesia, pemeriksaan MAT hanya dapat dilakukan di laboratorium Badan Penelitian Veteriner Bogor dan laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang.^{5,7}

II.7.2. *Macroscopic Slide Agglutination Test (MSAT)*

Prinsip uji MSAT sama dengan MAT, namun secara makroskopik di atas kaca obyek. Hasil reaksi dinilai secara semi kuantitatif dengan mata telanjang. Interpretasi hasil sama dengan MAT. Uji MSAT kurang spesifik dibanding dengan MAT.^{5,18}

II.7.3. *Dipstick assay*

Dasar pemeriksaan ini adalah pendeteksian IgM *leptospira-specific* dalam serum manusia. Metode ini sederhana, praktis, relatif cepat, memerlukan waktu 2,5-3 jam. Metode ini hanya menggunakan tabung reaksi, reagen, pita celup *dipstick* dan *sentrifuge* untuk memproses serum pasien, serta tidak memerlukan tempat khusus seperti pada metode MAT. Metode ini menggunakan antigen *leptospira* yang telah difiksasi sebagai pita antigen yang dilekatkan pada *dipstick* sehingga relatif aman dan tidak ada risiko tertular.^{5,7}

Hasil evaluasi *multi-center LEPTODipstick-assay* (LDA) di 22 negara termasuk Indonesia menunjukkan bahwa, sensitivitas LDA masing-masing adalah 84,5% dan 92,1% pada serum yang diambil dalam periode 1-10 hari dan > 10 hari sakit. Sedangkan spesifisitas LDA masing-masing adalah 87,5% dan 94,4% pada serum yang diambil dalam periode 1-10 hari dan > 10 hari sakit.^{7,19}

II.7.4. *Lateral flow assay*

Metode ini dasar pemeriksaannya sama yaitu mendeteksi IgM *leptospira-specific*, dengan teknik *lateral flow* dan hasilnya dapat dibaca dalam waktu 10 menit. Teknik ini terdiri atas suatu pita pendeteksi yang terbuat dari nitroselulose, salah satu sisinya dilapisi bantalan berisi reagen *dried colloidal gold-labelled anti-human IgM antibody* dan sisi yang lain terdapat bantalan penyerap.^{5,7}

Hasil evaluasi *LeptoTek Lateral Flow™* (bioMerieux bv, Boxtel, NL) menunjukkan nilai diagnostik yang baik, yaitu mempunyai sensitivitas 85,8% dan spesifisitas 93,6%. Nilai ramal positifnya adalah 93,7% pada serum pasien yang diambil dalam periode 10 hari pertama dan 98,1% pada periode > 10 hari perjalanan penyakit. Tes ini menunjukkan persesuaian yang baik dengan tes *Leptospira IgM ELISA*, dengan *kappa index of agreement* 91,8%.^{7,20}

II.7.5. *Latex based agglutination test*

Tes diagnostik dengan metode ini diberi nama *LeptoTek Dri-Dot™* (*bioMerieux bv, Boxtel, NL*). Tes ini lebih praktis dan lebih cepat. Dasar kerja tes ini sama dengan metode sebelumnya. Dalam tes ini, 10 µl serum pasien diteteskan pada sebuah kartu aglutinasi, kemudian reagen pendeteksi dicampurkan dengan menggunakan spatula plastik sekali pakai. Hasil dibaca setelah 30 detik dan dinyatakan positif bila terjadi aglutinasi. ^{5,7}

Hasil evaluasi *LeptoTek Dri-Dot™* (*bioMerieux bv, Boxtel, NL*) menunjukkan sensitivitas 72,3% dan 88,2% pada serum yang dikumpulkan dalam periode 10 hari dan > 10 hari perjalanan penyakit. Spesifisitasnya 93,8% dan 89,8% pada serum yang dikumpulkan dalam periode 10 hari dan > 10 hari perjalanan penyakit. ^{7,21}

II.7.6. *Tes PanBio leptospira IgM ELISA*

Dibawah ini akan diuraikan tentang tatacara penggunaan *PanBio Leptospira IgM ELISA* dalam membantu menegakkan diagnosis leptospirosis. ¹¹

A. Prinsip pemeriksaan

Serum IgM antibodi bergabung dengan antigen *Leptospira* yang terikat pada permukaan polistirene dalam *microwell test strip*. Sisa serum dibuang dengan proses pencucian dan kemudian ditambahkan *peroxidase conjugated anti-human IgM*. *Microwell* kemudian dicuci kembali dan ditambahkan suatu sistem substrat tidak berwarna *tetramethylbenzidine/hydrogen peroxide* (TMB/H₂O₂). Substrat akan terhidrolisis oleh enzim dan kromogen akan berubah menjadi berwarna biru. Setelah reaksi dihentikan oleh penambahan suatu asam, TMB berubah warna menjadi kuning. Intensitas warna yang terjadi, berhubungan secara langsung dengan konsentrasi IgM antibodi *Leptospira* dalam sampel tes.

B. Bahan yang tersedia dalam Kit

1. *Leptospira antigen coated microwell* (12 x 8 well). Siap untuk digunakan. *Microwell* yang tidak digunakan sebaiknya segera ditutup kembali dan disimpan ditempat yang terdapat *dessicant*. Stabil pada 2-8 °C hingga kadaluwarsa.
2. *Wash buffer concentrate* : 1 botol, 60 ml, terdiri atas *phosphate buffered saline* konsentrat 20 x dengan deterjen dan pengawet. Kristalisasi dapat terjadi pada temperatur rendah dan dapat dikoreksi dengan inkubasi 37 °C hingga jernih dan campur dengan baik. Tambahkan 1 bagian *wash buffer* dengan 19 bagian air. *Buffer* yang telah diencerkan dapat disimpan selama 1 minggu pada temperatur kamar.
3. *Serum diluent IgM* : 2 botol, 50 ml (pink). Siap untuk digunakan. Terdiri atas *buffered saline* dengan pengawet dan bahan tambahan lainnya. Stabil pada 2-8 °C hingga kadaluwarsa.
4. *HRP conjugated anti human IgM* : 1 botol, 15 ml (kuning). Siap untuk digunakan. *Horseradish peroxidase conjugated sheep anti human IgM* dengan pengawet dan protein *stabilizer*. Stabil pada 2-8 °C hingga kadaluwarsa.
5. *Tetramethylbenzidine* (TMB), 1 botol, 15 ml. Siap untuk digunakan. Campuran dari 3,3', 5,5', *tetramethylbenzidine* dan *hydrogen peroxide* dalam suatu basa organik. Stabil pada 2-8 °C hingga kadaluwarsa.
6. *Positive control serum* : 1 vial tertutup berwarna hitam, 200 µl *human serum* (mengandung 0,1% w/v *sodium acide*). Stabil pada 2-8 °C hingga kadaluwarsa.

7. *Cut off calibrator serum* : 1 vial tertutup berwarna orange, 400 μ l *human serum* (mengandung 0,1% w/v *sodium acide*). Stabil pada 2-8 $^{\circ}$ C hingga kadaluwarsa.
8. *Negative control serum* : 1 vial tertutup berwarna putih, 200 μ l *human serum* (mengandung 0,1% w/v *sodium acide*). Stabil pada 2-8 $^{\circ}$ C hingga kadaluwarsa.
9. *Stop solution* : 1 botol, 15 ml. Siap untuk digunakan. Mengandung *IM phosphoric acid*. Stabil pada 2-8 $^{\circ}$ C hingga kadaluwarsa.

C. Bahan tambahan yang diperlukan

1. Mikropipet dan pipet yang akurat
2. *Air deionisasi*
3. Sistem pencucian *microplate*
4. Pembaca *microplate* dengan filter 450 nm
5. *Timer*
6. Silinder yang terbagi-bagi
7. Labu ukur
8. Tabung untuk pengenceran serum

D. Prosedur pemeriksaan

1. Ambil sejumlah *microwell* yang dibutuhkan dari kantong foil dan sisipkan ke dalam *microwell holder*. Lima *microwell* dibutuhkan untuk kalibrator negatif, positif dan *cut off*. Pastikan *microwell* yang tidak digunakan ditutup rapat dalam kantong foil.

2. Dengan menggunakan tabung pemeriksa yang sesuai atau *microtiter plate*, encerkan kontrol negatif, kontrol positif, *cut off calibrator* dan sampel pasien :
 - Dalam 10 μl serum tambahkan 1000 μl serum *diluent*, campur dengan baik atau dengan cara
 - Dalam 10 μl serum tambahkan 90 μl serum *diluent*, ambil 20 μl serum yang telah diencerkan dan tambahkan 180 μl serum *diluent*, campur dengan baik
3. Pipet 100 μl sampel yang telah diencerkan, kalibrator dan serum kontrol ke dalam masing-masing *microwell*.
4. Tutup *plate* dan inkubasi dalam 37 °C selama 30 menit.
5. Cuci 6 kali dengan *wash buffer* yang telah diencerkan.
6. Pipet 100 μl *HRP conjugated anti human IgM*, masukkan ke dalam masing-masing *well*.
7. Tutup *plate* dan inkubasi dalam 37 °C selama 30 menit.
8. Cuci 6 kali dengan *wash buffer* yang telah diencerkan.
9. Pipet 100 μl TMB, masukkan ke dalam masing-masing *well*.
10. Inkubasi selama 10 menit pada temperatur kamar, atur waktu dari saat pemberian pertama kali, warna biru akan terbentuk.
11. Dalam waktu 30 menit, baca absorben masing-masing *well* pada panjang gelombang 450 nm.

E. Prosedur pencucian *plate*

1. Keluarkan secara sempurna isi seluruh *well*.
2. Isi *well* (350 μl) selama siklus pencucian.

3. Setelah selesai 6 kali pencucian, balik *plate* dan ketuk-ketukkan pada kertas absorben untuk memastikan seluruh *wash buffer* telah terbuang.

F. Quality control

Setiap kit mengandung serum *cut off calibrator*, kontrol positif dan kontrol negatif. Nilai yang dapat diterima untuk serum ini dapat ditemukan pada masing-masing lembar spesifikasi. Pemeriksaan dikatakan tidak valid jika absorben yang dibaca pada kontrol dan/atau kalibrator tidak sesuai dengan spesifikasinya.

G. Perhitungan

PanBio Unit dapat diperoleh dengan menghitung rasio absorben *cut off* dengan absorben sampel, kemudian dikalikan dengan 10

$$\text{PanBio Unit} = 10 \times \frac{\text{Absorben sampel}}{\text{Rata-rata absorben } \textit{cut off}}$$

Contoh : Absorben sampel A : 0.949

Absorben sampel B : 0.070

Rata-rata absorben *cut off*: 0.302

Sampel A : $0.949/0.302 \times 10 = 31.4$ PanBio Unit

Sampel B : $0.070/0.302 \times 10 = 2.3$ PanBio Unit

H. Interpretasi hasil

PanBio Unit	Hasil	Interpretasi
< 9	Negatif	Tidak ada tanda adanya antibodi IgM (catatan 1)
9 – 11	<i>Equivocal</i>	Dianjurkan sampel untuk diperiksa ulang (catatan 2)
> 11	Positif	Spesifik terdapat antibodi IgM. Menunjukkan paparan saat ini atau masa lampau

Catatan 1 :

Jika antibodi IgM spesifik tidak terdeteksi dan terdapat kecurigaan terhadap infeksi, maka pemeriksaan dapat dikonfirmasi lebih lanjut pada spesimen 7 – 14 hari kemudian.

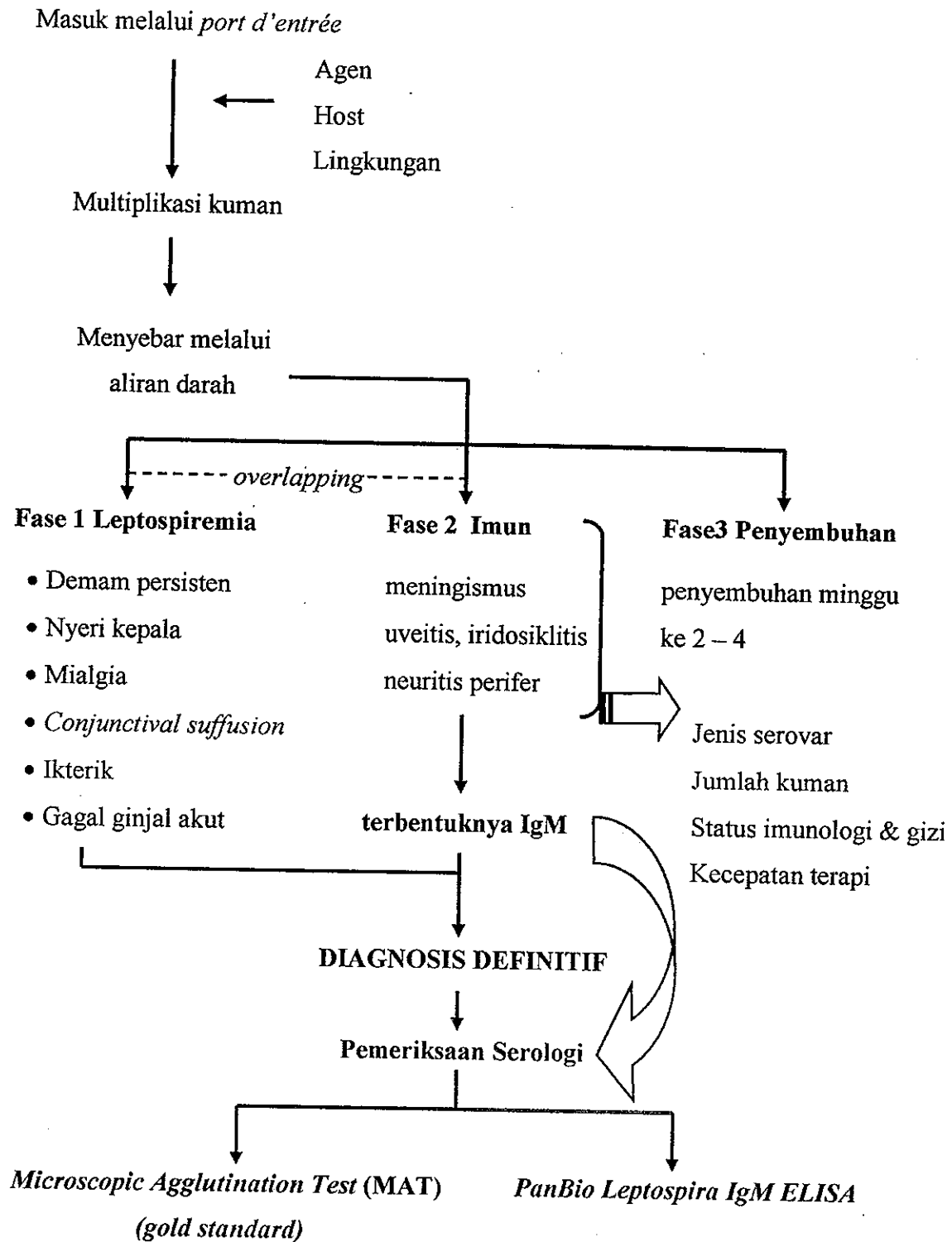
Catatan 2 :

Jika spesimen tetap *equivocal* setelah dilakukan pemeriksaan ulangan, spesimen sebaiknya diperiksa kembali menggunakan metode lainnya.

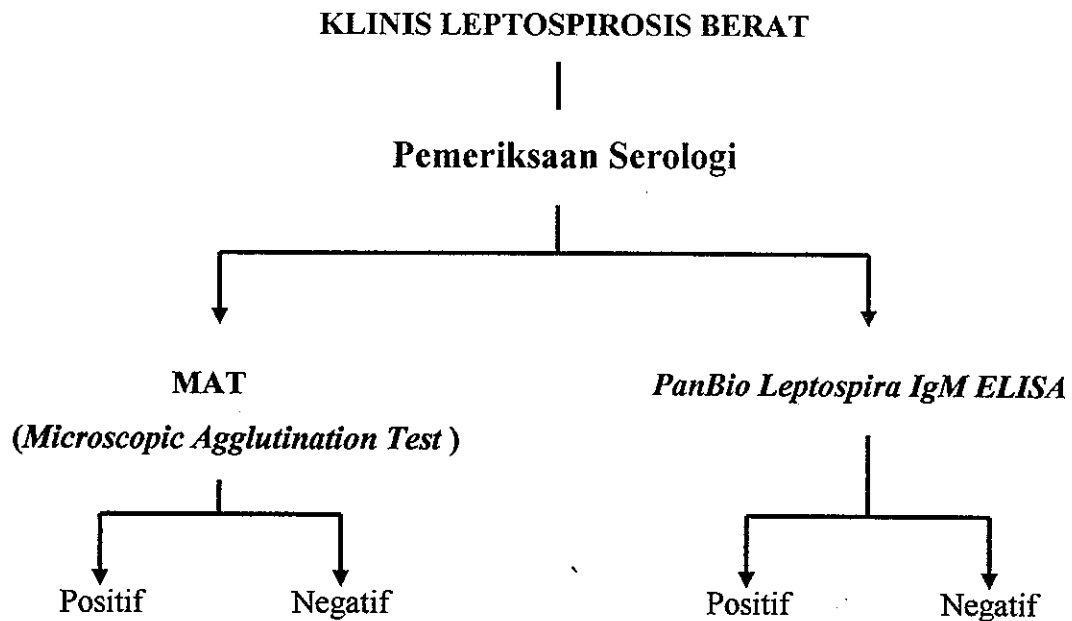
BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN ALUR PENELITIAN

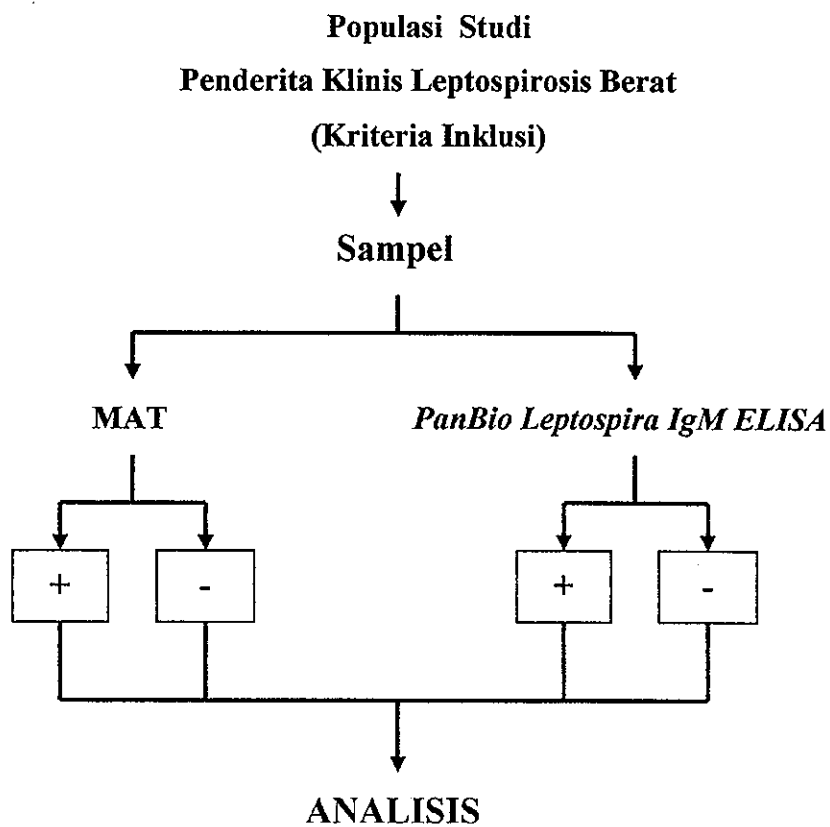
III.1. KERANGKA TEORI



III.2. KERANGKA KONSEP



III.3. ALUR PENELITIAN



BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

IV.1. DESAIN PENELITIAN

Desain penelitian adalah potong lintang (*cross sectional*) untuk mengetahui nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA*.

IV.2. TEMPAT DAN WAKTU

Tempat : Rumah sakit se-Kota Semarang, meliputi RS. Dr. Kariadi, RSUD Kota Semarang, RS. Telogorejo, RS. St. Elisabeth, RS. Roemani, RS. Panti Wilasa Citarum dan RS. Panti Wilasa Dr. Cipto.

Waktu : November 2002 – Maret 2004

IV.3. BAKU EMAS (*GOLD STANDARD*)

Baku emas diagnostik pada penelitian ini adalah pemeriksaan *Microscopic Agglutination Test* (MAT). Pemeriksaan ini dinyatakan positif bila terjadi serokonversi berupa kenaikan titer 4 kali atau titer awal $\geq 1 : 320$ dengan satu atau lebih antigen tanpa kenaikan titer.

IV.4. POPULASI DAN SAMPEL

- Populasi penelitian adalah penderita yang secara klinis suspek leptospirosis berat dan dirawat di rumah sakit selama periode waktu November 2002 sampai dengan Maret 2004.
- Responden penelitian adalah populasi penelitian yang memenuhi kriteria sampel.

IV.5. BESAR SAMPEL (RESPONDEN)

Besar sampel dihitung berdasarkan sampel tunggal untuk estimasi proporsi suatu populasi dengan menggunakan ketepatan absolut.²³

Rumus yang digunakan :

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 P.Q}{d^2}$$

Keterangan :

α : interval kepercayaan 95%, maka $Z_{\alpha}^2 = (1,96)^2$

P : sensitivitas diperkirakan 90% ($P = 0,9$)

Q : $1 - P = 0,1$

d : penyimpangan untuk sensitivitas sebesar $\pm 10\%$ (0,1)

Berdasarkan perhitungan di atas diperoleh jumlah sampel sebesar :

$$\text{Jumlah sampel} = \frac{(1,96)^2 \times 0,9 \times 0,1}{(0,1)^2} = 35$$

IV.6. KRITERIA SAMPEL

Kriteria Inklusi

❖ Penderita dengan klinis leptospirosis berat (diagnosis *suspect*) meliputi :

- demam persisten
- nyeri kepala
- *conjunctival suffusion*
- mialgia terutama otot betis
- ikterik
- meningismus
- azotemia
- leukositosis
- trombositopenia

- terdapat faktor risiko transmisi berupa : riwayat kontak dengan binatang pembawa leptospira, higiene perorangan dan sanitasi lingkungan yang kurang, riwayat adanya luka, aktivitas atau pekerjaan yang diduga kontak dengan air yang terkontaminasi kuman leptospira.

Kriteria Eksklusi

- ❖ Penderita yang tidak bersedia diambil darah secara serial untuk pemeriksaan MAT dan *PanBio Leptospira IgM ELISA*.

IV.7. BAHAN DAN ALAT

- Catatan medik penderita
- Alat pemeriksaan fisik (termometer, tensi, dll)
- Sduit *disposable*
- *Vacutainer*
- *Timer*
- *Sentrifuge*
- *PanBio Leptospira IgM ELISA* kit

IV.8. DEFINISI OPERASIONAL

- a. Demam persisten : peningkatan suhu badan dengan variasi suhu harian tidak berbeda lebih dari satu derajat.
- b. Nyeri kepala : nyeri yang dirasakan di seluruh kepala.
- c. *Conjunctival suffusion* : kemerahan pada konjungtiva bulbi disertai pelebaran pembuluh darahnya.
- d. Mialgia : nyeri bila dilakukan perabaan atau pemijatan terutama otot betis.

- e. Meningismus : terdapat tanda rangsang meningeal.
- f. Ikterik : warna kekuningan pada sklera.
- g. Azotemia : peningkatan ureum dan kreatinin serum.
- h. Lekositosis : peningkatan hitung lekosit $> 10.000/\text{mm}^3$.
- i. Trombositopenia : penurunan hitung trombosit $< 150.000/\text{mm}^3$.
- j. *PanBio Leptospira IgM ELISA* : suatu alat atau kit produksi *PanBio (Brisbane, Queensland, Australia)* untuk mendeteksi antibodi IgM *Leptospira* dengan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

IV.9. PENGUMPULAN DATA

- Penderita yang dirawat di rumah sakit se-Kota Semarang dan memenuhi kriteria sampel, dipilih sebagai calon sampel penelitian.
- Sebelum penelitian dimulai dijelaskan kepada responden tentang tujuan penelitian, prosedur pemeriksaan dan manfaat yang akan diperoleh.
- Responden yang setuju dilakukan penelitian diminta bukti persetujuan secara tertulis dengan membubuhkan tanda tangan atau cap jempol.
- Responden penelitian dicatat nama, umur, jenis kelamin, lama menderita sakit, alamat dan anamnesis lain yang diperlukan untuk kepentingan penelitian.
- Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari pertama penderita masuk rumah sakit, atas persetujuan tertulis dari yang bersangkutan ataupun orang yang bertanggung jawab terhadap penderita.
- Selanjutnya darah penderita dibawa ke laboratorium untuk dilakukan *sentrifuge*. Serum yang didapat kemudian dikirim ke laboratorium Prodia Semarang. Pemeriksaan *PanBio Leptospira IgM ELISA* dikerjakan di

laboratorium Prodia Jakarta dan pengiriman serum ke Jakarta dilakukan oleh laboratorium Prodia Semarang.

- Pada hari pertama dan ke-7 juga dilakukan pengambilan serum untuk pemeriksaan MAT yang dikirim ke Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP untuk disimpan pada suhu -20°C . Pemeriksaan MAT dilakukan di laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang.
- Hasil penelitian dicatat pada formulir penelitian dan kemudian dilakukan analisis.

IV.10. ANALISIS STATISTIK

Data yang terkumpul ditabulasi dan kemudian diproses secara manual. Dengan tabel 2X2 dilakukan perhitungan sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif, nilai ramal negatif dan akurasi tes *PanBio Leptospira IgM ELISA*, serta dihitung besarnya *95% Confidence Interval*.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Selama penelitian didapatkan 43 sampel yang memenuhi kriteria klinis leptospirosis berat. Dari semua sampel ini dilakukan pemeriksaan *PanBio Leptospira IgM ELISA* dan pemeriksaan *Microscopic Agglutination Test (MAT)*, dengan menggunakan serum penderita yang diambil pada hari ke-1 (serum A1) dan hari ke-7 (serum A2). Pemeriksaan *PanBio Leptospira IgM ELISA* dilakukan di laboratorium Prodia Jakarta, sedangkan pemeriksaan MAT dilakukan di laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang dan dikerjakan oleh seorang spesialis Mikrobiologi Klinik yang telah dilatih khusus.

Populasi sampel dari 43 penderita terdiri dari 29 (67,4%) pria dan 14 (32,6%) wanita. Distribusi sampel berdasarkan golongan usia terbanyak 41 – 50 tahun, sebanyak 12 (27,9%) penderita.

Tabel 2. Distribusi usia dan jenis kelamin penderita dengan klinis leptospirosis berat

Usia	Laki-laki	Wanita	Total
< 20	2	-	2
21 – 30	7	-	7
31 – 40	1	6	7
41 – 50	8	4	12
51 – 60	8	-	8
> 60	3	4	7
Total	29	14	43

Semua subyek penelitian tersebut adalah penderita yang dirawat di beberapa rumah sakit di Kota Semarang, meliputi : RS. Dr. Kariadi 23 (53,5%), RSUD Kota Semarang 5

(11,6%), RS. Telogorejo 4 (9,3%), RS. St. Elisabeth 3 (7%), RS. Roemani 2 (4,6%), RS. Panti Wilasa Citarum 3 (7%) dan RS. Panti Wilasa Dr. Cipto 3 (7%).

Pemeriksaan MAT di laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang menggunakan 22 serovar dari *Leptospira interrogans* yang bersifat patogen, yaitu : serovar *andamana*, *australis*, *bratislava*, *rachmati*, *ballum*, *castellonis*, *bataviae*, *benjamini*, *whitcombi*, *icterohaemorrhagiae*, *lai*, *naam*, *coxi*, *javanica*, *pomona*, *pyrogenes*, *sarmin*, *hardjo*, *saxkoebing*, *sejroe*, *semaranga* dan *shermani*. Dan 1 serovar dari *Leptospira biflexa* yang bersifat non-patogen yaitu serovar *patoc I*.

Pemeriksaan MAT dinyatakan positif, bila terjadi serokonversi berupa kenaikan titer 4 kali atau titer awal $\geq 1 : 320$ dengan satu atau lebih antigen tanpa kenaikan titer. Sedangkan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dinyatakan positif, bila PanBio Unit > 11 . Setelah dilakukan pemeriksaan MAT, dari 43 sampel penelitian didapatkan 97,6% (42 dari 43) penderita terdiagnosis leptospirosis secara definitif. Pada pemeriksaan *PanBio Leptospira IgM ELISA*, dari 43 sampel didapatkan 93% (40 dari 43) penderita terdiagnosis leptospirosis.

Dari 42 sampel yang terdiagnosis leptospirosis secara definitif dengan MAT, didapatkan 14 serovar dari *Leptospira interrogans* yaitu serovar *icterohaemorrhagiae* 10 kasus, serovar *bataviae* dan *coxi* masing-masing 6 kasus, serovar *hardjo*, *pyrogenes*, *rachmati* dan *semaranga* masing-masing 3 kasus, serovar *benjamini* 2 kasus, serovar *andamana*, *ballum*, *javanica*, *naam*, *sarmin* dan *sejroe* masing-masing 1 kasus. Serovar terbanyak penyebab leptospirosis pada penelitian ini adalah serovar *icterohaemorrhagiae* 10 (23,8%) kasus.

Pemeriksaan MAT dengan menggunakan serum A1, menunjukkan 25,6 % (11 dari 43) penderita tidak terdiagnosis leptospirosis (titer awal $< 1 : 320$) dan sisanya 74,4% (32 dari 43) penderita terdiagnosis leptospirosis. Pemeriksaan MAT selanjutnya dengan serum

A1 dan A2, menunjukkan 10 dari 11 penderita yang tidak terdiagnosis tersebut, mengalami serokonversi.

Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A1, menunjukkan 9,3% (4 dari 43) penderita tidak terdiagnosis leptospirosis (PanBio Unit < 9) dan sisanya 90,7% (39 dari 43) penderita terdiagnosis leptospirosis. Selanjutnya tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A2, menunjukkan 1 dari 4 penderita yang tidak terdiagnosis tersebut hasilnya positif (PanBio Unit > 11). Sedangkan pemeriksaan MAT dengan serum A1 dan A2, menunjukkan hasil positif pada 39 penderita tersebut.

Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A1, menunjukkan hasil positif pada 23,2% (10 dari 43) penderita, sebelum titer awal MAT terdeteksi (titer < 1 : 320). Pemeriksaan MAT selanjutnya dengan serum A1 dan A2, menunjukkan 10 penderita yang tidak terdiagnosis dengan MAT tersebut, mengalami serokonversi.

Berikut ini ditampilkan tabel 2X2 nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A1 penderita klinis leptospirosis berat.

Tabel 3. Tabel 2X2 nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A1 penderita klinis leptospirosis berat

		MAT		Jumlah
		+	-	
Tes <i>PanBio Leptospira IgM ELISA</i>	+	29	10	39
	-	3	1	4
Jumlah		32	11	43

Sensitivitas : 90,6% (95% CI : 81,9% – 99,3%)

Spesifisitas : 90,9% (95% CI : 82,3% – 99,5%)

Nilai Ramal + : 74,3% (95% CI : 61,3% – 87,4%)

Nilai Ramal – : 25% (95% CI : 12% – 37,9%)

Akurasi : 69,7% (95% CI : 56% – 83,4%)

Berikut ini ditampilkan tabel 2X2 nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A1 dan serum A2 penderita klinis leptospirosis berat.

Tabel 4. Tabel 2X2 nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A1 dan A2 penderita klinis leptospirosis berat

		MAT		Jumlah
		+	-	
Tes <i>PanBio Leptospira IgM ELISA</i>	+	40	0	40
	-	2	1	3
Jumlah		42	1	43

Sensitivitas : 95,2% (95% CI : 88,8% – 100%)

Spesifisitas : 100% (95% CI : 100%)

Nilai Ramal + : 100% (95% CI : 100%)

Nilai Ramal – : 33,3% (95% CI : 19,2% – 47,4%)

Akurasi : 95,3% (95% CI : 88,9% – 100%)

Pada penelitian ini didapatkan 40 (93%) penderita terdiagnosis leptospirosis, baik dengan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* maupun MAT (positif benar). Tidak ada penderita yang didiagnosis leptospirosis dengan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA*, tetapi bukan leptospirosis dengan MAT (positif palsu). Dua (4,7%) penderita tidak terdiagnosis leptospirosis dengan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA*, tetapi terdiagnosis leptospirosis dengan MAT (negatif palsu). Satu (2,3%) penderita tidak terdiagnosis leptospirosis, baik dengan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* maupun MAT (negatif benar).

BAB VI

PEMBAHASAN

Uji diagnostik yang ideal adalah uji diagnostik yang memberikan hasil positif pada semua subyek sakit dan negatif pada semua subyek sehat. Hal ini dapat terjadi bila suatu uji diagnostik mempunyai nilai sensitivitas dan spesifisitas masing-masing 100%. Keadaan tersebut sangat jarang ditemukan. Hampir semua uji diagnostik terdapat kemungkinan positif pada subyek sehat (positif palsu) dan negatif pada subyek sakit (negatif palsu).²⁴

Diagnosis leptospirosis memerlukan pemeriksaan tes serologi definitif yaitu *Microscopic Agglutination Test* (MAT). MAT merupakan tes referensi untuk diagnosis dan deteksi antibodi pada tingkat serovar. Namun MAT memiliki beberapa keterbatasan yaitu memakan waktu, memerlukan seorang spesialis Mikrobiologi Klinik yang sudah dilatih khusus untuk menginterpretasi hasil, memerlukan sepasang sera untuk konfirmasi serokonversi, memerlukan *battery of strains* leptospira, memerlukan pemeliharaan *stock cultures* dan menimbulkan risiko infeksi karena menggunakan organisme hidup. Dibutuhkan tes serologi yang lebih sederhana dan dapat dikerjakan di *non-reference* laboratorium. Tes serologi dengan metode ELISA merupakan alternatif dari pemeriksaan MAT di *non-reference* laboratorium. Namun sampai saat ini penelitian yang menggunakan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* masih terbatas, yaitu penelitian Winslow WE dkk (1997) dan Levett PN dkk (2002).^{25, 26}

Dalam penelitian ini telah dilakukan pengujian nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* pada penderita dengan klinis leptospirosis berat yang dirawat di rumah sakit. Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* menunjukkan sensitivitas yang baik (95,2%) dan spesifisitas yang tinggi (100%) dalam menegakkan diagnosis leptospirosis.

Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya. Penelitian Winslow WE dkk (1997) pada penderita klinis leptospirosis berat di Australia menunjukkan sensitivitas 100% dan spesifisitas 93%.²⁵ Sedangkan penelitian Levett dkk (2002) di Barbados menunjukkan sensitivitas 87,5% dan spesifisitas 96,4%.²⁶

Dalam penelitian ini tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A1 menunjukkan sensitivitas 90,6% dan spesifisitas 90,9%. Penelitian Levett dkk (2002) menunjukkan sensitivitas 70% pada serum A1.²⁶

Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A1, menunjukkan hasil positif pada 23,2% penderita, sebelum titer awal MAT terdeteksi. Hasil ini sesuai dengan penelitian Winslow WE dkk (1997) yang menunjukkan hasil positif pada 29% penderita, sebelum titer awal MAT terdeteksi.²⁵ Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan menggunakan serum A1, menunjukkan hasil positif pada 90,7% penderita. Sedangkan pemeriksaan MAT, menunjukkan hasil positif pada 74,4% penderita. Hal ini berarti tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* lebih sensitif dibanding MAT untuk mendeteksi infeksi akut lebih awal. Diagnosis dini leptospirosis sangat penting karena menentukan pengobatan yang tepat dan akhirnya dapat menekan angka kematian.

Dalam penelitian ini tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dapat mendeteksi kasus leptospirosis yang disebabkan oleh 13 serovar yaitu serovar *icterohaemorrhagiae*, *bataviae*, *coxi*, *hardjo*, *pyrogenes*, *rachmati*, *semaranga*, *andamana*, *ballum*, *javanica*, *naam*, *sarmin* dan *sejroe*. Penelitian Winslow WE dkk (1997) menunjukkan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dapat mendeteksi kasus leptospirosis yang disebabkan oleh serovar *hardjo*, *pomona*, *copenhageni*, *australis*, *medanesis*, *kremastos*, *nokolaevo*, *celledoni*, *canicola*, *grippotyphosa*, *szwajizak*, *djasiman* dan *tarassovi*.²⁵

Dua penderita tidak terdiagnosis leptospirosis dengan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA*, tetapi terdiagnosis leptospirosis dengan MAT (serovar *benjamini*). Kemungkinan

ini terjadi karena tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* tidak dapat mendeteksi leptospirosis yang disebabkan oleh serovar *benjamini*. Hal ini berarti bila hasil tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* negatif, masih perlu dikonfirmasi dengan pemeriksaan MAT karena tes ini hanya dapat mendeteksi leptospirosis yang disebabkan oleh serovar tertentu.

Penelitian Winslow WE dkk (1997) menunjukkan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* memberikan hasil positif palsu 1,6% (1 dari 59) pada serum donor sehat dan 6,8% (16 dari 233) pada serum penderita dengan infeksi RRV (*Ross River Virus*), *brucella*, EBV (*Epstein-Barr Virus*), CMV (*Cytomegalovirus*), *chlamydia*, *mycoplasma*, *Q-fever*, *toxoplasma*, hepatitis A virus, *Treponema pallidum*, *Borellia burgdorferi*.²⁵ Dalam penelitian ini tidak didapatkan hasil positif palsu, kemungkinan karena sebagian besar subyek didapatkan klinis leptospirosis ikterik (berat) dan tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* tidak dilakukan pada donor sehat atau penderita dengan infeksi akut yang lain.

Nilai ramal suatu penelitian sangat berfluktuasi, tergantung pada prevalens penyakit. Dalam keadaan sehari-hari, terdapat perbedaan antara prevalens di masyarakat dan di rumah sakit. Sebagian besar subyek di masyarakat biasanya menderita penyakit yang lebih ringan dibandingkan dengan di rumah sakit.²⁴ Dalam penelitian ini nilai ramal positif 100% dan nilai ramal negatif 33,3%, kemungkinan karena penelitian dilakukan pada populasi dengan prevalens penyakit (persentase subyek yang menderita sakit atau baku emas positif, terhadap seluruh obyek) sebesar 97,6% (42/43).

KETERBATASAN PENELITIAN

- Penelitian ini dilakukan di rumah sakit dengan jumlah sampel yang terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian dengan jumlah sampel yang lebih banyak.

- Penelitian ini hanya dilakukan pada penderita dengan klinis leptospirosis berat, sehingga nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* akan berbeda bila dilakukan pada penderita dengan derajat penyakit yang berbeda.
- Penelitian ini dilakukan pada populasi dengan prevalens penyakit yang tinggi (97,6%), sehingga nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* akan berbeda bila dilakukan pada populasi dengan prevalens penyakit yang rendah.
- Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* tidak dilakukan pada sampel donor sehat atau sampel dengan infeksi akut yang lain, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan.
- Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* hanya dapat mendeteksi leptospirosis yang disebabkan oleh serovar tertentu.
- Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* baru dapat dikerjakan di laboratorium Prodia Jakarta, sehingga perlu dilakukan standarisasi pemeriksaan agar tes ini dapat dikerjakan di laboratorium Prodia Semarang.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

VII.1. KESIMPULAN

Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* merupakan salah satu tes diagnostik serologi untuk diagnosis leptospirosis, yang telah dievaluasi oleh Winslow WE dan Levett PN. Hasil penelitiannya merekomendasikan bahwa tes ini dapat digunakan sebagai salah satu metode untuk skrining maupun diagnosis leptospirosis. Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan hal yang sama guna mengetahui nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* di Indonesia.

Penelitian dilakukan untuk mengetahui nilai diagnostik tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dengan *Microscopic Agglutination Test* (MAT) sebagai baku emas. Nilai diagnostik yang didapatkan sebagai berikut :

- Pada serum A1 didapatkan sensitivitas 90,6%, spesifisitas 90,9%, nilai ramal positif 74,3% , nilai ramal negatif 25% dan akurasi 69,7%.
- Pada serum A2 didapatkan sensitivitas 95,2%, spesifisitas 100%, nilai ramal positif 100%, nilai ramal negatif 33,3% dan akurasi 95,3%.

Kesimpulan dari data nilai diagnostik di atas adalah *PanBio Leptospira IgM ELISA* merupakan tes diagnostik yang sensitivitas dan spesifisitasnya tinggi untuk leptospirosis berat. Karena spesifisitasnya tinggi, tes ini sangat berguna untuk konfirmasi diagnosis penderita dengan leptospirosis berat.

VII.2. SARAN

- Tes *PanBio Leptospira IgM ELISA* dapat digunakan untuk konfirmasi diagnosis penderita dengan leptospirosis berat di rumah sakit yang tidak memiliki fasilitas laboratorium rujukan diagnostik leptospirosis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Levett PN. Leptospirosis. In : Clin. Microbiol. Rev., 2001; 14 (2) : 296 – 326.
2. Faine S. Leptospirosis. In : Hoeprich PD, Jordan C, Ronald AR. Infectious Diseases, 5th ed. JB Lippincott Company, Philadelphia, 1994 : 619 – 25.
3. Tappero JW, Ashford DA, Perkins BA. Leptospira Species (Leptospirosis). In : Mandell GL, Bennett JE, Dalin R, eds. Mandell, Douglas and Bennett's. Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Churchill Livingstone, A Harcourt Health Sciences Company, Philadelphia, 2000 : 2495 – 500.
4. International Leptospirosis Society. ILS World Wide Survey. Available from : http://www.leptonet.net/html/ils_worldwide_survey.asp
5. Soeroso S, Giriputro S, Pulungsih SP, dkk. Dalam : Soetanto T, Soeroso S, Ningsih S. Pedoman Tatalaksana Kasus dan Pemeriksaan Laboratorium Leptospirosis di Rumah Sakit. Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehat Lingkungan, Departemen Kesehatan RI, 2003 : 1 – 45.
6. Widarso HS, Wilfried P. Kebijakan Departemen Kesehatan Dalam Penanggulangan Leptospirosis di Indonesia. Dalam : Riyanto B, Gasem MH, Sofro MAU. Kumpulan Makalah Simposium Leptospirosis. Badan Penerbit UNDIP, 2002 : 1 – 14.
7. Gasem MH. Gambaran Klinik dan Diagnosis Leptospirosis pada Manusia. Dalam : Riyanto B, Gasem MH, Sofro MAU. Kumpulan Makalah Simposium Leptospirosis. Badan Penerbit UNDIP, 2002 : 17 – 31.
8. Hadisaputro S. Faktor-Faktor Risiko Leptospirosis. Dalam : Riyanto B, Gasem MH, Sofro MAU. Kumpulan Makalah Simposium Leptospirosis. Badan Penerbit UNDIP, 2002 : 32 – 44.
9. Soedin K. Leptospirosis. Dalam : Noer S, Waspadji S, Rachman AM, dkk. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, Jilid I, Edisi ketiga. Balai Penerbit FKUI, Jakarta, 1996 : 477 – 89.
10. Cumberland P, Everard COR, Levett PN. Assessment of The Efficacy of An IgM-ELISA and Microscopic Agglutination Test (MAT) in The Diagnosis of Acute Leptospirosis. In : Am. J. Trop. Med. Hyg., 1999 ; 61 (5) : 731 – 4.
11. PanBio Leptospira IgM ELISA Test. Cat. No. E-LEPO1M.doc., p : 1 – 3.

12. Levett PN, Branch SL, Whittington CU, Edwards CN, Paxton H. Two Methods for Rapid Serological Diagnosis of Acute Leptospirosis. In : *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2001; 8 (2) : 349 – 51.
13. Watt G, Padre LP, Tuazon ML, Calubaquib C. Skeletal and Cardiac Muscle Involvement in Severe, Late Leptospirosis. In : *J. Infect. Dis.*, 1990; 162 : 266 – 9.
14. Marotto PCF, Nascimento CMR, Neto JE, Marotto MS, Andrade L, Szanjbok J, Seguro AC. Acute Lung Injury in Leptospirosis : Clinical and Laboratory Features, Outcome, and Factors Associated with Mortality. In : *Clin. Infect. Dis.*, 1999; 29 : 1561 – 3.
15. Riyanto.B. Manajemen Leptospirosis. Dalam : Riyanto B, Gasem MH, Sofro MAU. Kumpulan Makalah Simposium Leptospirosis. Badan Penerbit UNDIP, 2002 : 54 – 9.
16. Dupont H, Dupont-Perdrizet D, Piere JL, Zehner-Hansen S, Jarrige B, Daijardin JB. Leptospirosis : Prognostic Factors Associated with Mortality. In : *Clin. Infect. Dis.*, 1997; 25 : 720 – 4.
17. Faine S. Guidelines for The Control of Leptospirosis. WHO Offset Publication No. 67, WHO, Geneva, 1982 : 43 – 54.
18. Brandao AP, Camargo ED, Da Silva ED, Silva MV, Abrao RV. Macroscopic Agglutination Test for Rapid Diagnosis of Human Leptospirosis. In : *J. Clin. Microbiol.*, 1998; 36 (11) : 3138 – 42.
19. Smits HL, Rudy A, Hartskeerl, Terpstra WJ. International Multi-Centre Evaluation of Dipstick Assay for Human Leptospirosis. In : *Tropical Medicine and International Health*, 2000; 5 : 124 – 8.
20. Smits HL, Eapen CK, Sugathan S, Kuriakose M, Gasem MH, et al. Lateral-Flow Assay for Rapid Serodiagnosis of Human Leptospirosis. In : *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2001; 8 (1) : 166 – 9.
21. Smits HL, Chee HD, Eapen CK, Sugathan S, Kuriakose M, Gasem MH, et al. Latex Based, Rapid and Easy Assay for Human in a Single Test Format. In : *Trop. Med. Int. Health*, 2001; 6 : 114 – 8.
22. Zochowski WJ, Palmer MF, Coleman TJ. An Evaluation of Three Commercial Kits for Use as Screening Methods for the Detection of Leptospiral Antibodies in the UK. In : *J. Clin. Pathol.*, 2001; 54 : 25 – 30.

23. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto H. Perkiraan Besar Sampel. Dalam : Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis. Edisi ke-2, CV. Sagung Seto, Jakarta, 2002 : 260 – 85.
24. Puspongoro HD, Wirya IW, Pudjiadi AH, Bisanto J, Zulkarnain SZ. Uji Diagnostik. Dalam : Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis. Edisi ke-2, CV. Sagung Seto, Jakarta, 2002 : 166 – 84.
25. Winslow WE, Merry DJ, Pirc ML, Devine PL. Evaluation of a Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Immunoglobulin M Antibody in Diagnosis of Human Leptospiral Infection. In : J. Clin. Microbiol., 1997; 35 (8) : 1938 – 42.
26. Levett PN, Branch SL. Evaluation of Two Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Methods for Detection of Immunoglobulin M Antibodies in Acute Leptospirosis. In : Am. J. Trop. Med. Hyg., 2002; 66 (6) : 745 – 8.