

**CLINICAL AGREEMENT ANTARA LEPTOTEK LATERAL
FLOW DENGAN LEPTOTEK DRI-DOT
PADA PENDERITA LEPTOSPIROSIS BERAT DI RUMAH
SAKIT SE-KOTA SEMARANG**



TESIS

OLEH :

I WAYAN MERTHA

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

2005

UPT-PUSTAK-UNDIP	
No. Daft:	4831/T/FK/G
Tgl.	5-10-06

LEMBAR PENGESAHAN REVISI

TESIS

*CLINICAL AGREEMENT ANTARA LEPTOTEK LATERAL FLOW DAN LEPTOTEK
DRI-DOT DAN NILAI DIAGNOSTIK LEPTOTEK LATERAL FLOW PADA
PENDERITA KLINIS LEPTOSPIROSIS BERAT DI RUMAH SAKIT
SE-KOTA SEMARANG*

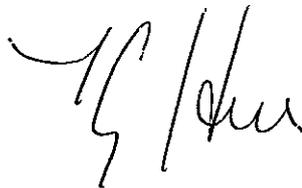
OLEH

I WAYAN MERTHA

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

DISETUJUI OLEH :

Pembimbing



Dr. Muhammad Hussein Gasem, PhD. SpPD-KPTI

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS

CLINICAL AGREEMENT ANTARA *LEPTOTEK LATERAL FLOW* DAN *LEPTOTEK DRI-DOT* DAN NILAI DIAGNOSTIK *LEPTOTEK LATERAL FLOW* PADA PENDERITA KLINIS LEPTOSPIROSIS BERAT DI RUMAH SAKIT SE-KOTA SEMARANG

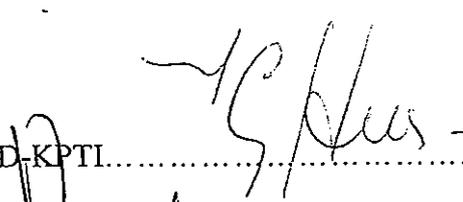
OLEH

I WAYAN MERTHA

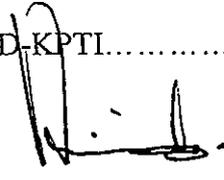
Tesis ini disusun dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

DISETUJUI OLEH :

1. Pembimbing

Dr. Muhammad Hussein Gasem, PhD. SpPD-KPTI.....

2. Konsultan

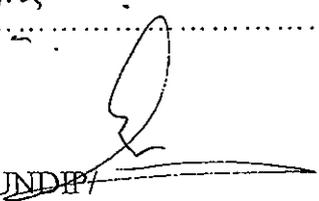
Dr. Budi Riyanto, MSc. SpPD-KPTI.....

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

Prof.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 : **"Clinical agreement antara LeptoTek Lateral Flow dengan LeptoTek Dri-Dot dan nilai diagnostik Leptotek Lateral flow 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. Para pasien Leptospirosis yang bersedia diambil darahnya untuk penelitian ini.
2. Dr. Muhammad Hussein Gasem, PhD. SpPD-KPTI, Kepala Sub Bagian Penyakit Tropik Infeksi dan pembimbing penelitian yang telah memberikan arahan, dorongan dan bimbingan selama penelitian ini.
3. Dr. Budi Riyanto, MSc. SpPD-KPTI, sebagai konsultan penelitian yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam penelitian ini.
4. Dr. Bambang Isbandrio, SpMK dan coordinator pemeriksaan MAT laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang erat selama penelitian ini.
5. Prof. Dr. Pasiyan Rachmatullah, SpPD-KP, sebagai anggota tim peneliti yang telah memberikan bimbingan dalam menyelesaikan penelitian ini.
6. Drs. Med. Pieter Jansen, *University Medical Center Nijmegen* Belanda, yang telah membantu penelitian pada tahap-tahap awal.
7. Petugas laboratorium Bagian Patologi Klinik FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang, Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP, atas kerjasamanya selama penelitian ini.
8. 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.

9. Prof.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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.

16. Ayah, ibu, Paman dan seluruh anggota keluarga atas segala doa, bimbingan, dorongan, pengertian dan pengorbanannya.

17. Istri terkasih Ni Made Ratmini, anak Ni Putu Frida Baskarani P dan Made Ary I Widiasthiti 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 2005

I Wayan Mertha

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Daftar Isi.....	vi
Daftar Tabel.....	viii
Abstrak.....	x
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>Latex based agglutination test</i>	16
II.7.5. <i>Tes LeptoTek Lateral Flow</i>	17
I. Peralatan yang dibutuhkan dalam pemeriksaan <i>LeptoTek</i> <i>Lateral Flow</i>	17
II. Prosedur pemeriksaan.....	18

BAB III.	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN ALUR PENELITIAN.....	20
	III.1. Kerangka Teori.....	20
	III.2. Kerangka Konsep.....	21
	III.3. Alur Penelitian.....	22
BAB IV.	METODOLOGI PENELITIAN.....	23
	IV.1. Desain Penelitian.....	23
	IV.2. Tempat dan Waktu.....	23
	IV.3. Baku Emas (<i>Gold Standard</i>).....	23
	IV.4. Populasi dan Sampel.....	23
	IV.5. Besar Sampel (Responden).....	24
	IV.6. Kriteria Sampel.....	24
	IV.7. Bahan dan Alat.....	25
	IV.8. Definisi Operasional.....	26
	IV.9. Pengumpulan Data.....	26
	IV.10. Analisis Statistik.....	27
BAB V.	HASIL PENELITIAN.....	30
BAB VI.	PEMBAHASAN.....	38
	KETERBATASAN PENELITIAN.....	41
BAB VII.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
	VII.1. Kesimpulan.....	42
	VII.2. Saran.....	43
	Daftar Pustaka.....	44

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kriteria diagnosis leptospirosis menurut Faine, WHO.....	12
Tabel 2 Hasil pemeriksaan MAT, LeptoTek Lateral Flow, LeptoTek Dri-Dot	30
Tabel 3. Tabel 2X2 nilai diagnostik tes <i>LeptoTek Lateral Flow</i> dan <i>LeptoTek Dri-Dot</i> dengan serum A1 pada penderita klinis Leptospirosis berat.....	32
Tabel 4. Tabel 2X2 nilai diagnostik tes <i>LeptoTek Lateral Flow</i> dan MAT dengan serum A1 pada penderita klinis Leptospirosis berat	33
Tabel 5 Tabel 2 X 2 nilai diagnostik <i>LeptoTek Lateral Flow</i> pada titik potong 1.....	34
Tabel 6 Tabel 2 X 2 nilai diagnostik <i>LeptoTek Lateral Flow</i> pada titik potong 2.....	34
Tabel 7 Tabel 2 X 2 nilai diagnostik <i>LeptoTek Lateral Flow</i> pada titik potong 3.....	35
Tabel 8 nilai Se,1-Sp,PV +, PV -, akurasi <i>LeptoTek Lateral Flow</i> pada penderita klinis Leptospirosis berat pada semua titik potong	36
Kurva ROC (Receiver Operator Curve)	37

ABSTRACT

Background : Leptospirosis, a zoonosis caused by pathogenic species of *Leptospira*, is endemic in Indonesia. Clinical features of leptospirosis range from mild, anicteric, non-specific febrile illnesses to severe disease with renal failure, liver impairment and hemorrhagic manifestations. Leptospirosis may resemble other tropical and infectious diseases such as influenza, dengue fever, typhoid fever, acute hepatitis, severe malaria, and other viral hemorrhagic with/without renal failure. Microscopic agglutination test (MAT) is a definitive serological test for laboratory confirmation of leptospirosis but is test is not widely available in Indonesia, time -consuming and need special trained laboratory personel. Two rapid diagnostic tests for leptospirosis, LeptoTek Lateral Flow™ (bioMerieux bv,Boxtel,NL) and LeptoTek Dri-Dot™ (bioMerieux bv,Boxtel,NL) are now commercially available. Both test are simply to perform, require no special equipment, and the result are readily available within 10 minutes and 30 seconds, respectively.

Objective of study : To evaluate the clinical agreement between the two rapid tests in the diagnosis of Leptospirosis.

Methods : During cross-sectional study for the evaluation of diagnostic performance of the tests, a kappa index agreement was calculated.

Result : Fifty-five patients were included in the study, consisted of 45 patients with severe leptospirosis (n = 45), 9 patiens with clinically resembled mild or severe leptospirosis [dengue fever (n=1), typhoid fever (n=3), acute hepatitis B virus (n=2), sepsis (n=2) and cronic renal failure (n=1)], and 5 healthy controls.

All patients sera were tested to LeptoTek Lateral Flow™ and LeptoTek Dri-Dot™ by different evaluators. The results of both assays showed 100% agreement beyond chance (kappa index = 1.0).

Conclusion: LeptoTek Lateral Flow™ and LeptoTek Dri-Dot™ demonstrated a perfect agreement. Both tests may be interchangeably used for the laboratory diagnosis of leptospirosis..

ABSTRAK

Latar Belakang : Leptospirosis, adalah penyakit hewan yang disebabkan oleh spesies pathogen leptospira, yang endemis di Indonesia. Gambaran klinisnya bervariasi dari ringan seperti ainicterik, panas yang tidak spesifik sampai pada gejala yang berat disertai gagal ginjal, kelainan fungsi hepar, serta adanya manifestasi perdarahan. serta gambaran yang mirip dengan penyakit infeksi yang lain, seperti influenza, demam dengue, demam tifoid, hepatitis akut, malaria berat dan beberapa demam yang disebabkan oleh virus, dengan manifestasi perdarahan, dengan atau disertai gagal ginjal. Mikroaglutinasi tes (MAT) adalah tes serologi definitif, untuk konfirmasi leptospira, tetapi tes ini tidak tersedia secara luas di Indonesia, disamping memerlukan waktu yang lama dan memerlukan tenaga laboratorium yang terlatih. Dua metode rapid tes untuk pemeriksaan leptospira, *LeptoTek Lateral Flow*TM, (bioMerieux bv, Boxtel, NL) dan *LeptoTek Dri-Dot*^{TM, TM}, (bioMerieux bv, Boxtel, NL) telah diperkenalkan. Kedua tes ini sangat simple, tidak membutuhkan peralatan khusus, dan hasil sangat cepat dan dibutuhkan waktu masing-masing 10 menit dan 30 detik.

Tujuan : Untuk mengevaluasi *Clinical Agreement* antara *LeptoTek Lateral Flow* dengan *Leptotek Dri-Dot* untuk menegakkan Leptosiroosis, 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 *LeptoTek Lateral Flow* serta *LeptoTek Dri-Dot*. Pemeriksaan MAT dilakukan di laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang dan *LeptoTek Lateral Flow* serta *LeptoTek Dri-Dot* dilakukan di Laboratorium Biotek, FK UNDIP. Semua pemeriksaan tersebut dilakukan secara independen. Dari data yang terkumpul, kemudian dihitung *Clinical Agreement*, *Kappa indeks*, 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 45 penderita dengan klinis leptospirosis berat, 9 pasien dengan gejala klinis mirip dengan leptospirosis berat [dengue fever (n=1), demam tifoid (n= 3), hepatitis B akut (n= 2), sepsis (n=2) dan CRF (n= 1)] dan 5 orang kontrol sehat.

Semua serum penderita dilakukan test *LeptoTek Lateral Flow* dan *LeptoTek Dri-Dot*, dan pembacaan hasil dilakukan oleh orang yang berbeda. Didapatkan *Clinical agreement* 100% dengan Kappa indeks 1.0

Kesimpulan : *LeptoTek Lateral Flow*TM dan *LeptoTek Dri-Dot*TM menunjukkan hasil kesesuaian yang sangat baik, kedua tes dapat saling menggantikan dalam menegakkan diagnosis leptospirosis.

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 infectious disease*. *The International Leptospirosis Society* menyatakan Indonesia sebagai negara dengan insidens 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 hygiene 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}

Sampai saat ini telah tersedia berbagai macam test diagnostik yang tidak memerlukan keterampilan khusus, yaitu metode *dipstick* yang dapat menjadi alternatif membantu menegakkan diagnosis pada penderita dengan persangkaan *Leptospira*.

Mengingat latar belakang tersebut diatas dan perlunya tindakan yang cepat dalam menentukan diagnosis penderita dengan kecurigaan *Leptospira*, maka penelitian ini

dilaksanakan untuk membantu menegakkan diagnosis *Leptospira* secara cepat dan akurat, dan penelitian ini dikerjakan di Rumah Sakit Kota Semarang.

I.2. RUMUSAN MASALAH

Diagnosis leptospirosis secara cepat dengan *rapid test* dimana peneliti ingin mengetahui sensitivitas, spesifisitas dan *clinical agreement* antara *LeptoTek Lateral Flow* dan *LeptoTek Dri-Dot* sebagai metode *rapid test* untuk menegakkan Leptospirosis.

I.3. TUJUAN

Umum

Untuk mengevaluasi nilai diagnostik *LeptoTek Lateral Flow* dan *Clinical agreement* terhadap *LeptoTek Dri-Dot* dalam mendiagnosis *Leptospira*.

Khusus

1. Mengetahui sensitivitas dan spesifisitas.
2. Mengetahui nilai ramal positif dan nilai ramal negatif.
3. Mengetahui akurasi.
4. Mengetahui *Kappa Indeks Agreement*

I.4. MANFAAT

LeptoTek Dri-Dot dan *LeptoTek Lateral Flow* 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* 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 |
| - Grippytyhosa | - 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 lumien 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. 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 39⁰C 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 keluhanannya 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, arthritis 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, leukositosis $> 12.900/\text{mm}^3$, 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

• Albuminuria atau azotemia	ya/tidak	2/0
B. Faktor-faktor epidemiologi		
• 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		
• Serologi (+) dan daerah endemis		
Serum tunggal (+), titer rendah	ya/tidak	2/0
Serum tunggal (+), titer tinggi	ya/tidak	10/0
Serum sepasang, titer meningkat	ya/tidak	25/0
• Serologi (+) dan bukan daerah endemis		
Serum tunggal (+), titer rendah	ya/tidak	5/0
Serum tunggal (+), titer tinggi	ya/tidak	15/0
Serum sepasang, titer meningkat	ya/tidak	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 perorangan.^{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-DotTM*). 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 dan spesifisitas 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 bisa tidak terdeteksi bila panel kuman leptospira tidak lengkap atau ada 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. *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.

Dibawah ini akan diuraikan tatacara penggunaan *LeptoTek Dri-Dot*.

- Keluarkan kartu tes dari kertas segelnya, selanjutnya letakkan pada tempat datar dan kering.
- Ambil 10 µl serum pasien dengan dugaan Leptospirosis, lalu ditetaskan kartu yang sudah mengandung Antigen Leptospira.

- Lakukan pencampuran dengan spatula plastic yang sudah disediakan bersama paket tersebut.
- Biarkan terjadi reaksi, hasil diamati 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.7.5 LeptoTek Lateral Flow

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}

Dibawah ini akan diterangkan tatacara penggunaan *Lepto Tek Lateral Flow*, dalam membantu menegakkan diagnosis *Leptospira* :

I. Peralatan yang dibutuhkan dalam pemeriksaan *Lepto Tek Lateral Flow* :

- Kartu Test dengan kemasan yang mengandung antigen dengan garis yang sudah

dilengkapi apabila ditetaskan darah atau serum penderita.

- Botol yang berisi buffer yang merupakan paket dengan alat tersebut
- Darah atau serum penderita dengan kecurigaan *Leptospira*
- Pipet Reagen untuk pengambilan serum dan untuk pengambilan larutan buffer
- Timer yang dipergunakan untuk menghitung waktu dan disetel selama 10 menit

II. Prosedur Pemeriksaan :

- ◆ Keluarkan kartu dari segelnya, masing-masing kartu tersegel tersendiri dan letakkan pada tempat meja yang datar atau tempat kering.
- ◆ Ambil serum sebanyak 10 μ l, lalu teteskan pada tempat yang cekung pada salah satu ujungnya, kemudian tambahkan dengan larutan buffer sebanyak 130 μ disekeliling serum tadi.
- ◆ Timer disetel selama 10 menit
- ◆ Hasil dibaca dalam 10 menit dan akan stabil.

Pembacaan hasil *LeptoTek Lateral Flow* pada pemeriksaan ini :

Hasil Negatif apabila tidak nampak garis pada daerah test dan hanya terlihat garis pada daerah kontrol.

Hasil dinyatakan positif apabila terdapat garis pada daerah test dan garis pada daerah kontrol. Namun untuk hasil yang positif ini dikelompokkan menjadi 3 yaitu :

1. Positif (+) 1 : bila garis pada daerah test lebih lemah dibandingkan garis pada daerah kontrol.
2. Positif (+) 2 : bila garis daerah test sama kuatnya dengan garis daerah kontrol
3. Positif (+) 3 : bila garis test lebih jelas dibandingkan dengan daerah kontrol
4. Hasil tidak sah jika tidak muncul garis daerah kontrol, pemeriksaan diulang dengan kertas test yang baru.

Hal-hal yang perlu menjadi pertimbangan dalam test ini adalah :

- ⊛ Sensitivitas pemeriksaan dan kuatnya garis yang muncul tergantung pada stadium penyakit dan faktor lain. Antibodi terdeteksi kadarnya kuat kira-kira 1 minggu setelah kejadian sakit, sampel yang diambil terlalu awal akan memberikan nilai yang negatif.
- ⊛ Positif palsu terjadi pada sampel dengan faktor reumatoid positif pada serum tersebut.

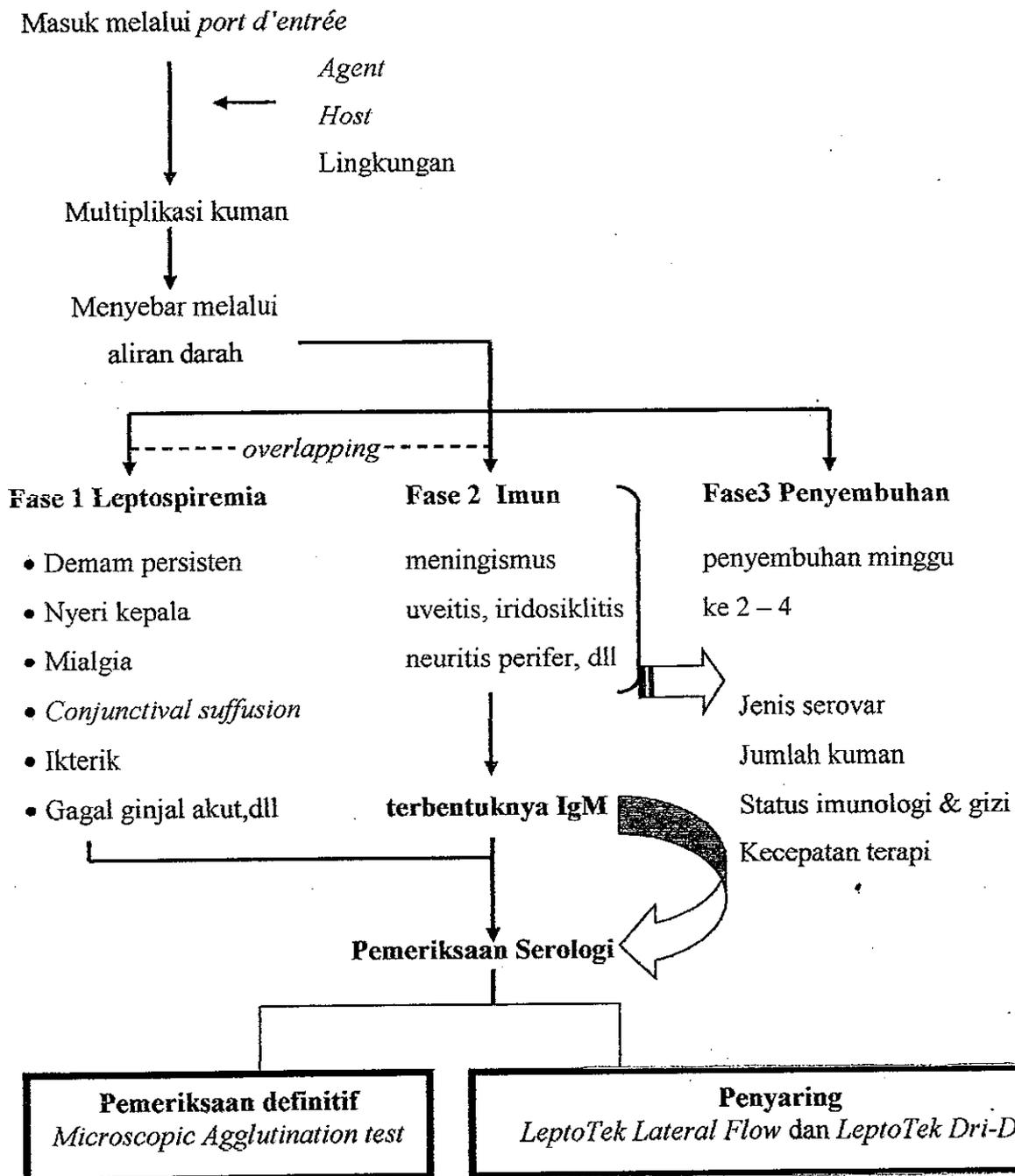
Gambar 1 Tes *LeptoTek Dri-Dot* dengan interpretasi hasil

Gamabar 2 Kartu *LeptoTek Lateral Flow* dengan interpretasi hasil

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN ALUR PENELITIAN

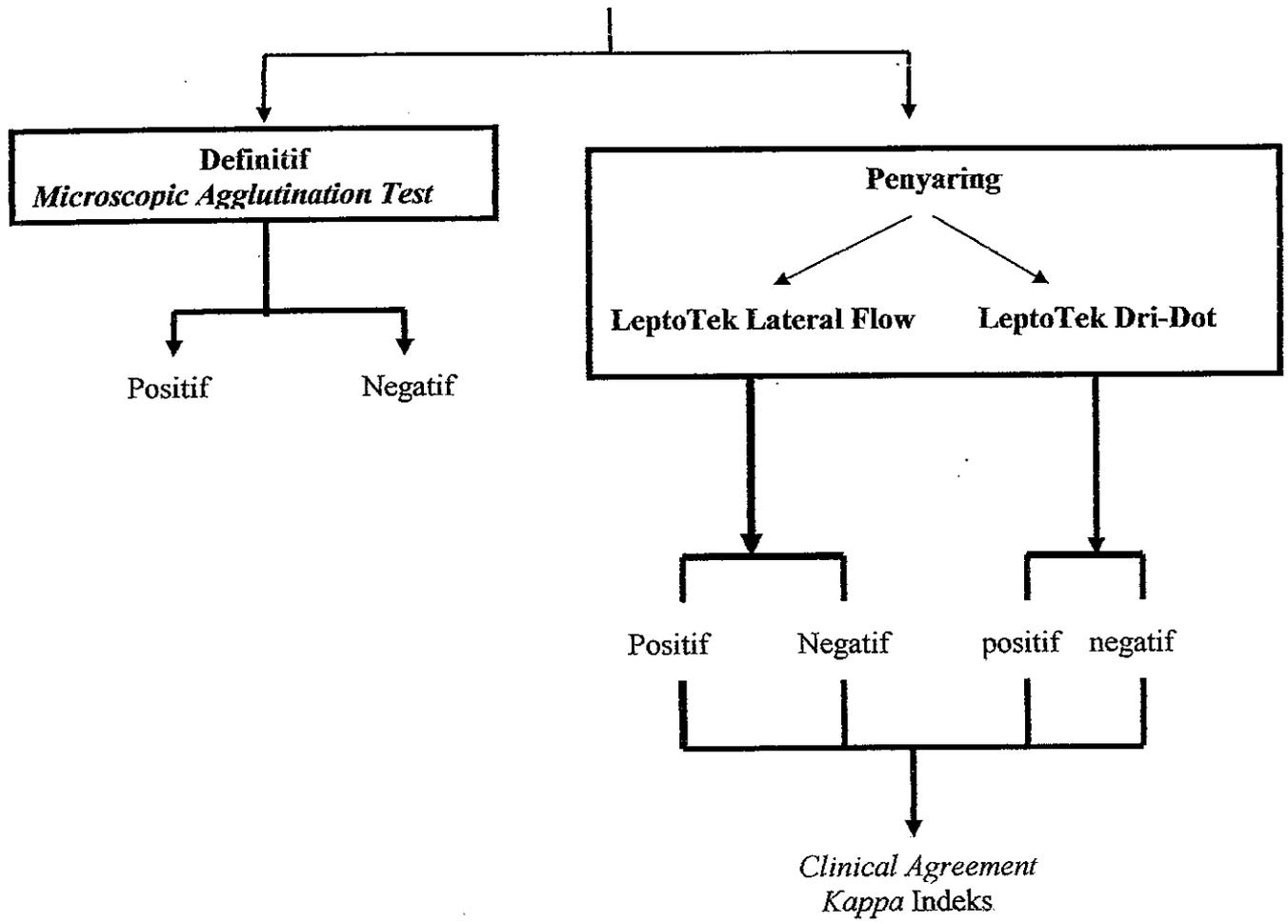
III.1. KERANGKA TEORI

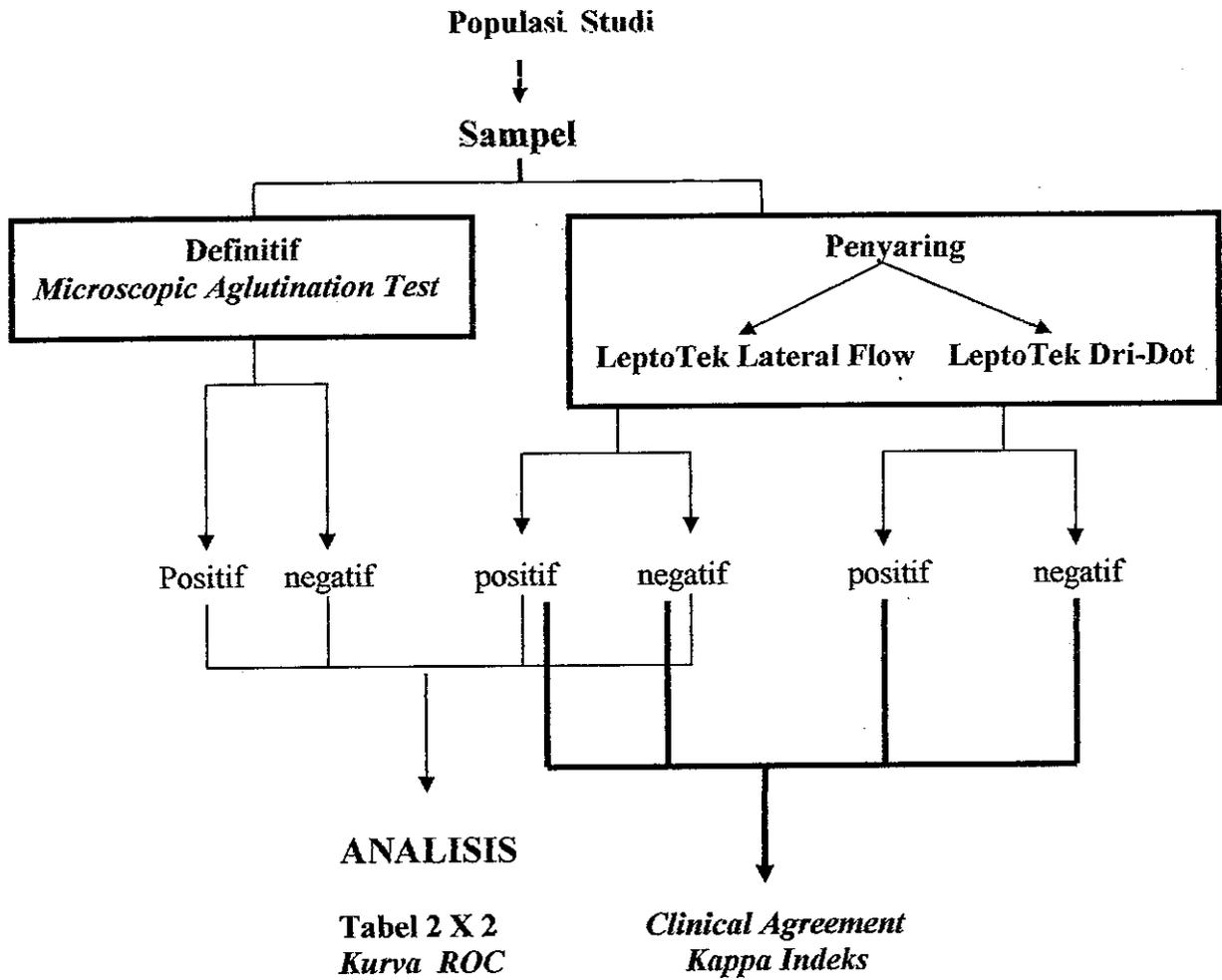


III.2. KERANGKA KONSEP

KLINIS LEPTOSPIROSIS BERAT

Pemeriksaan Serologi



III.3. ALUR PENELITIAN

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

IV.1. DESAIN PENELITIAN

Desain penelitian adalah potong lintang (*cross sectional*) untuk mengetahui “*Clinical Agreement*” antara *LeptoTek Dri- Dot*TM dengan *LeptoTek Lateral Flow*TM dan nilai diagnostik *LeptoTek Lateral Flow*.

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 diagnosis 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)

Responden adalah anggota populasi penelitian yang dipilih dan memenuhi kriteria sample selama rentang waktu yang telah ditentukan atau sampai terpenuhi jumlah sample.

Jumlah sample pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus dibawah ini.

Menurut Smits (1998) dari *Royal Tropical Institute, Amsterdam* :²⁷

$$n = \frac{(p \times (1-p))}{s.e^2}$$

Keterangan :

n : Jumlah sampel

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

s.e.: *standard error*, sebesar 2,5 %

Berdasarkan perhitungan di atas diperoleh jumlah sampel sebesar :

$$\text{Jumlah sampel} = \frac{(0,9 \times (1-0,9))}{0,025^2} = 256 \text{ sampel}$$

IV.6. KRITERIA SAMPEL

Kriteria Inklusi

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

- demam akut
- demam dengan gejala sebagai berikut :
 - = *conjunctival suffusion*
 - = myalgia terutama otot betis
 - = azotemia
 - = leukositosis
 - = ikterus

- 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

Kriteria Kontrol Negatif

- Kontrol Sehat (Perawat dan Residen Penyakit Dalam), tanpa riwayat menderita Leptosiprosis
- Kontrol Penyakit lain yang sudah ditegakkan diagnosanya, secara klinis mirip leptospirosis berat (Hepatitis virus B, *Dengue Hemorrhagic Fever (DHF)*, *Chronic renal failure (CRF)* ,Typhoid fever), yang dirawat di bangsal penyakit dalam.

IV.7. BAHAN DAN ALAT

- Catatan medik penderita
- Alat pemeriksaan fisik (termometer, tensi, dll)
- Sduit *disposable*
- *Vacutainer*
- *Timer*
- *Sentrifuge*
- *Pipet Mikrodrip*
- *LeptoTek Lateral Flow*
- *LeptoTek Dri- Dot*

IV.8. DEFINISI OPERASIONAL

- a. Demam : peningkatan suhu badan pada pemeriksaan axiler $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ atau $\geq 38,4^{\circ}\text{C}$ pada pengukuran rectal.
- 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. LeptoTek Lateral Flow : suatu kartu tes produksi Organon Teknika B.V, yang dikembangkan oleh *Royal Tropical Institute* Belanda untuk mendeteksi antibody IgM *Leptospira*.

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 Bioteknologi Semarang. Pemeriksaan *LeptoTek Dri-Dot* dan *LeptoTek Lateral Flow* dikerjakan di laboratorium Bioteknologi 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.
- Darah kontrol negatif (penderita DHF, Hepatitis Virus B, CRF, Typhoid fever) dan kontrol sehat (Perawat dan Residen Penyakit Dalam FK undip), setelah diambil darah dilakukan pemeriksaan *LeptoTek Dri-Dot*, *LeptoTek Lateral Flow* di Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP, dan pemeriksaan MAT di Laboratorium Mikrobiologi FK UNDIP/RS .Dr. Kariadi.

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 *LeptoTek Lateral Flow*, serta dihitung besarnya 95% *Confidence Interval*. Sedangkan untuk mendapatkan sensitivitas dan spesifisitas terbaik yang dapat diterima dengan menggunakan *trade off* pada *kurva ROC*.

Indeks *Kappa* digunakan untuk mengukur kesesuaian antara *LeptoTek Dri-dot* dengan *LeptoTek Lateral Flow*.

ANALISIS DATA

	MAT		
LEPTOTEK LATERAL FLOW	POSITIF	NEGATIF	JUMLAH
POSITIF	A	B	A+B
NEGATIF	C	D	C+D
JUMLAH	A+C	B+D	A+B+C+D

Perhitungannya adalah sebagai berikut :

Positif Benar

SENSITIFITAS = -----

Positif benar + Negatif palsu

Negatif benar

SPESIFISITAS = -----

Positif palsu + negatif benar

Positif benar + negatif benar

AKURASI = -----

Jumlah sampel

$$\text{NILAI RAMAL POSITIF} = \frac{\text{Positif benar}}{\text{Positif benar} + \text{positif palsu}}$$

$$\text{NILAI RAMAL NEGATIF} = \frac{\text{Negatif benar}}{\text{Negatif benar} + \text{negatif palsu}}$$

$$\text{EXPECTED AGREEMENT} = \frac{\% \text{ Positif benar} + \% \text{ Negatif benar}}{\text{Jumlah sampel}}$$

$$\text{OBSERVED AGREEMENT} = \frac{\text{Positif benar} + \text{Negatif benar}}{\text{Jumlah sampel}}$$

$$\text{ACTUAL AGREEMENT} = \text{OBSERVED AGREEMENT} - \text{EXPECTED AGREEMENT}$$

$$\text{POTENTIAL AGREEMENT} = 100 - \text{ACTUAL AGREEMENT BEYOND CHANCE}$$

$$\text{KAPPA INDEKS} = \frac{\text{ACTUAL AGREEMENT}}{\text{POTENTIAL AGREEMENT}}$$

BAB V

HASIL PENELITIAN

Selama penelitian didapatkan 45 sampel yang memenuhi kriteria klinis leptospirosis berat, dan 5 sampel sehat (2 orang Residen Penyakit Dalam FK UNDIP dan 3 orang Perawat bangsal penyakit dalam), serta 9 sampel secara klinis mirip klinis leptospirosis berat yang diagnosis nya sudah ditegakkan (DHF, Typhoid Fever, CRF, Hepatitis virus B). Dari semua sampel ini dilakukan pemeriksaan *LeptoTek Dri-Dot* dan *LeptoTek Lateral Flow* pada serum sampel hari ke-1 serta pemeriksaan *Microscopic Agglutination Test (MAT)*, dengan menggunakan serum sampel yang diambil pada hari ke-1 (serum A1) dan hari ke-7 (serum A2). Pemeriksaan *LeptoTek Dri-Dot* dan *LeptoTek Lateral Flow* dilakukan di laboratorium Bioteknologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang, dengan menggunakan sample pada hari ke-1, sedangkan pemeriksaan MAT dilakukan di laboratorium Bagian Mikrobiologi FK UNDIP/RS. Dr. Kariadi Semarang dan dikerjakan oleh seorang spesialis Mikrobiologi Klinik dan petugas Laboratorium yang telah dilatih khusus.

Tabel 1. Hasil tabulasi pemeriksaan *MAT*, *LeptoTek Dri-Dot* dan *LeptoTek Lateral Flow*.

No.	Subyek	MAT		LeptoTek Dri-Dot		LeptoTek Lateral Flow	
		+	-	+	-	+	-
1	Leptospirosis berat	41	3	41	4	41	4
2	Pasien Klinis mirip leptospirosis	0	9	0	9	0	9
3	Kontrol sehat	0	5	0	5	0	5

Semua sampel penelitian adalah penderita yang dirawat di beberapa rumah sakit di Kota Semarang, meliputi : RS. Dr. Kariadi 25 (55,5%), 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%). Sedangkan sampel sehat adalah Residen Penyakit Dalam 2 (4,6%), Perawat Bangsal Penyakit Dalam 3 (7%) dan Sampel yang mirip klinis *Leptospira* berat 9 (21,6%).

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 *LeptoTek Dri-Dot* dinyatakan positif bila terjadi Aglutinasi pada kertas tes, dan tes *LeptoTek Lateral Flow* dikatakan positif bila muncul garis pada daerah kontrol maupun daerah tes. Setelah dilakukan pemeriksaan MAT, dari 59 sampel penelitian didapatkan 71,2 % (42 dari 59) sampel terdiagnosis leptospirosis secara definitif. Pada pemeriksaan *LeptoTek Dri-Dot*, dari 59 sampel didapatkan 69,5 % (41 dari 59) penderita terdiagnosis leptospirosis dan 28,2% dinyatakan negatif ((17 dari 59 sampel), sedangkan pada pemeriksaan *LeptoTek Lateral Flow* didapatkan 69,5 % (41 dari 59) terdiagnosis leptospirosis dan 28,8 % dinyatakan negatif (17 dari 59 sampel).

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 42,3 % (25 dari 59) sampel tidak terdiagnosis leptospirosis (titer awal < 1 : 320) dan sisanya 71,1% (32 dari 45) sampel terdiagnosis leptospirosis. Pemeriksaan MAT selanjutnya dengan serum A1 dan A2, menunjukkan 10 dari 11 sampel yang tidak terdiagnosis tersebut, mengalami serokonversi.

Berikut ini tabel 2X2 hasil pemeriksaan *LeptoTek Dri-Dot* dan *LeptoTek Lateral Flow* dengan menggunakan serum A1 penderita klinis leptospirosis berat.

Tabel 3. Tabel 2X2 hasil pemeriksaan *LeptoTek Dri-Dot* dan *LeptoTek Lateral Flow* dengan menggunakan serum A1 penderita klinis leptospirosis berat

		LeptoTek Lateral Flow		Jumlah
		+	-	
LeptoTek Dri-Dot	+	41	0	41
	-	0	4	4
Jumlah		41	4	45

Tabel diatas menunjukkan bahwa sebanyak 41 sampel yang dinyatakan positif dengan pemeriksaan *LeptoTek Dri-Dot* juga dinyatakan positif dengan pemeriksaan *LeptoTek Lateral Flow*, Indeks *Kappa Agreement* pada penelitian ini adalah 1.

Tabel 4. Tabel 2X2 nilai diagnostik tes *LeptoTek Lateral Flow* dengan menggunakan serum A1 sampel klinis leptospirosis berat, dan kontrol negatif

		MAT		Jumlah
		+	-	
Tes <i>LeptoTek Lateral Flow</i>	+	41	0	41
	-	1	17	18
Jumlah		42	17	59

Sensitivitas : 97,6 % (95 % CI : 93,0 – 100 %)

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

Nilai ramal Positif : 100 % (95% CI : 100 – 100 %)

Nialai ramal negatif : 94,4 % (95% CI : 62 - 88 %)

Akurasi : 98,3% (95% CI : 93,0 – 100%)

Pada penelitian ini didapatkan 41 (97,6%) sampel terdiagnosis leptospirosis, baik dengan tes *LeptoTek Lateral Flow* maupun MAT (positif benar). Tidak ada sampel yang didiagnosis leptospirosis dengan tes *LeptoTek Lateral Flow*, tetapi bukan leptospirosis dengan MAT (positif palsu). Satu (2,4%) sampel negatif leptospirosis dengan tes *LeptoTek Lateral Flow*, tetapi positif dengan MAT (negatif palsu). Tujuh belas sampel (18%) tidak terdiagnosis leptospirosis, baik dengan tes *LeptoTek Lateral Flow* maupun MAT (negatif benar).

Dibawah ini diperlihatkan table 2X2 nilai diagnostik *LeptoTek Lateral Flow* pada penderita klinis leptospirosis berat pada berbagai titik potong

Tabel 5. Tabel 2 X 2 nilai diagnostik *LeptoTek Lateral Flow* pada sampel klinis leptospirosis berat dan kontrol negatif pada titik potong 1

		MAT		Jumlah
		+	-	
Tes <i>LeptoTek Lateral Flow</i>	+	41	0	41
	-	1	17	18
Jumlah		42	17	59

Sensitivitas : 97,6 % (95 % CI : 93,0 – 100 %)

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

Nilai ramal Positif : 100% (95% CI : 100 – 100 %)

Nialai ramal negatif : 94,4% (95% CI : 62 - 88 %)

Akurasi : 98,3% (95% CI : 93,0 – 100%)

Tabel 6. Tabel 2 X 2 nilai diagnostik *LeptoTek Lateral Flow* pada sampel klinis leptospirosis berat dan kontrol negatif pada titik potong 2

Test Diagnostik	MAT		TOTAL
	+	-	
LeptoTek Lateral Flow > 1 (+)	33	0	33
LeptoTek Lateral Flow (-)	9	17	26
Total	42	17	59

Sensitivitas : 78,6 % (95% CI : 67,0 -91%)
 Spesifisitas : 100% (95% CI : 100 – 100%)
 Nilai ramal Positif : 100 % (95% CI : 100 -100%)
 Nilai ramal negatif : 65,4% (95 % CI : 12,0 – 38,0%)
 Akurasi : 84,7% (95% CI : 68,0 – 92,0%)

Tabel 7. Tabel 2 X 2 nilai diagnostik *LeptoTek Lateral Flow* pada sampel klinis leptospirosis berat dan kontrol negatif pada titik potong 3

Test Diagnostik	MAT		TOTAL
	+	-	
LeptoTek Lateral Flow > 2 (+)	12	0	12
LeptoTek Lateral Flow (-)	30	17	47
Total	42	17	59

Sensitivitas : 28,6 % (95% CI : 15,0 -42,0%)
 Spesifisitas : 100% (95% CI : 100 – 100%)
 Nilai ramal Positif : 100 % (95% CI : 100 -100%)
 Nilai ramal negatif : 36,2% (95 % CI : 1,0 – 17,0%)
 Akurasi : 77,9 % (95% CI : 20,0 – 47,0%)

Berdasarkan table-table diatas dapat dibuat suatu tabel nilai sensitivitas, spesifisitas (1-Sp), nilai ramal positif, nilai ramal negatif dan akurasi dari nilai *LeptoTek Lateral Flow*

pada sampel dengan Klinis Leptospirosis berat dan kontrol negatif pada berbagai titik potong.

Tabel 8. Nilai Se, 1-Sp, PV+,PV -, akurasi *LeptoTek Lateral Flow* pada sampel dengan klinis Leptospirosis berat dan kontrol negative pada semua titik potong

Titik potong LeptoTek Lateral Flow	Se	Sp	1-Sp	PV +	PV -	Akurasi
+1	97,6	100	0	100	94,4	98,3
+2	78,6	100	0	100	65,4	84,7
+3	28,6	100	0	100	36,2	77,9

Keterangan :

Se : sensitivitas

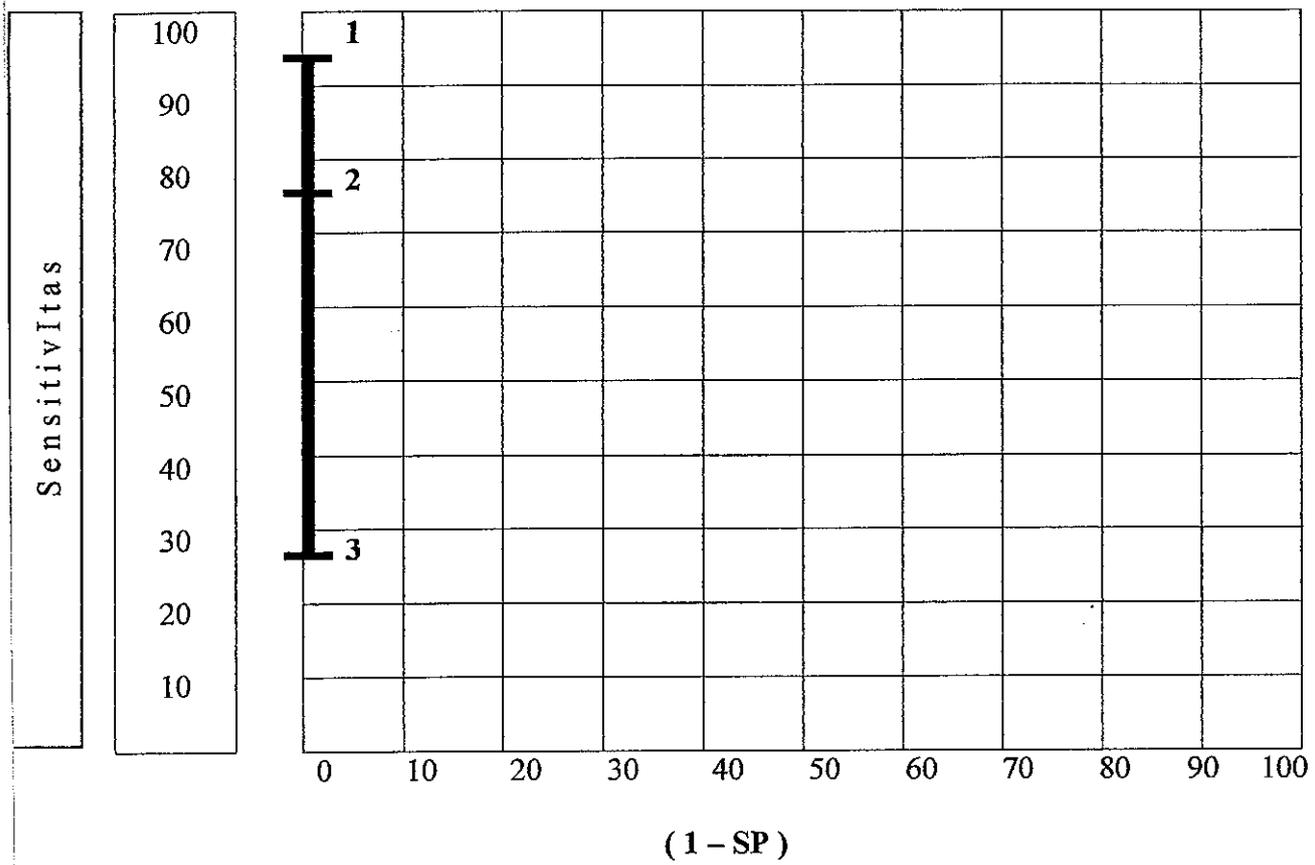
PV + : nilai ramal positif

Sp : spesifisitas

PV - : nilai ramal negatif

1 - Sp : 1 - spesifisitas

Dibawah ini ditampilkan kurva ROC pada penderita klinis leptospirosis berat



BAB VI

PEMBAHASAN

Clinical agreement antara satu alat diagnostik dengan alat diagnostik yang lain adalah 1, keadaan ini berarti *LeptoTek Lateral Flow* dan *LeptoTek Dri-Dot* mempunyai kepekaan yang sama dalam menentukan diagnosis kemungkinan sampel Leptospirosis. Atau dengan kata lain alat ini dapat menggantikan satu dengan yang lain.

Alat diagnostik yang ideal adalah alat diagnostik yang memberikan hasil positif pada semua subyek sakit dan negatif pada semua subyek sehat. Hal ini dapat terjadi bila suatu alat diagnostik mempunyai nilai sensitivitas dan spesifisitas masing-masing 100%. Keadaan tersebut sangat jarang ditemukan. Hampir semua alat 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 cepat dilapangan yang sederhana dan dapat dikerjakan di semua laboratorium Rumah Sakit, Puskesmas, dll. Tes serologi dengan metode *LeptoTek Lateral Flow* merupakan alternatif dari pemeriksaan MAT di *non-reference* laboratorium. Namun sampai saat ini penelitian yang menggunakan metode tes cepat masih terbatas, yaitu penelitian Smits HL dkk (2001).

Dalam penelitian ini telah dilakukan pengujian terhadap tes *LeptoTek Lateral Flow* pada sampel dengan klinis leptospirosis berat dan yang dirawat di rumah sakit dan kontrol negative. Tes *LeptoTek Lateral Flow* menunjukkan sensitivitas yang baik (97,6%) dan spesifisitas yang tinggi (100%) dalam menegakkan diagnosis leptospirosis. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya. Penelitian Smits HL. dkk (2001) pada penderita klinis leptospirosis di Indonesia menunjukkan sensitivitas 85,8% dan spesifisitas 93,6%.²¹ Dalam penelitian ini tes *LeptoTek Lateral Flow* hanya dengan menggunakan serum A1 tidak dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan serum A2, karena pemeriksaan *LeptoTek Lateral Flow* hanya sebagai pemeriksaan Penyaring. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan Smits HL. dkk, dimana pada penelitiannya menggunakan serum yang diambil ≤ 10 hari dari onset penyakit dan serum > 10 hari dari onset penyakit.

Tes *LeptoTek Lateral Flow* dengan menggunakan serum A1, menunjukkan hasil positif pada 97,6% penderita. Sedangkan pemeriksaan MAT, menunjukkan hasil positif pada 93,3% sampel. Hal ini berarti tes *LeptoTek Lateral Flow* 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.

Satu sampel tidak terdiagnosis leptospirosis dengan tes *LeptoTek Lateral Flow*, tetapi terdiagnosis leptospirosis dengan MAT (serovar *Icterohaemorrhagiae*). Kemungkinan ini terjadi karena sampel yang diambil terlalu awal dari kejadian penyakit. Seperti penelitian dilakukan oleh Smits HL. dkk, dimana didapatkan hasil yang positif 65,4 % pada sample yang diambil dari kejadian sakit ≤ 10 hari, dan hasil akan lebih baik didapatkan pada sampel yang diambil > 10 hari yaitu 80,9%. Pada penelitian ini tidak didapatkan hasil positif palsu, karena subyek adalah penderita klinis leptospirosis ikterik (berat) dan kontrol negatif.

Nilai ramal suatu penelitian sangat berfluktuasi, tergantung pada prevalensi 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 94,4%, kemungkinan karena penelitian dilakukan pada populasi dengan prevalens penyakit (persentase subyek yang menderita sakit atau baku emas positif, terhadap seluruh subyek) sebesar 71,2 % (42 dari 59 sampel).

Nilai diagnostik dalam praktek medik tergantung 4 nilai yaitu sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif, nilai ramal negatif dan akurasi. Mengingat hasil *LeptoTek Lateral Flow* digambarkan dengan nilai negatif, positif 1, positif 2, dan positif 3, maka untuk menentukan sensitivitas terbaik perlu dikaji pada berbagai titik potong untuk mendapatkan pada titik potong mana diperoleh nilai diagnostik terbaik yang dapat diterima dari uji *LeptoTek Lateral Flow* tersebut. Biasanya terdapat *trade off* antara sensitivitas dengan spesifisitas dari suatu uji diagnostik. Artinya sensitivitas dapat ditingkatkan dengan mengorbankan spesifisitas. Pada ROC (*Receiver Operatior Characteristic*) *trade off* terbaik terletak pada titik potong yang berposisi paling kiri atas karena pada titik potong ini nilai sensitivitas dan spesifisitas seimbang dan akan memperkecil nilai positif dan negatif palsu.

Pada penelitian ini titik potong 1 merupakan yang terbaik karena terletak pada sudut kiri atas. Pada titik potong ini nilai diagnostiknya cukup baik dengan sensitivitas 97,6% dan spesifisitas 100%, disamping itu pada titik potong ini nilai ramal positifnya tinggi 100 % ini berarti kemungkinan pada penderita dengan klinis leptospirosis berat dan test *LeptoTek lateral Flow* menunjukkan positif 1 maka kemungkinan orang tersebut menderita Leptospirosis adalah 100%, angka nilai ramal *LeptoTek Lateral Flow* ini akan lebih kecil jika tes ini diaplikasikan pada orang dengan bukan klinis leptospirosis berat.

Hasil tes yang dilakukan pada penderita dengan gejala mirip dengan leptospirosis yang sudah ditegakkan diagnosisnya, maupun terhadap sampel sehat, semuanya menunjukkan hasil tes negatif.

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 *LeptoTek Lateral Flow* akan berbeda bila dilakukan pada penderita dengan derajat penyakit yang berbeda.
- Penelitian ini dilakukan pada populasi dengan prevalensi penyakit yang tinggi (71,2%), sehingga nilai diagnostik tes *LeptoTek Lateral Flow* akan berbeda bila dilakukan pada populasi dengan prevalens penyakit yang rendah.
- Tes *LeptoTek Lateral Flow* dilakukan pada sampel sehat atau sampel dengan infeksi akut yang lain, namun jumlah sample tidak signifikan, sehingga perlu dilanjutkan penelitian lanjutan.
- Tes *LeptoTek Lateral Flow* dapat dipakai sebagai penyaring, tidak dapat mendeteksi sampai tingkat serovar.
- Tes *LeptoTek lateral Flow*, diharapkan dapat dikembangkan di daerah dengan tingkat endemis tinggi, sehingga pada rumah sakit yang tidak dapat mengerjakan MAT, dapat dipakai sebagai pertimbangan.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

VII.1. KESIMPULAN

Tes *LeptoTek Lateral Flow* merupakan salah satu tes diagnostik serologi untuk penyaring diagnosis leptospirosis, yang telah dievaluasi oleh Smits HL dkk, 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 Kappa indeks dan nilai diagnostik tes *LeptoTek Lateral Flow* di Rumah Sakit Se-Kota Semarang.

Penelitian dilakukan untuk mengetahui *Kappa* indeks dan nilai diagnostik tes *LeptoTek Lateral Flow* dengan *Microscopic Agglutination Test* (MAT) sebagai baku emas.

Nilai diagnostik yang didapatkan sebagai berikut :

- Pada Serum A1 didapatkan sensitivitas 97,6%, spesifisitas 100%, nilai ramal positif 100%, nilai ramal negatif 94,4%%, akurasi 98,3 %, indeks *Kappa Agreement* 1.
- Pada tes penyaring yang dinyatakan positif dengan pemeriksaan *LeptoTek Lateral Flow*, didapatkan hasil yang masih negatif dengan pemeriksaan MAT sebanyak 9 sampel (20%), tetapi dengan pemeriksaan MAT menggunakan serum A2 terjadi konversi dengan titer yang bermakna.

Kesimpulan nilai diagnostik di atas adalah *LeptoTek Lateral Flow* merupakan tes diagnostik yang sensitivitas dan spesifisitasnya tinggi untuk leptospirosis berat. Karena spesifisitasnya tinggi, tes ini sangat berguna untuk diagnosis penderita dengan leptospirosis berat terutama di Laboratorium Rumah Sakit, Puskesmas, dll. Demikian juga tes *LeptoTek Lateral Flow* dan *LeptoTek Dri-Dot*, dengan *kappa* indeks 1, tes ini dapat saling menggantikan satu sama lain dalam menyaring penderita Leptospirosis berat.

VII.2. SARAN

- Tes *LeptoTekLateral Flow* dapat digunakan untuk 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, Szajnbnok 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. Pusponegoro 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.
27. Smits HL. Royal Tropical Institute. Amsterdam 1998.