



**LAPORAN PENELITIAN
KARYA AKHIR**

**NILAI DIAGNOSTIK LEPTODIPSTICK ASSAY
PADA LEPTOSPIROSIS**

**OLEH :
BAMBANG PUDJIJANTO**

**BAGIAN / SMF ILMU PENYAKIT DALAM
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
RUMAH SAKIT UMUM PUSAT Dr. KARIADI
SEMARANG**

1999

LAPORAN PENELITIAN
NILAI DIAGNOSTIK LEPTODIPSTICK
PADA LEPTOSPIROSIS

Oleh :

Bambang Pudjianto
Semarang, 26 Juli 1999

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

Disetujui oleh :

I. Pembimbing :

1. Dr. Budiriyanto, MSc, SpPD-KTI
2. Dr. M. Hussein Gasem, SpPD

II. Konsultan penelitian :

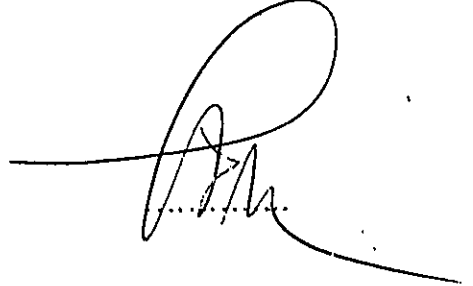
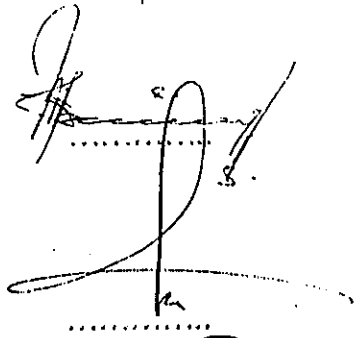
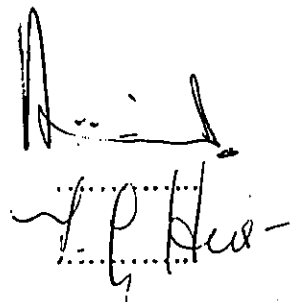
Dr. Musrichan, SpPD

**III. Ketua Program Studi Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro :**

DR. Dr. Darmono, SpPD-KE

**IV. Ketua Bagian Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro :**

Dr. Prijanto Poerjoto, SpPD-KKV



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Pemurah, karena rahmatNya maka karya akhir ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Karya akhir ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang berjudul : **NILAI DIAGNOSTIK *LEPTODIPSTICK ASSAY* PADA LEPTOSPIROSIS** . Karya akhir ini dibuat dalam rangka pendidikan dokter spesialis I di bagian Ilmu penyakit dalam FK Undip/RSUP Dr. Kariadi Semarang. Penelitian ini dimaksudkan untuk memberikan informasi seberapa besar manfaat pemeriksaan *leptodipstick assay* sebagai alternatif penunjang diagnostik yang baru pada leptospirosis.

Sehubungan dengan penelitian ini perlu saya sampaikan terima kasih se dalam dalamnya kepada semua penderita klinis leptospirosis dan klinis mirip leptospirosis yang bersedia menjadi sampel penelitian ini. Terima kasih yang sebesar besarnya juga ingin saya sampaikan kepada yang terhormat :

1. Dr.Budiriyanto, MSc, SpPD, KTI, Kepala Sub Bagian Penyakit Tropik dan Infeksi, yang berkenan menjadi pembimbing penelitian ini.
2. Dr.Muhammad Hussein Gasem, SpPD, yang berkenan sebagai pembimbing penelitian ini.
3. Dr.Musrichan, SpPD, kepala bagian Mikrobiologi FK Undip/RSUP Dr.Kariadi yang berkenan sebagai konsultan laboratorium mikrobiologi dan setuju dalam penggunaan fasilitas laboratorium mikrobiologi sebagai penunjang sarana penelitian.
4. Dr.F.Soemanto PM, SpPD dan segenap anggota team penyusunan proposal penelitian di Bagian Ilmu Penyakit Dalam, FK Undip Semarang, yang dengan sabar membimbing dalam menyusun proposal penelitian ini.
5. Dr.Henk L.Smits, Project Leader Departement of Biomedical Research, Royal Tropic Institute, Amsterdam

6. Goerge C.Gussenhoven, Theresia Abdul dan Evy Heerkens, Departement of Biomedical Research, Royal Tropic Institute, Amsterdam, yang melaksanakan pemeriksaan Microscopic Agglutination Test
 7. Prof Dr.dr.Soeharyo Hadisaputro, SpPD-KTI, yang berkenan memberi saran saran dalam pelaksanaan penelitian ini
 8. Prof.Dr.dr.R.R.J.Djokomoeljanto SpPD-KE, Ketua Kelompok Studi Penyakit Tropik dan Infeksi FK Undip/RSUP Dr.Kariadi, yang telah menjalin kerjasama penelitian dengan Royal Tropic Institute (KTI), Amsterdam, sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan
 9. Segenap staf pengajar Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Undip/RSUP Dr.Kariadi, yang telah membantu kelancaran penelitian ini, khususnya Prof.Dr.Soenarto, Dr.Murni Indrasti, Dr.Lestariningsih, Dr.Suyatmi Aswizar dan Dr.Sofa Chasani yang setuju pasien pribadinya dijadikan subyek penelitian
 10. Segenap teman residen Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Undip/RSUP Dr.Kariadi yang ikut berpartisipasi selama penelitian berlangsung
 11. Segenap staf dan paramedik di bangsal Ilmu Penyakit Dalam/RSUP Dr.Kariadi yang berpartisipasi membantu pengambilan sampel penelitian.
 12. Sdri Wiwik dan Rina, petugas laboratorium mikrobiologi, yang membantu pemeriksaan *Leptodipstick Assay*
 13. Istri dan anakku tercinta yang dengan sabar, tabah dan selalu memberi dorongan selama melaksanakan penelitian dan mengikuti pendidikan ini.
- Akhirnya semoga karya akhir ini dapat dimanfaatkan sebagai sumbangsih di bidang ilmu penyakit dalam mengikuti pendidikan selama ini.

Amien.

Semarang Maret 1999

Bambang Pudjjanto

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL DAN GAMBAR.....	vi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1. Definisi.....	3
2.2. Epidemiologi.....	3
2.3. Etiologi.....	5
2.4. Patogenesis Leptospirosis.....	6
2.5. Aspek Immunologik.....	7
2.6. Manifestasi Klinik.....	9
2.7. Gambaran Laboratoris.....	11
2.8. Diagnosis Leptospirosis.....	18
2.9. Diagnosis Banding.....	19
BAB III TUJUAN, MANFAAT DAN METODOLOGI PENELITIAN.....	20
3.1. Tujuan Penelitian.....	20
3.2. Manfaat Penelitian.....	20
3.3. Metodologi Penelitian.....	20
3.4. Kerangka Teori.....	26
3.5. Kerangka Konsep.....	27
3.6. Alur Penelitian.....	28
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	29
4.1. Variabilitas Sampel.....	29
4.2. Hasil Tes Diagnostik.....	31
4.3. Receiver Operating Characteristic.....	41
BAB V PEMBAHASAN HASIL PENELITIAN.....	43
5.1. Analisis Deskriptif.....	43
5.2. Nilai Diagnostik LDA Pada Berbagai Titik Potong.....	44
5.3. Faktor Faktor Yang Mempengaruhi Nilai Diagnostik.....	46
5.4. Perbandingan Hasil Penelitian LDA Dengan Cara Lain.....	48
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	50

DAFTAR TABEL DAN GAMBAR

Tabel 1.	Distribusi Penderita Leptospirosis yang dirawat di Bangsal Penyakit Dalam RSUP Dr. Kariadi Semarang Tahun 1995-1998.....	4
Tabel 2.	Strain dari spesies <i>Leptospira</i> yang digunakan pada penelitian.....	5
Tabel 3.	Perbedaan Manifestasi Klinik Leptospirosis Ikterik dan Anikterik dari fase ke fase.....	9
Tabel 4.	Manifestasi Klinik Leptospirosis yang ditemukan pada 208 penderita di Puerto Rico.....	10
Tabel 5.	Kriteria Diagnosis Leptospirosis Berdasarkan Rekomendasi WHO.....	19
Tabel 6.	Distribusi penderita yang diteliti Berdasarkan Umur dan Jenis Kelamin.....	29
Tabel 7.	Gambaran Klinis Penderita yang diteliti Berdasarkan Kriteria WHO 1982 untuk Diagnosis Leptospirosis.....	30
Tabel 8.	Distribusi Hasil LDA pada Penderita Klinis Mirip Leptospirosis Berdasarkan Jenis Penyakit yang Diderita Penderita yang Diteliti.....	32
Tabel 9.	Distribusi Hasil LDA pada Penderita Klinis Leptospirosis Berdasarkan Onset Penyakit.....	32
Tabel 10.	Distribusi Hasil LDA dan MAT Terhadap 32 Penderita Klinis Leptospirosis yang Diteliti.....	33
Tabel 11.	Distribusi Hasil LDA dan MAT Terhadap 24 Penderita Klinis Mirip Leptospirosis.....	34
Tabel 12.	Distribusi Hasil LDA dan MAT Terhadap Penderita Campuran (Penderita Klinis Mirip Leptospirosis dan Penderita Klinis Leptospirosis) yang Diteliti.....	35
Tabel 13.	Tabel 2x2 Nilai Diagnostik LDA Penderita Klinis Leptospirosis Pada Titik Potong Positif 1.....	36
Tabel 14.	Tabel 2x2 Nilai Diagnostik LDA Penderita Klinis Leptospirosis Pada Titik Potong Positif 2.....	36
Tabel 15.	Tabel 2x2 Nilai Diagnostik LDA Penderita Klinis Leptospirosis Pada Titik Potong Positif 3.....	36

Tabel 16. Tabel 2x2 Nilai Diagnostik LDA Penderita Klinis Leptospirosis Pada Titik Potong Positif 4.....	37
Tabel 17. Tabel 2x2 Nilai Diagnostik LDA Campuran (Penderita Klinis Leptospirosis Penderita Klinis Mirip Leptospirosis) Pada Titik Potong Positif 1.....	37
Tabel 18. Tabel 2x2 Nilai Diagnostik LDA Campuran (Penderita Klinis Leptospirosis Penderita Klinis Mirip Leptospirosis) Pada Titik Potong Positif 2.....	37
Tabel 19. Tabel 2x2 Nilai Diagnostik LDA Campuran (Penderita Klinis Leptospirosis Penderita Klinis Mirip Leptospirosis) Pada Titik Potong Positif 3.....	38
Tabel 20. Tabel 2x2 Nilai Diagnostik LDA Campuran (Penderita Klinis Leptospirosis Penderita Klinis Mirip Leptospirosis) Pada Titik Potong Positif 4.....	38
Tabel 21. Nilai Diagnostik LDA Pada Klinis Leptospirosis dan Nilai Diagnostik LDA Pada Penderita Campuran (Penderita Klinis Leptospirosis Penderita Klinis Mirip Leptospirosis)	38
Tabel 22. Nilai Diagnostik LDA Pada Klinis Leptospirosis dan Nilai Diagnostik LDA Pada Penderita Klinis Mirip Leptospirosis.....	39
Tabel 23. Jenis Leptospira Patogen Penyebab Leptospirosis pada Penderita yang diteliti.....	39
Tabel 24. Perbandingan Hasil LDA di Berbagai Penelitian.....	48
Tabel 25. Perbandingan Hasil Sensitifitas Diagnosis Serologik dengan Berbagai Metode.....	49
Gambar 1. Langkah Langkah Pemeriksaan LDA.....	16
Gambar 2. Kerangka Teori.....	26
Gambar 3. Kerangka Konsep.....	27
Gambar 4. Alur Penelitian.....	28
Gambar 5. Diagram Distribusi Hasil LDA pada Klinis Leptospirosis dan Klinis Mirip Leptospirosis yang dilakukan LDA dan MAT Secara Simultan.....	31
Gambar 6. ROC Untuk Penderita Leptospirosis.....	41
Gambar 7. ROC Untuk Penderita Campuran (Klinis Leptospirosis dan Klinis Mirip Leptospirosis)	42

BAB I

PENDAHULUAN

Leptospirosis adalah suatu penyakit infeksi pada binatang dan manusia yang disebabkan oleh bakteri dari genus *Leptospira* [1,2]. Pada manusia penyakit ini sebagai akibat penularan dari binatang pengidap *Leptospira* [3,4]. Leptospirosis tersebar luas di seluruh dunia, terutama di negara negara tropis [4,5,6]. Kondisi lingkungan yang kurang baik seperti yang dijumpai di Srilangka, India, Malaysia dan Indonesia menyebabkan leptospirosis mudah berjangkit dimana mana [4]. Di Indonesia banyak ahli telah melaporkan kasus leptospirosis, misalnya Light (1971), Triwibowo (1976), Dedy A dan kawan kawan (1976), Kiriman Soedin (1978), Anggraeni (1978), Pohan (1980), Ludfi (1985), Soeharyo (1987) [4].

Morbiditas leptospirosis di Semarang berkisar antara 1,8 - 2,2 per 100.000 populasi penduduk [5], sedang angka kematiannya berkisar antara 30-50% [4]. Berdasarkan catatan medik di Rumah Sakit Umum Pusat Dr.Kariadi (RSUP Dr.Kariadi) rata rata merawat 1-3 penderita leptospirosis setiap bulan. Lebih lanjut, perbandingan antara jumlah penderita leptospirosis berat dan total penderita yang dirawat di bangsal Ilmu Penyakit Dalam dari tahun ke tahun adalah sebagai berikut : tahun 1993 sebesar 1,13% dari 4166 penderita, 1994 sebesar 0,59% dari 3755 penderita, 1995 sebesar 0,70% dari 3704 penderita, 1996 sebesar 0,67% dari 3424 penderita, 1997 sebesar 0,42% dari 1627 penderita dan tahun 1998 sebanyak 0,67% dari 2676 penderita.

Manifestasi klinik leptospirosis pada manusia dapat dibedakan dalam dua kelompok yaitu sindroma leptospirosis anikterik yaitu meliputi 85-90 % dan sisanya sebagai sindroma leptospirosis ikterik [7,8,9]. Walaupun demikian disamping itu masih terdapat bentuk subklinik. Keadaan subklinik biasanya ditemukan pada mereka yang sering terpapar binatang pengidap [7,9].

Perjalanan penyakit leptospirosis dibagi 3 stadium. Pada stadium ke dua akan dibentuk immunitas spesifik berupa immunoglobulin M (IgM). Keberadaan Ig M di dalam darah penderita dapat dideteksi untuk konfirmasi diagnostik [9,10,11].

Akhir akhir ini terdapat tes konfirmasi diagnostik yang dikembangkan berdasarkan pendeteksian terhadap Ig M spesifik *Leptospira* antara lain : *Leptodipstick Assay (LDA)* [12,13], *Lepto Rapid Latex Agglutination Assay test (Lepto RLA)* [14] dan *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)* [15]. Metode LDA merupakan cara yang relatif baru untuk konfirmasi diagnostik leptospirosis [12]. Pemeriksaan serodiagnostik tersebut telah diuji coba dengan hasil hampir tak jauh berbeda [15,16,17,18].

Pada penelitian ini akan dievaluasi manfaat nilai diagnostik LDA sebagai tes diagnostik alternatif pada penderita leptospirosis yang dirawat di rumah sakit-rumah sakit di Kodia Semarang. Latar belakang sebagai pertimbangan penelitian antara lain :

- Semarang merupakan daerah endemis leptospirosis dengan angka kesakitan dan kematian yang cukup tinggi [4].
- Kebanyakan penderita leptospirosis yang dirawat dalam keadaan berat sehingga perlu penegakkan diagnosis yang cepat, mudah dan sederhana dengan nilai sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi.
- Tampaknya LDA memiliki sifat sifat tersebut [12].

Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini diajukan beberapa masalah antara lain :

- Berapa besar nilai diagnostik LDA pada leptospirosis yang dirawat di rumah sakit-rumah sakit di Kodia Semarang (RSUP Dr.Kariadi, RS.Roemani, RS.Telogorejo, RS.Pantiwilasa I, RS. Elisabeth dan RSUD Kodia Semarang).
- Nilai diagnostik LDA yang dimaksud meliputi sensitifitas, spesifisitas, akurasi, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif.

Manfaat penelitian ini adalah :

- Setelah mengetahui nilai diagnostik LDA diharapkan dapat ditentukan apakah LDA lebih cocok sebagai tes penunjang skrining atau konfirmasi diagnostik pada leptospirosis, yang sederhana, cepat dan tepat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Definisi

Leptospirosis merupakan penyakit zoonosis yang ditularkan kepada manusia disebabkan oleh mikroorganisme berbentuk spiral yang dapat bergerak aktif yang dinamakan *Leptospira* yang ditandai dengan demam akut [3,13]. Beberapa nama sebagai sinonim penyakit ini adalah *Mud fever*, *Cane cutter fever*, *Sindroma Weil*, *Canicola fever*, *Swineherd disease*, *Sahara fever*, *Swam fever*, *Field fever* dan *Infectious jaundice* dan lain lain [10,19].

2.2. Epidemiologi

Leptospira hidup di dalam ginjal dari hewan reservoir seperti anjing, kucing, lembu, tikus, musang, babi, tupai dan binatang lainnya biasanya yang berbulu lebat [3,19]. Jenis tikus yang menjadi pembawa utama adalah *Bandicota indica* [5]. Di alam bebas *Leptospira* dapat hidup di air tergenang ataupun mengalir [20,21]. Air tergenang yang sering dijumpai pada penghujung musim panas atau air mengalir dengan aliran lambat potensial untuk penularan penyakit ini, sementara air yang alirannya deras seperti di rimba belantara menjadi sumber infeksi yang penting [20,22].

Lingkungan optimal untuk hidup *Leptospira* adalah suasana lembab dengan suhu antara 28-30 ° C, dengan keasaman PH 6,2-8,0 [19]. Keadaan ini biasa ditemukan pada daerah tropis sepanjang tahun atau pada negara beriklim sedang pada musim panas dan rontok. Udara yang kering, sinar matahari yang sangat panas merupakan keadaan yang tidak menguntungkan bagi *Leptospira* [3,19]. Hal demikian menjawab mengapa leptospirosis tersebar di seluruh dunia [3,6,19]. Leptospirosis yang menyerang manusia dapat mengenai segala umur, terutama mengenai usia 30-59 tahun [8,21,22].

Kejadian pada pria dan wanita 2,5 : 1 [8]. Pada tahun 1964-1976 di Amerika Serikat leptospirosis ditemukan sekitar 50-150 kasus perseratus ribu penduduk [23,24].

Di Belanda kejadian leptospirosis cenderung menurun, tetapi mereka yang sering mengadakan perjalanan ke negara tropik, kelompok ini terjadi peningkatan dari 17 % menjadi 32 % [25].

Prevalensi leptospirosis di Indonesia belum ada angka yang pasti, walaupun banyak ahli telah melaporkan adanya kasus leptospirosis dari tahun ke tahun [4,5]. Di rumah sakit Persahabatan dan Cipto Mangunkusumo selama tahun 1995-1996 dirawat sebanyak 104 kasus dengan umur rata rata 36-59 tahun [26]. Berdasarkan catatan medik RSUP Dr. Kariadi Semarang dirawat 1-3 penderita tiap bulan atau berkisar antara 12-26 penderita pertahun dengan angka kematian 30-50 %.

Tabel 1.
Distribusi penderita leptospirosis yang dirawat di bangsal Penyakit Dalam RSUP Dr. Kariadi Tahun 1995 - 1998

Tahun	Total penderita	Leptospirosis	%
1995	3704	26	0,70
1996	3424	23	0,67
1997	2872	12	0,42
1998	2676	18	0,67

Sumber : Catatan medik RSUP Dr.Kariadi tahun 1995-1998.

Angka angka pada tabel 1 tersebut belum mencerminkan besarnya prevalensi leptospirosis Semarang, mengingat gejala dan tanda klinik leptospirosis sangat bervariasi mulai asimtomatik sampai berat bahkan sampai menyebabkan kematian, sehingga tidak semua penderita mesti dirawat di rumah sakit.

Gejala dan tanda leptospirosis sebagian besar adalah ringan dan bersifat *self limiting disease* bahkan di beberapa negara banyak kasus yang didiagnosis sebagai *fever of unknown origin* ternyata secara serologis menunjukkan hasil positif terhadap leptospirosis. Negara yang dimaksud antara lain Malaysia dan Vietnam masing masing 23%, Thailand 27% dan Beliza 37% [6].

Beberapa kelompok populasi yang memiliki resiko tinggi akan terjangkit penyakit ini antara lain para pekerja pembersih parit, petani, petugas survei di hutan,

dokter hewan, pekerja laborat dan mereka yang pekerjaannya memungkinkan kontak dengan air yang tercemar *Leptospira* [20,21,24].

2.3. Etiologi

Penyebab leptospirosis adalah genus *Leptospira* dari famili *Spirochaeta* yang termasuk golongan *Triponematoseae*. Ada beberapa spesies dari genus *Leptospira* yang bersifat parasit dan saprofit. Spesies yang bersifat parasit telah diketahui terdiri dari 29 serogrup dan memiliki lebih dari 200 strain patogen [12,14,17].

Tabel 2.

Strain dari spesies *Leptospira* yang digunakan untuk pemeriksaan MAT pada penelitian ini

Spesies	Serogrup	Serovariasi	Strain
L. Interrogans	Ichterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Kantarowicz
	Ichterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Wijnberg
	Australis	Brastislava	Jez-Brastislava
	Australis	Australis	Ballico
	Canicola	Canicola	Hond utrecht W
	Pomona	Pomona	Pomona
	Pyogenes	Pyogenes	Salinem
L. Borgpetersenii	Bataviae	Bataviae	Swart
	Bataviae	Bataviae	VanTienen
	Sejroe	Harjo	Harjoprajitno
	Sejroe	Harjo	Lely 607
	Sejroe	Saxkoebing	Mus 24
	Sejroe	Sejroe	M84
	Ballum	Ballum	Mus 127
	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
L. Santarosai	Tarassovi	Tarassovi	Perecepelicin
	Mini	Mini	Sari
	Shermani	Shermani	1342K
	Gripotyphosa	Gripotyphosa	Duyster
L. Bifleksa	Gripotyphosa	Gripotyphosa	Mandemakers
	Pomona	Procchimys	1161C
L. Meyeri	Semaranga	Patoc	Patoc
L. Noguchii	Andaman	Andaman	CH11
	Semaranga	Semaranga	Rat Semarang 173
L. Weillii	Panama	Panama	PA-CZ214K
L. Borpetersenii	Autumnalis	Rachmati	Rachmat
L. Alstoni	Celledoni	Celledoni	Celledoni
	Javanica	Poi	Poi
	Cynopteri	Cynopteri	3522C

Sumber : Royal Tropical Institute, Amsterdam dan kepustakaan 27.28.

Spesies sampai strain *Leptospira* lebih lanjut dapat diketahui pada tabel 2. Pada dasarnya serogrup dibedakan menurut struktur antigen yang dimiliki masing masing spesies.

Dari semua jenis antigen tersebut dapat dibedakan menjadi dua struktur dasar antigen yaitu antigen permukaan (*surface antigen*) dan antigen somatik (*somatic antigen*).

Surface antigen tersusun atas polisakarida yang spesifik untuk serotipe antigen, sedangkan *somatik antigen* tersusun atas lipopolisakarida yang menentukan genus antigen [13,29,30]. Kemampuan menginfeksi pada manusia sampai terjadinya gejala sangat ditentukan jumlah kuman dan virulensinya. Virulensi kuman ditentukan oleh kemampuan kuman dalam memproduksi hemolisin, enzim seperti katalase, transaminase, lipase, hialuronidase dan endotoksin yang bersifat toksik terhadap jaringan tubuh [13,24].

2.4. Patogenesis Leptospirosis

Pada manusia leptospirosis terjadi akibat tertular binatang pengidap *Leptospira*. Penularan dapat melalui jaringan kulit dan atau mukosa yang mengalami lesi atau luka. Walaupun kasus leptospirosis telah diketahui cukup lama, sampai saat ini patogenesis leptospirosis masih belum diketahui dengan pasti. Ada 2 hipotesis yang diduga berperan dalam patogenesis penyakit ini. Pertama, adanya kontak langsung bakteri yang menyebabkan reaksi jaringan. Ke dua, patogenesis leptospirosis melalui reaksi imunologi [1,11].

Invasi oleh mikroorganisme *Leptospira* akan menimbulkan reaksi imun non spesifik berupa inflamasi yang diikuti dengan pelepasan mediator kimiawi berupa sitokin dan reaksi imun spesifik [13]. Kemampuan invasi kuman *Leptospira* disebabkan oleh sifatnya yang motil dan kemampuan kuman memproduksi hemolisin, enzim seperti katalase, lipase, oksidase, hialuronidase, transaminase, endotoksin dan sphingomielinase C yang berperan dalam menentukan virulensinya [13,24,32]. *Leptospira* kemudian menyebar ke organ organ tubuh melalui peredaran darah sampai ke cairan serebrospinalis dan *humour aqueous* dalam bola mata [10,15]. Beberapa saat kemudian *Leptospira* akan difagositosis oleh sel monosit-makrofag dengan akibat

jumlah kuman dalam peredaran darah menjadi semakin sedikit dan akhirnya menghilang [26]. Pada tubulus kolektivus biasanya kuman ini tidak terbasmi dan membentuk koloni pada dinding lumen yang sewaktu waktu dapat keluar bersama urine. Di dalam urine biasanya baru diketemukan setelah hari ke delapan sampai beberapa minggu setelah sakit [3,33].

Diduga endotoksin dan enzim tertentu yang diproduksi *Leptospira* memegang peranan penting terjadinya leptospirosis. Dugaan ini diperkuat dengan adanya kemiripan gambaran histopatologi jaringan antara penderita leptospirosis dengan jaringan yang terinfeksi kuman gram negatif penghasil endotoksin. Walaupun demikian sampai sekarang masih belum dapat diisolasi endotoksin yang dimaksud [9,34]. Bukti lain bahwa patogenesis leptospirosis melalui invasi kuman langsung pada jaringan ditunjukkan dengan hasil biopsi pada otot gastrocnemius yang diambil pada stadium leptosperemia. Jaringan biopsi tersebut menunjukkan vacoulisasi pada sitoplasma dari miofibril. Kadang kadang didapatkan pula infiltrasi sel polimorfonuklear (PMN). Gambaran miositis ini bersifat tidak khas dan segera menghilang setelah memasuki minggu ke dua [11,29].

Di sisi lain keadaan tersebut di atas tidak dapat menerangkan terjadinya meningitis pada leptospirosis. Gejala dan tanda meningitis muncul pada minggu ke dua. Pada saat itu kuman sudah tidak ditemukan di dalam sirkulasi darah dan LCS akan tetapi yang ditemukan adalah Ig M spesifik *Leptospira*. Keadaan ini menimbulkan dugaan meningitis aseptik pada leptospirosis terjadi melalui proses imunologi. Dugaan tersebut diperkuat adanya bukti tidak adanya lesi pada jaringan otak pada stadium leptosperemia [10,35].

2.5. Aspek Imunologik

Sebagaimana mekanisme tubuh terhadap infeksi pada umumnya, kuman *Leptospira* oleh tubuh dikenal sebagai antigen. Adanya paparan kuman tersebut, tubuh akan memberikan respon imun untuk mempertahankan diri dan mencegah kerusakan jaringan lebih lanjut [28,33]. Setelah kuman menembus pertahanan mekanik seperti kulit, selaput mukosa yang mengalami diskontinuitas, *Leptospira* akan memasuki sirkulasi darah dan menuju ke berbagai jaringan seperti ginjal, hati, otot dan lain lain

bahkan dapat mencapai cairan serebrospinalis dan cairan bola mata [11,34].

Adanya infeksi akan diikuti respon imun spesifik yang dimulai dari sensitisasi sel B dan pengaktifan komplemen [35,36,37]. Aktifasi komplemen akan meningkatkan fagositosis dan memudahkan destruksi bakteri melalui [37] :

- Reaksi lisis untuk menghancurkan membran sel bakteri
- Kemotaktik, yaitu suatu bahan yang merangsang makrofag menuju ke tempat bakteri
- Oponisasi, yaitu suatu proses untuk mengendapkan dan melapisi dinding bakteri sehingga bakteri mudah dikenali oleh makrofag.

Sensitisasi sel B mengakibatkan terjadinya proliferasi dan diferensiasi sel tersebut menjadi sel plasma. Sel plasma akan memproduksi antibodi berupa Makroglobulin berbentuk pentamer dengan berat molekul 900.000 dalton yang disebut Ig M. Pembentukan Ig M dibantu oleh sel T [35]. Makroglobulin pada penderita leptosporosis mulai terbentuk setelah memasuki fase imun, yaitu sekitar 4-9 hari setelah onset penyakit [12,18]. Pembentukan Ig M pada penderita leptospirosis dihambat oleh keadaan tertentu seperti penggunaan antibiotik, imunokompromis, penggunaan kortikosteroid, immunosupresan, dan keadaan respon lambat [36,37]. Keberadaan Ig M spesifik *Leptospira* di dalam darah mencapai puncaknya sekitar hari ke 10-30 setelah onset penyakit. Kadang kadang sampai 90 hari atau 100 hari Ig M masih dapat ditemukan di dalam darah [36,40]. Immunoglobulin M berperan untuk mencegah gerakan mikroorganisme patogen, memudahkan fagositosis dan sebagai aglutinator kuat terhadap antigen. Peranan Ig M yang lain adalah untuk mengaktifkan komplemen. Aktifasi komplemen akan mengakibatkan pelepasan mediator berupa anafilaktosis (C3a dan C5a), kemotaktor (C3a, C5a, C6 dan C7) dan selanjutnya mengalami aderen imun serta proses opsonisasi [35,37]. Dengan demikian Ig M mampu berperan sebagai imun spesifik dan mengaktifkan komplemen untuk menghancurkan kuman *Leptospira*.

Karena sifat Ig M dapat sebagai aglutinator kuman inilah, beberapa tes serodiagnosis leptospirosis dikembangkan [12,13,16,27].

2.6. Manifestasi Klinik

Perjalanan penyakit leptospirosis melalui 3 fase yaitu fase I atau fase leptosperemia, fase II atau fase imun dan fase III atau fase penyembuhan [9,19].

Fase leptosperemia dimulai setelah melewati masa inkubasi yang berjalan sekitar 2-26 hari (rata rata 7-13 hari) perjalanan penyakit leptospirosis.

Tabel 3.
Perbedaan leptospirosis ikterik dan anikterik dari fase ke fase.

Sindroma / Fase	Temuan klinik	Spesimen laboratorium
Leptospirosis anikterik: Fase Leptosperemia (3-7 hari)	Demam (100 ^o -105 ^o F); mual, sakit kepala, mialgia, sakit perut, muntah, <i>Conjunctival suffusion</i>	Darah, LCS
Fase Imun (0-1 bulan)	Demam ringan, sakit kepala muntah, meningitis aseptik	Urine
Leptospirosis ikterik : Fase leptosperemia dan imun	Demam, sakit kepala, mialgia, ikterik, gagal ginjal, hipotensi, perdarahan, leukositosis, pneumonia, kesadaran menurun.	Darah, LCS, Urine

Disadur dari : Farr W, Leptospirosis, State of art clin article, 1995 [9].

Fase ini berjalan antara 4-9 hari (ada yang menyebutkan 4-7 hari) [3,19] dan ditandai dengan adanya *Leptospira* di dalam darah dan secara klinik ditemukan gejala dan tanda klinik berupa demam tinggi, sakit kepala mendadak terutama dibagian frontal dan oksipital. Kadang kadang sakit kepala dirasakan di retroorbital atau bitemporal. Otot gastrocnemius terasa sakit dan bertambah bila ditekan. Sakit otot kadang dirasakan pada daerah paha dan pinggang yang disertai hiperestesi kulit daerah tersebut [9,19]. Gejala gastrointestinal seperti mual muntah dan diare ditemukan pada 50% penderita. Sakit dada 25-86% penderita sedang hemoptisis amat jarang ditemukan.

Penurunan kesadaran sebanyak 25%, bradikardi, *conjunctival suffusion*, tekanan darah turun, splenomegali dan hepatomegali dapat ditemukan pada penderita ini. Pada fase ini gejala dan tanda klinik amat menonjol kemudian akan menghilang dan muncul lagi setelah 2-3 hari, tetapi tidak terlalu berat. Keadaan ini menandai perjalanan penyakit telah memasuki fase ke dua [3,19].

Pada fase II, demam biasanya tidak mencapai 39 ° C. Tanda lain yang timbul pada fase ini adalah iridosiklitis, neuritis optik dan gejala neurologis seperti meningitis aseptik, neuritis perifer, mielitis bahkan sampai ensefalitis [10].

Di dalam darah kuman telah habis terbasmi dan Ig M spesifik. Fase II dapat berjalan cepat tetapi dapat pula berkepanjangan sampai berbulan-bulan [9,11].

Pada fase III biasanya terjadi pada minggu ke dua sampai ke empat. Ada kalanya fase penyembuhan terjadi setelah beberapa bulan sehingga di beberapa negara tidak sedikit kasus *fever of unknown origin* yang pada akhirnya ditemukan IgM spesifik leptospirosis di dalam serum penderita. [6,19].

Tabel 3.

Manifestasi klinik leptospirosis yang ditemukan pada 208 penderita di Puerto Rico.

Gejala dan tanda	% anikterik (102 kasus)	% ikterik (102 kasus)
Demam	100	99
Mialgia	97	97
Sakit kepala	82	95
Menggigil	84	90
Serak	72	87
Mual	71	81
Muntah	65	75
Sakit mata	54	38
Diare	3	30
Oliguria	20	30
Batuk	15	32
Hemoptisis	5	14
Conjunctival suffusion	100	98
Ketegangan otot	70	79
Hepatomegali	60	60
Limfadenopati	35	12
Kelainan paru	11	36

Sumber: Dias-Rivera RS. Et al: Zoonosis Res 2 : 159, 1963 .

Secara ringkas manifestasi klinik leptospirosis di atas dapat asimtomatik, kadang kadang hanya menunjukkan *Flu like syndrome* yaitu berupa panas tak begitu tinggi, nyeri otot dan rasa tak enak badan, tetapi ada kalanya gejala sampai berat bahkan menjadi fatal [13,32]. Namun demikian pada dasarnya manifestasi klinik dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu sindroma leptospirosis ikterik dan anikterik [9]. Sindroma leptospirosis anikterik lebih banyak ditemukan di dalam klinik yaitu sekitar 85-90% kasus. Kelompok sindroma leptospirosis anikterik biasanya mempunyai gejala ringan dan bersifat *self limiting disease* [3,9].

Beberapa perbedaan yang menonjol dari ke dua kelompok tersebut antara lain adanya ikterik, leukositosis, perdarahan dan gangguan kesadaran sampai keadaan fatal sering ditemukan penderita sindroma leptospirosis ikterik. Sedangkan manifestasi neurologik lebih banyak ditemukan pada sindroma leptospirosis anikterik [9,10,31]. Perbedaan yang lain adalah perubahan manifestasi klinik dari fase ke fase lebih jelas diamati pada sindroma leptospirosis anikterik (Tabel 3). Manifestasi klinik yang lain seperti demam, sakit kepala, nyeri otot dan lain lain sering ditemukan pada ke dua kelompok tersebut (19.30.31).

2.7. Gambaran Laboratorium

2.7.1. Darah

Gambaran laboratorium dari darah penderita kadang kadang ditemukan leukositosis tetapi dapat pula normal atau sedikit turun. Hitung jenis leukosit terjadi kenaikan netrofil. Laju endap darah dapat meningkat. Keadaan klinik yang berat akan terjadi anemi dan trombositopeni. Kenaikan ureum dan kreatinin menunjukkan telah terjadi gangguan faal ginjal [19,33]. Adanya gangguan faal hati dapat diketahui dengan adanya kenaikan enzim transaminase hiperbilirubinemia. Enzim kreatin posfokinase dapat meningkat pada 50% penderita. Kenaikan enzim ini terjadi pada fase awal dan kenaikan yang melebihi empat kali normal dapat menyingkirkan kemungkinan hepatitis akibat suatu infeksi virus [19].

2.7.2. Bakteriologi

Pemeriksaan bakteriologi dapat dilakukan langsung dari jaringan, urine dan darah penderita atau melalui suatu biakan. Kelebihan pemeriksaan ini adalah spesifisitasnya cukup tinggi dan dapat dijadikan sebagai diagnosis pasti untuk leptospirosis. Walaupun demikian sampai saat ini tidak dianjurkan sebagai *gold standard* pada suatu penelitian mengingat sensitifitasnya yang rendah [12].

Pemeriksaan bakteriologi dengan biakan dapat menggunakan media pepton air daging 0,2%, medium kultur Stuard, Flechter dan Korthof. Biakan juga dapat dilakukan dengan cara inokulasi pada binatang tikus, marmut atau anak ayam yang baru berumur sehari. Terhadap binatang tersebut diperiksa cairan peritoneal atau darah yang diambil dari [35]. jantungnya [3,23].

Setelah hari ke 8 –10 dalam urine segar penderita kadang dapat ditemukan bakteri *Leptospira* yang tampak bergerak aktif di bawah mikroskop medan gelap. Kadang kadang keadaan ini secara intermiten masih dapat ditemukan sampai berminggu minggu. Bila dilakukan kultur kuman baru dapat diketahui setelah dua minggu [1,3.33].

2.7.3. Serologi

Serodiagnosis leptospirosis dikembangkan berdasarkan pembuktian adanya antibodi spesifik terhadap *Leptospira* dalam darah penderita [12,17,18]. Beberapa metode yang ada saat ini antara lain berdasarkan reaksi antigen antibodi.

Contoh untuk pemeriksaan ini adalah *macroscopic agglutination test* (MA test) , *microscopic agglutination test* (MAT) [12], *microcapsule agglutination test* (MCAT) [38] dan *Lepto rapid latex agglutination assay* (RLA Assay) [13]. Cara lain berdasarkan *immunofluorecent* dan *immunosorbent* seperti *Indirect fluorecent antibody test* (IFA test), *indirect fluorecent antibodi test* (IF test) [39] dan *dot enzyne linked immunosorbent assay* (dot-ELISA) [13,40]. Metode baru yang sekarang tengah dikembangkan adalah metode *leptodipstick assay* dan *immunobot* [12,17,18]. Diantara metode tersebut MAT dan *leptodipstick assay* akan dibicarakan lebih luas mengingat pemeriksaan ini erat kaitannya dengan penelitian ini.

2.7.3.1. Microscopic agglutination test (MAT)

Pemeriksaan MAT didasarkan atas reaksi aglutinasi dan kenaikan titer antibodi yang terbentuk di dalam serum penderita. Pemeriksaan ini mempunyai spesifitas dan sensitifitas yang cukup baik sehingga sering digunakan sebagai *gold standard* penelitian leptospirosis, walaupun MCAT sesungguhnya sedikit lebih baik dibandingkan MAT [15]. Di samping itu MAT memiliki kelebihan lain seperti dapat mendeteksi serogrup *Leptospira* sehingga memiliki akurasi tinggi sebagai penunjang diagnostik.

Prosedur kerja pemeriksaan MAT dimulai dengan :

- Memberi nomor pada setiap lubang pada *petri dish* dan tiap tabung yang berisi biakan jenis *Leptospira* tertentu yang telah disiapkan.
- Encerkan serum penderita dengan 1/40 dengan akuades steril. Teteskan 3 tetes serum tersebut pada setiap lubang *petri dish*.
- Teteskan 3 tetes biakan jenis *Leptospira* yang sesuai dengan nomor yang telah ditentukan.
- Goyang *petri dish* perlahan lahan.
- Inkubasikan campuran tersebut selama 24 jam pada suhu kamar, 28 -30 C.
- Teteskan dari tiap campuran setetes di atas gelas obyek lalu periksa dengan mikroskop medan gelap.
- MAT disebut positif bila tampak *Leptospira* mengalami penggumpalan (aglutinasi).
- Pemeriksaan diteruskan dengan pengenceran 1/80, 1/160, 1/320 dan seterusnya seperti sebelumnya sampai memberi reaksi negatif.

Adanya aglutinasi lebih dari 50% pada *petri dish* maka tes dianggap positif . Nilai diagnostik MAT secara klinik bermakna untuk diagnosis leptospirosis bila :

- Pada pengenceran 1/160 masih positif untuk serum penderita yang berasal dari daerah non endemik
- Pada pengenceran 1/320 masih positif untuk serum penderita yang berasal dari daerah endemik.
- Terjadi kenaikan titer lebih dari empat kali pada serum sepasang yang diambil dari penderita yang sama dengan rentang waktu tertentu (pada umumnya 5 hari) antara pengambilan serum pertama dan ke dua.

Keterbatasan MAT adalah waktu yang dibutuhkan panjang yaitu sampai dua minggu. Harus selalu menjaga *Leptospira* yang dijadikan antigen tetap baik. Pertumbuhan *Leptospira* yang optimal untuk dijadikan antigen pemeriksaan MAT membutuhkan waktu 3-15 hari. Di Samping itu *Leptospira* mudah mati akibat kuman kontaminan atau jamur di dalam biakan. Keadaan ini diperlukan pembiakan yang kontinyu dan berkesinambungan untuk menghindari kerusakan biakan [3,34].

Pada akhirnya penggunaan MAT sebagai penunjang diagnostik mempunyai konsekuensi sebagai berikut :

- Membutuhkan ruangan dan tempat khusus
- Membutuhkan kontrol kualitas yang baik
- Membutuhkan biaya mahal
- Risiko penularan bagi petugas cukup besar
- Ada beberapa sentra laboratorium tidak berani menyediakan fasilitas tersebut akibat rasa takut

Sebagai gambaran lebih lanjut tentang sensitifitas MAT dibanding pemeriksaan serologik yang lain telah dibuktikan pada beberapa penelitian. Amaritsu Y dan kawan kawan (1994) membandingkan sensitifitas antara MCAT, MAT dan ELISA Ig M test dengan hasil masing masing 64,8%, 37% dan 38,9% pada stadium awal leptospirosis yaitu sekitar hari ke 3-10 [38]. Sasaki DM dan kawan kawan (1991) mendapat angka 77,3%, 70,1% dan 67% masing masing untuk MCAT, MAT dan ELISA Ig M terhadap 97 penderita leptospirosis [21]. Di Rusia (1993) pernah dilakukan evaluasi terhadap sejumlah serum penderita dengan menggunakan MCAT, Ma test dan MAT ternyata mendapatkan sensitifitas masing masing 71,1%, 62,2% dan 91% [39]. Di Belanda juga pernah dilakukan evaluasi terhadap 46 serum penderita leptospirosis dengan hasil sensitifitas 87% untu MAT, 58,7% untuk Ig M ELISA dan 74% untuk MCAT [12]. Ribeiro (1996), melakukan evaluasi tes diagnostik MAT untuk leptospirosis dengan sensitifitas 92,1 % [13].

2.7.3.2. Leptodipstick assay

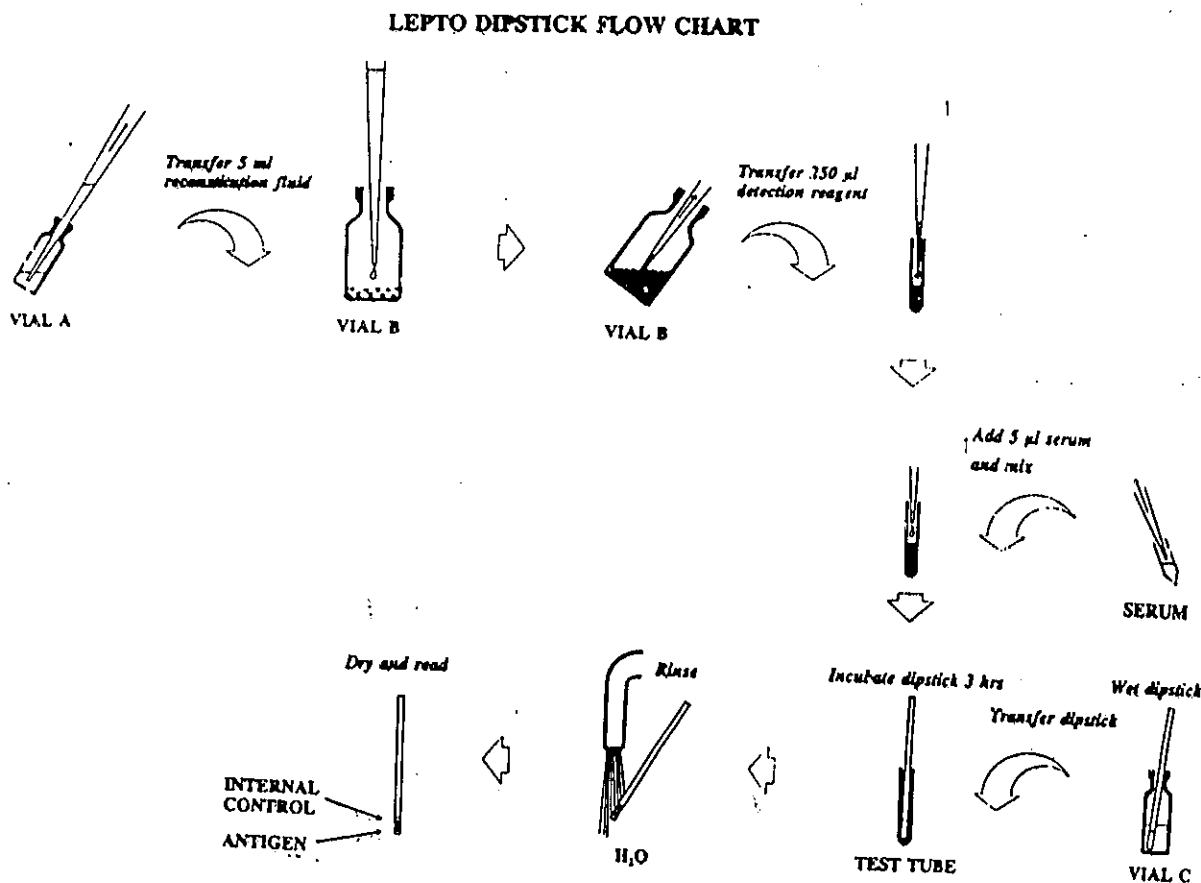
Leptodipstick assay (LDA) merupakan metode baru yang dikembangkan berdasarkan pendeteksian terhadap antibodi Ig M spesifik terhadap *Leptospira* pada serum penderita. Metode ini amat sederhana, cukup aman dan relatif cepat yaitu hanya membutuhkan waktu sekitar 2,5-3 jam. Kesederhanaan metode ini terletak pada penggunaan alat-alat yang hanya berupa tabung reaksi, reagen dan pita celup *dipstick*. Pemeriksaan ini tidak membutuhkan tempat khusus seperti pada MAT. Metode ini cukup aman karena menggunakan antigen *Leptospira* yang telah difiksasi sebagai pita antigen pada *dipstick* sehingga tidak ada risiko tertular akibat pemeriksaan dengan metode ini [12].

Antigen *Leptospira* pada LDA mampu menjamin pendeteksian secara efisien terhadap infeksi *Leptospira* spektrum luas. Antigen yang dipakai pada LDA berupa *L. Biflexa* yang dibuat stabil terhadap panas [12]. *Leptospira* tersebut diikatkan dengan nitroselulosa pada *stick*. Sedang reagen yang dipakai berupa *monoclonal anti human Ig M antibody* yang dikonjugasikan pada *colloidal dye*. Pewarnaan yang dipakai menggunakan suspensi *palanil red* [12,41].

Cara pemeriksaan LDA dimulai dengan mencampurkan antara serum penderita dengan reagen deteksi dengan pengenceran 1:50 kemudian menginkubasikan antigen pada *dipstick* ke dalam larutan tersebut. Adapun langkah-langkah pemeriksaannya adalah [12]:

- Reagen deteksi (Vial B) dicampurkan dengan cairan rekonstitusi (Vial A).
- Setelah tercampurkan reagen tersebut diambil 250 ul dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
- Serum penderita sebanyak 5 ul dicampurkan ke dalam reagen deteksi.
- Bagian *dipstick* yang mengandung pita kontrol dan pita antigen direndamkan ke dalam cairan *dipstick* (Vial C) beberapa saat (20-40 menit) sampai terbasahi merata dan tak terbentuk gelembung.
- *Dipstick* diinkubasikan di dalam reagen deteksi yang telah diberi serum penderita
- Inkubasi dilakukan selama 2,5-3 jam.
- *Dipstick* diangkat dan dibilas dengan air mengalir (air kran) sampai bersih.
- Biarkan *dipstick* pada ruang terbuka pada suhu kamar sampai kering.

- Pada saat ini hasil tes leptodipstick assay dapat diketahui apakah terjadi pewarnaan pada pita antigen dan pita kontrol.



Gambar 1. Langkah langkah Pemeriksaan leptodipstick assay (LDA)

Warna jingga atau agak kemerahan (*reddish*) pada pita antigen yang terbentuk saat pemeriksaan menunjukkan adanya reaksi antigen antibodi antara antigen pada *dipstick* dan antibodi dalam serum penderita. Ini berarti di dalam serum penderita terdapat Ig M spesifik terhadap *Leptospira*. Hasil pemeriksaan LDA dilakukan dengan membandingkan intensitas warna pita kontrol dengan pita antigen yang terbentuk. Bila pita kontrol tidak terbentuk, hal ini menunjukkan reagen telah rusak. Pita kontrol terletak disebelah proksimal (*internal*) dan melintang pada *dipstick*. Bila reagen LDA baik biasanya akan memberikan warna agak kemerahan dengan nilai intensitas +2. Pita antigen terletak sebelah distal dari pita kontrol.

Dengan membandingkan pita antigen yang terbentuk dengan pita kontrol akan diketahui hasil pemeriksaan LDA. Interpretasi hasil LDA adalah :

- Bila pita antigen tidak terbentuk berarti hasil pemeriksaan LDA negatif.
- Intensitas warna pada pita antigen kurang kuat dibanding kontrol disebut positif 1 (+1).
- Intensitas warna pada pita antigen sama dengan kontrol disebut positif 2 (+2)
- Intensitas warna pita antigen lebih tua dibanding kontrol disebut positif 3 (+3)
- Bila intensitas warna pita antigen sangat kuat dibanding kontrol disebut positif 4 (+)

Pada penelitian ini akan dievaluasi pada titik potong (*cut off point*) berapa *leptodipstick assay* bermakna secara klinik untuk penderita yang diteliti.

Ada beberapa penyakit yang dapat memberikan reaksi silang pada pemeriksaan LDA. Hal ini dapat terjadi pada penyakit penyakit yang mampu membentuk antibodi yang strukturnya mirip Ig M spesifik *Leptospira*. Intensitas warna yang terbentuk pada reaksi silang biasanya hanya memberikan hasil positif 1 (+1) [12.18]. Penyakit penyakit yang sering memberikan reaksi tersebut antara lain hepatitis virus akut, demam tifoid, influenza, penyakit autoimun (3%), AIDS (10%), Malaria dan brucellosis masing masing 15% sedangkan toksoplasmosis, virus hantta, hepatitis virus A dan meningitis meningokokus sekitar 20% . Hepatitis B dan sipilis tidak memberikan reaksi silang. Gussenhoven G C dan kawan kawan (1997) mengadakan evaluasi terhadap 284 serum penderita dengan LDA dibandingkan dengan ELISA Ig M dan MAT dengan hasil positif masing masing 76,4%, 76,8% dan 81,3%.

Pada penelitian yang sama dilakukan evaluasi terhadap 274 serum kontrol ternyata hasil positif ditemukan pada leptodipstick assay 7,2%, ELISA Ig M 6,2% dan MAT 6,7%. Kesimpulan pada penelitian tersebut adalah ELISA dan LDA memberikan sensitifitas dan spesifitas yang tidak jauh berbeda. Sensitifitas dan spesifisitas ELISA masing masing 88,5 % dan 92,7 % sedang LDA 86,8 % dan 94,2 % (12).

Smits HL dan kawan kawan (1996), pada evaluasi multisentra mendapatkan sensitifitas LDA sebesar 84,5 % dengan menggunakan MAT sebagai *gold standard* [17].

2.8. Diagnosis Leptospirosis.

Menurut *The Center for Disease Control of Leptospirosis Report*, diagnosis leptospirosis adalah sebagai berikut [3] :

- Diagnosis pasti dapat ditegakan dengan ditemukan *Leptospira* dari suatu isolasi atau adanya gejala klinis leptospirosis dengan serologis positif.
- Diagnosis presumtif bila sesuai dengan kriteria Faine yang telah direkomendasikan WHO 1982 sebagai kriteria diagnostik untuk leptospirosis (Tabel 5)

Rekomendasi WHO 1982 untuk diagnosis leptospirosis didasarkan atas WHO 1982 merekomendasikan diagnosis leptospirosis didasarkan atas temuan gejala dan tanda klinik seperti demam, sakit kepala, ikterik, *Conjunctival suffusion*, meningismus, nyeri otot, albuminuria dan azotemia. Kriteria lain yang dimasukkan pada rekomendasi tersebut adalah faktor epidemiologi dan hasil pemeriksaan serologi terutama peningkatan titer antibodi dari serum penderita [3]. Peningkatan titer dan tinggi rendahnya titer pada pemeriksaan MAT menentukan makna nilai diagnostik pemeriksaan tersebut. Dengan memberi nilai tertentu terhadap gejala dan tanda klinik yang ditemukan seperti demam, sakit kepala, ikterik, *Conjunctival suffusion*, meningismus, nyeri otot, albuminuria dan azotemia.

Kriteria lain yang dimasukkan pada rekomendasi tersebut antara lain faktor epidemiologi dan hasil pemeriksaan serologi terutama kenaikan titer antibodi dari serum penderita diagnosis leptospirosis dapat ditegakan. Yang dimaksud dengan titer meningkat adalah bila kenaikan titer paling sedikit empat kali dari titer sebelumnya [3].

Tabel 5.
Kriteria diagnosis leptospirosis berdasarkan rekomendasi WHO 1982

	Jawab	Nilai
A. Apakah penderita		
Sakit kepala mendadak	Ya/tidak	2/0
Conjunctival suffusion	Ya/tidak	4/0
Demam	Ya/tidak	2/0
Demam lebih 38 C	Ya/tidak	2/0
Meningismus	Ya/tidak	4/0
Meningismus, nyeri otot, conjungtial suffusion bersama sama	Ya/tidak	10/0
Ikterik	Ya/tidak	1/0
Albuminuria atau azotemia	Ya/tidak	2/0
B. Faktor epidemiologi		
Riwayat kontak binatang pembawa <i>Leptospira</i> , ke hutan, rekreasi, tempat kerja atau diduga atau diketahui kontak dengan air yang terkontaminasi	Ya/tidak	10/0
C. Hasil laboratorium serologi		
Serologi (+) dan daerah endemik		
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 endemik		
Serum tunggal (+), titer rendah	Ya/tidak	5/0
Serum tunggal (+), titer tinggi	Ya/tidak	15/0
Serum sepasang, titer meningkat	Ya/tidak	25/0

Sumber : Faine S, Guideline for the control of leptospirosis, WHO 1982 [3].

Berdasarkan kriteria tersebut maka leptospirosis dapat ditegakan bila :

- Presumtive leptospirosis bila A atau A+B > 26 atau A+B+C >25
- Sugestive leptospirosis bila A+B nilainya antara 20-25

2.9. Diagnosis Banding Leptospirosis

Semua penyakit yang memiliki gejala yang mirip leptospirosis tetapi tidak memenuhi kriteria WHO 1982 untuk leptospirosis dapat menjadi diagnosis banding untuk penyakit ini. Secara spesifik penderita dengan demam dan atau ikterik dan atau azotemia dapat merupakan diagnosis banding leptospirosis. Penyakit tersebut dapat berupa demam dengue, bronkopneumonia, abses hati, malaria berat, demam tifoid, hepatitis akut. Penyakit lain yang dapat menjadi diagnosis banding leptospirosis adalah Influenza, sindroma syok toksik, ensefalitis, meningitis, sindroma Guillian Barre, riketsiosis, infeksi mononukleosis, bruselosis, dan demam yang tak diketahui sebabnya (2.3.4). Beberapa penyakit tersebut menjadi kontrol dalam penelitian ini.

BAB III

TUJUAN, MANFAAT DAN METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

3.1.1. Tujuan umum :

Mengetahui nilai diagnostik LDA pada penderita leptospirosis yang dirawat di rumah sakit di Kodia Semarang, khususnya di RSUP Dr.Kariadi, RS.Elisabeth, RS.Pantiwilasa I, RS.Telogorejo, RS.Roemani dan RSUD. Kodia Semarang.

3.1.2. Tujuan khusus :

Untuk mengetahui nilai diagnostik LDA yang meliputi :

- Sensitifitas (Se)
- Spesifisitas (Sp)
- Akurasi/ketepatan
- Nilai ramal positif
- Nilai ramal negatif

3.2. Manfaat penelitian

Dengan mengetahui nilai diagnostik LDA ini diharapkan, pemeriksaan ini dapat sebagai salah satu alternatif penunjang skrining atau konfirmasi diagnostik pada penderita leptospirosis secara sederhana, cepat dan tepat.

3.3. Metodologi Penelitian

3.3.1. Desain penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah *crosssectional* untuk menilai penampilan suatu tes diagnostik (*Performance test*).

3.3.2. Tempat penelitian

- Bagian/UPF Ilmu Penyakit Dalam dan laboratorium Mikrobiologi FK Undip/RSUP Dr.Kariadi, Semarang. Rumah Sakit Umum Pusat Dr.Kariadi dipilih sebagai tempat penelitian karena merupakan rumah sakit pendidikan dan pusat rujukan.
- Untuk memperluas cakupan / jumlah sampel, penelitian juga dilakukan di rumah sakit- rumah sakit di Kodia Semarang sebagaimana tersebut di atas.

3.3.3. Waktu penelitian

Waktu penelitian dimulai 1 Maret 1997 sampai dengan 31 Maret 1999.

3.3.4. Gold Standard

- *Gold standard* pada penelitian ini adalah pemeriksaan serologik *Microscopic Agglutination Test (MAT)*.
- Pemeriksaan ini dipakai sebagai *gold standard* penelitian ini karena cara ini telah secara luas juga dipakai sebagai gold standard diberbagai negara.untuk leptospirosis di berbagai negara.
- Pertimbangan lain penggunaan MAT sebagai *gold dstandard* karena MAT dapat digunakan untuk memilahkan penderita dengan diagnosis leptospirosis (*disease present*) dengan penderita bukan leptospirosis (*disease absent*) terhadap subyek penelitian yang akan dilakukan pemeriksaan MAT dan LDA secara simultan.
- MAT juga mampu mendeteksi spesies *Leptospira* sampai pada serogup dan strain *Leptospira*.

3.3.5. Populasi penelitian

3.3.5.1. Populasi referen (rujukan)

Populasi referen adalah penderita dengan demam dan atau ikterik dan atau azotemia baik yang memenuhi maupun tidak memenuhi kriteria WHO 1982 untuk diagnosis leptospirosis.

3.3.5.2. Populasi studi

Populasi studi adalah penderita yang di rawat di bangsal Penyakit Dalam yang dirawat di beberapa rumah sakit wilayah Kodia Semarang diantaranya RSUP Dr.Kariadi, RS.Elisabeth, RS Telogorejo, RS Pantiwilasa I, RS.Roemani dan RSUD Kodia Semarang..

3.3.5.3. Subyek penelitian

Subyek penelitian adalah penderita yang berumur 14 tahun atau lebih yang dirawat di bangsal Penyakit Dalam RSUP Dr.Kariadi, RS.Elisabeth, RS Telogorejo, RS Pantiwilasa I, RS.Roemani dan RSUD Kodia Semarang yang memenuhi kriteria sampel.

3.3.6. Besar dan jenis sampel

Jumlah minimal subyek /sampel yang diteliti sebanyak 62 penderita sebagai kasus dan 62 penderita sebagai kontrol yang dihitung dengan menggunakan rumus Lemeshow :

$$Nn = \frac{(Z_{1-\alpha/2})^2 P.Q}{d^2}$$

P: Sensitifitas (diperkirakan 80%)

Q: 1-P = 0,2

d = 0,1

$Z_{1-\alpha/2} = 1,96$ (Tabel, dengan nilai kepercayaan 95%)

3.3.7. Kriteria inklusi

- Penderita bersedia menjadi subyek penelitian
- Usia lebih atau sama dengan 14 tahun
- Penderita dengan klinis leptospirosis berdasarkan kriteria WHO 1982 untuk diagnosis leptospirosis dan klinis mirip leptospirosis (tabel 2):

3.3.8. Definisi operasional

- Demam : Ada riwayat demam dan secara obyektif suhu badan di atas 37,2 C secara aksiler.
- Ikterik : Secara obyektif ditemukan warna kuning pada sklera dan atau kulit penderita dan secara laboratorik bilirubin darah meningkat lebih besar 1,5 mg%.
- Azotemia : Secara laboratorik terdapat kenaikan ureum dan kreatinin dalam darah yaitu ureum lebih 40 mg% dan kreatinin lebih besar 1,10 mg%).
- Klinis leptospirosis : Penderita yang mengalami demam disertai ikterik dan atau azotemia dan berdasarkan kriteria WHO 1982 untuk diagnosis leptospirosis nilainya lebih besar atau sama dengan 20.
- Kasus adalah penderita yang sesuai dengan klinis leptospirosis.
- Klinis mirip leptospirosis :Penderita penderita yang mengalami demam dan atau ikterik dan atau azotemia yang berdasarkan kriteria WHO 1982 nilainya kurang dari 20.

3.3.9. Metode dan bahan penelitian

Bahan penelitian sebagai sampel berupa serum yang diambil dari penderita yang berusia 14 tahun atau lebih yang dirawat di bangsal Penyakit Dalam di RSUP Dr.Kariadi, RS.Elisabeth, RS Telogorejo, RS.Pantiwilasa I, RS.Roemani dan RSUD Kodia Semarang yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel dikelompokan menjadi dua yaitu kelompok I diambil dari penderita klinis leptospirosis yang selanjutnya juga disebut sebagai kasus dan kelompok II berasal dari penderita klinis mirip leptospirosis yang selanjutnya juga disebut sebagai kontrol. Penderita yang termasuk kelompok kontrol pada penderita mempunyai diagnosis demam tifoid, bronkopneumonia, demam berdarah dengue, hepatitis, malaria berat, abses hati dan infeksi saluran kemih kolelitiasis dan penyakit hati kronis. Sampel serum diambil dari penderita pada saat masuk rumah sakit (sampel I) dan lima hari kemudian (sampel II).

Setiap kali pengambilan sebanyak lima mililiter darah vena yang kemudian diambil serumnya setelah dilakukan sentrifugasi. Sebagian serum tersebut di tes dengan LDA dan sebagian lainnya dikirimkan ke Belanda untuk dilakukan MAT yang dijadikan *gold standard* pada penelitian ini. Strain *Leptospira* yang dipakai dalam penelitian ini sebanyak 29 serogrup yang secara rinci dapat diketahui pada tabel 2. *Leptodipstick assay* (LDA) dan MAT akan positif bila di dalam serum penderita telah terbentuk Ig M spesifik terhadap *Leptospira*. Pemeriksaan MAT dianggap positif bila :

- Terbentuknya aglutinasi pada campuran serum penderita dan antigen MAT paling sedikit 50% pada *cut of point* 1/320, setelah campuran tersebut di inkubasikan paling sedikit 24 jam
- Adanya kenaikan titer pada sampel II paling sedikit empat kali lebih besar dibandingkan sampel I.

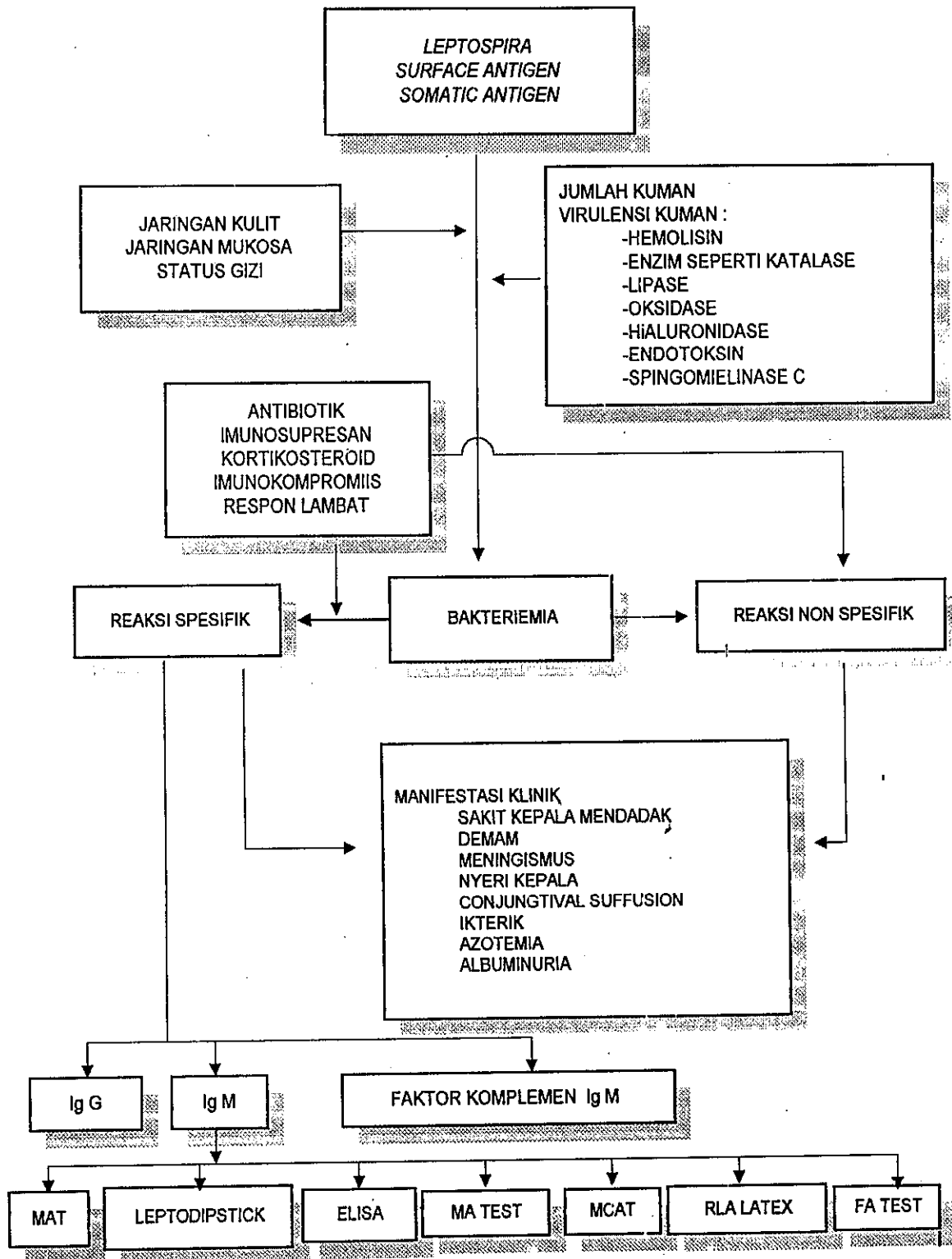
Reaksi antigen antibodi yang terjadi pada LDA ditunjukkan dengan terjadinya pewarnaan pada pita antigen pada LDA berupa warna jingga. Intensitas warna menunjukkan kuat lemahnya reaksi antigen antibodi. Interpretasi hasil LDA dilakukan dengan membandingkan warna jingga (*reddish*) yang terjadi pada pita kontrol dan pita antigen. Kemungkinan hasil LDA adalah :

- Negatif atau tak terbentuk pewarnaan pada pita antigen.
- Positif 1 (+1) bila intensitas warna pita antigen lebih lemah dari pita kontrol.
- Positif 2 (+2) bila intensitas warna pita antigen sama dengan warna pada pita kontrol.
- Positif 3 (+3) bila intensitas warna pada pita antigen lebih kuat dibandingkan intensitas warna pada pita kontrol.
- Positif 4 (+4) intensitas warna pita antigen sangat kuat dibanding intensitas warna pada pita kontrol
- Terbentuknya pita pada *dipstick* memerlukan waktu inkubasi antara 2.5-3 jam

Semua sampel yang diambil saat penderita masuk rumah sakit dilakukan tes LDA. Bila hasil positif 1 (+1), LDA dilakukan terhadap sampel II. Hal ini dimaksudkan untuk memastikan apakah hasil LDA pada sampel I sebagai reaksi silang atau bukan.

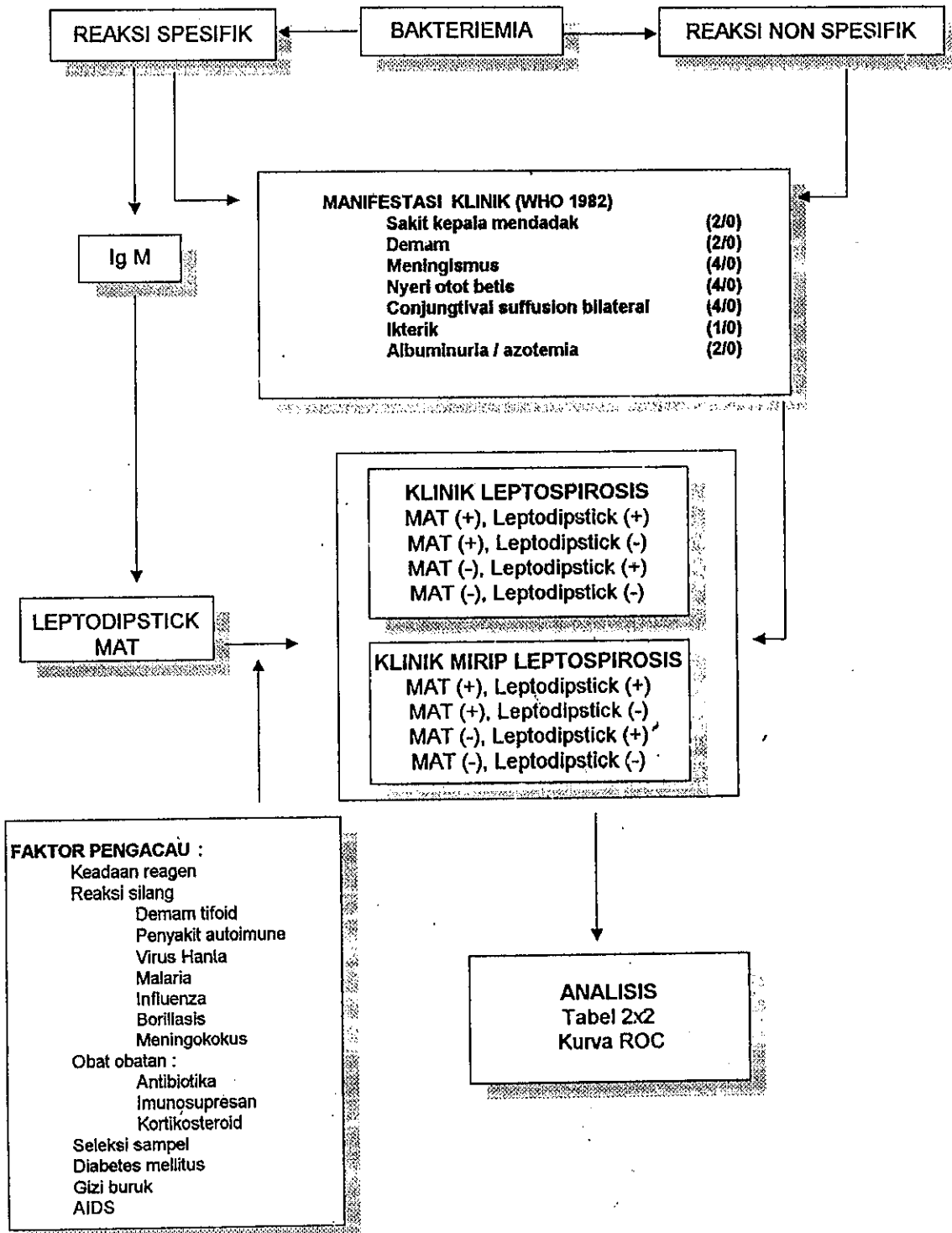
Pada reaksi silang biasanya hasil LDA pada sampel I dan II tak berbeda, sedang bila akibat leptospirosis akan memberikan peningkatan intensitas warna pada pita antigen yang terbentuk.

3.3. Kerangka Teori



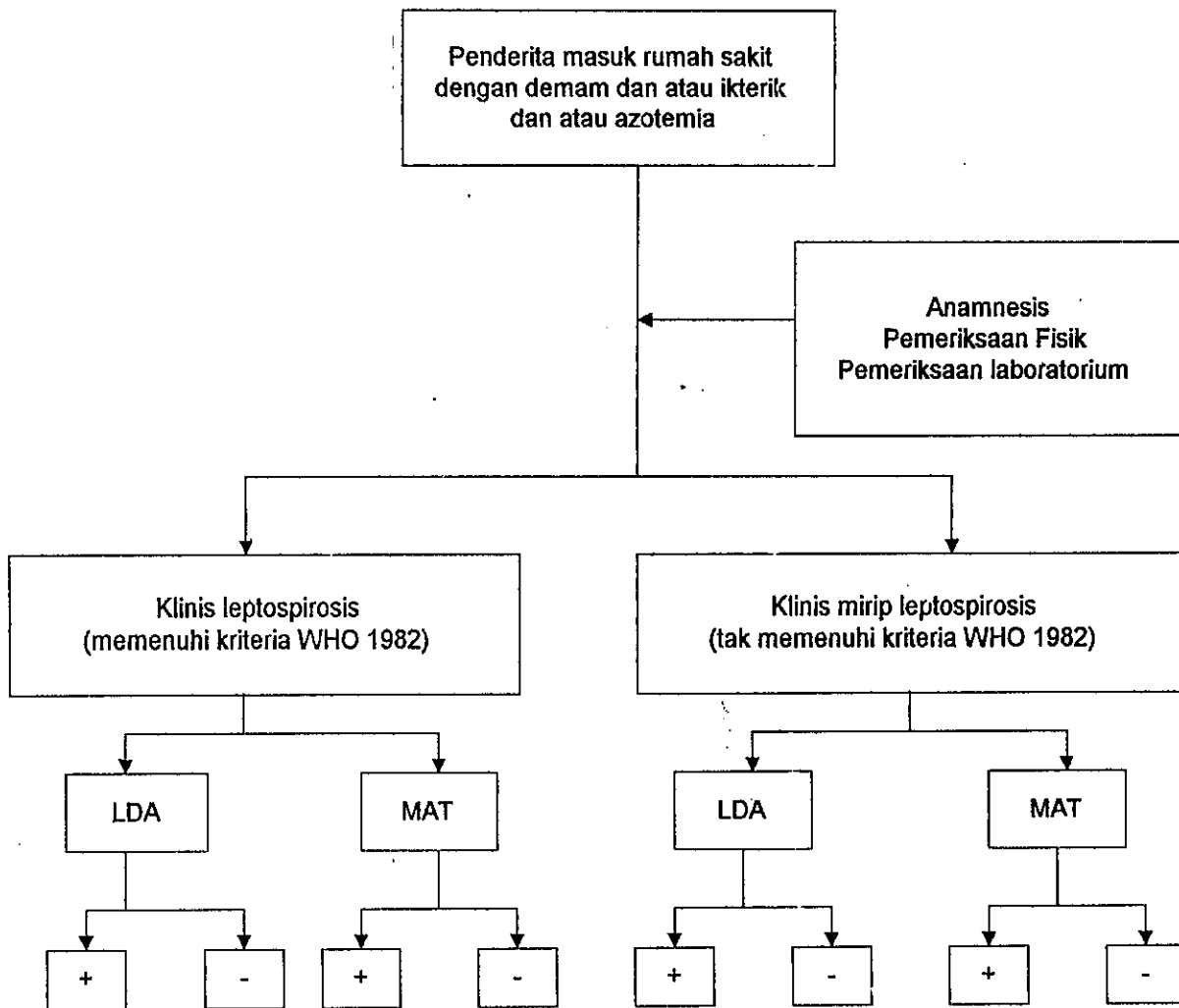
Gambar 2.

3.4 Kerangka Konsep



Gambar 3.

3.5 Alur Penelitian



Gambar 4.

Alur Penelitian :

1. Penderita masuk rumah sakit dengan demam dan atau ikterik dan atau azotemia ditetapkan sebagai sampel
2. Penderita dipilah dengan kriteria WHO 1982 untuk diagnosis leptospirosis
3. Penderita dengan skor ≥ 20 dianggap klinis leptospirosis, sedangkan kurang 20 dianggap klinis mirip leptospirosis
4. Kedua kelompok tersebut diuji LDA dan MAT secara simultan
5. Hasil uji dianalisis dengan tabel 2x2 untuk menentukan nilai diagnostik
6. Untuk mendapatkan sensitifitas dan spesifisitas terbaik yang dapat diterima dengan menggunakan *trade off* pada kurva ROC

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1. Variabilitas Sampel

4.1.1. Umur dan Jenis Kelamin

Secara statistik sampel yang dibutuhkan pada penelitian ini sebanyak 62 orang sebagai Klinis leptospirosis dan 620 orang sebagai Klinis mirip leptospirosis. Oleh karena adanya keterbatasan waktu, biaya, dan teknik pelaksanaan pada penelitian ini berhasil dikumpulkan 75 orang, terdiri dari 45 orang sebagai Klinis leptospirosis dan 30 orang sebagai kontrol. Distribusi sampel secara lengkap terlihat pada tabel 6.

Tabel 6.
Distribusi sampel yang dilakukan MAT dan LDA berdasarkan umur dan jenis kelamin pada 45 penderita klinis leptospirosis dan 30 penderita klinis mirip leptospirosis yang dirawat di RSUP Dr.Kariadi, RS.Elisabeth, RS.Telogorejo, RS.Roemani, Pantiwilasa I dan RS.Kodia Semarang Periode 1 Maret 1997-1 Maret 1999.

Umur (tahun)	Klinis leptospirosis			Klinis mirip leptospirosis			Total
	Pria	Wanita	Subtotal	Pria	Wanita	Subtotal	
≤9	2	2	4	0	2	2	6
20-29	4	2	6	6	2	8	14
30-39	12	2	14	4	4	8	22
40-49	6	1	7	4	2	6	13
50-59	6	5	11	4	1	5	16
≥60	2	1	3	1	0	1	4
Total	32	13	45	19	11	30	75

Dari populasi tersebut terdiri dari laki laki sebanyak 32 orang (43%) klinis leptospirosis dan 19 orang (25%) klinis mirip leptospirosis. Populasi wanita sebanyak 13 orang (17%) klinis leptospirosis dan 10 orang (13%) klinis mirip leptospirosis. Distribusi sampel berdasarkan golongan usia terbanyak diduduki oleh golongan usia 30-39 tahun baik pada klinis leptospirosis maupun pada klinis mirip leptospirosis yaitu masing masing 14 orang (19%) dan 8 orang (11%).

Variabilitas sampel yang lain selain umur dan jenis kelamin adalah ras dan status gizi. Pada kedua kelompok tersebut semua dari ras jawa dan status gizi rata rata gizi cukup atau *normoweight*.

4.1.2. Gambaran Klinik

Gambaran klinik leptospirosis dibedakan menjadi dua kelompok yaitu sindroma leptospirosis ikterik dan sindroma leptospirosis anikterik. Secara epidemiologi sindroma leptospirosis anikterik lebih banyak ditemukan yaitu sekitar 85-90% kasus. Karena sindroma leptospirosis anikterik kebanyakan ringan dengan gejala *Flu like syndrome* yang secara klinis sulit didiagnosis, maka pada penelitian ini gambaran klinis tidak dikelompokkan berdasarkan sindroma tersebut melainkan yang dipakai untuk pendekatan diagnostik adalah berdasarkan kriteria WHO 1982 untuk diagnosis Leptospirosis. Gambaran klinik yang ditemukan pada penelitian ini secara lengkap terlihat pada tabel 7.

Tabel 7.

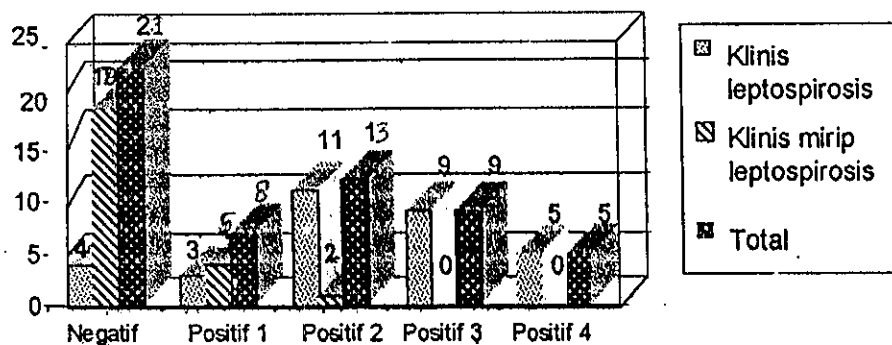
Gambaran Klinik Pada 45 Penderita Klinis Leptospirosis dan 30 Penderita Klinis Mirip Leptospirosis Berdasarkan Kriteria WHO 1982 untuk Diagnosis Leptospirosis

Gejala dan tanda klinik	Klinis Leptospirosis		Klinis Mirip Leptospirosis	
	Jumlah	%	Jumlah	%
Sakit kepala mendadak	35	78	23	77
Demam	45	100	30	100
Demam lebih 39 C	10	22	11	37
<i>Conjungtival suffusion</i>	39	87	4	13
Meningismus	11	24	1	3
Nyeri otot gastrocnemius, paha, pinggul	43	95	6	20
Ikterik	42	93	24	80
Albuminuria	23	51	6	20
Azotemia	40	89	18	60
Riwayat kontak binatang, air terkontaminasi	45	100	23	69

Pada penelitian ini demam ditemukan pada semua penderita. Pada sampel klinis leptospirosis gejala dan tanda klinik lain yang menonjol adalah nyeri otot yaitu 43 orang (95%), ikterik 42 orang (93%), azotemia 40 orang (89%) dan *conjungtival suffusion* 39 orang (84%). Pada klinis mirip leptospirosis gejala dan tanda yang menonjol adalah ikterik 24 (80%), sakit kepala mendadak 23 orang (77%) dan azotemia 18 orang (60%).

4.2. Hasil Tes Diagnostik

Selama penelitian terkumpul 75 sampel yang terdiri dari 45 sampel dari penderita klinis leptospirosis dan 30 sampel dari klinis mirip leptospirosis, tetapi adanya beberapa hambatan hanya 56 sampel yang dapat dilakukan pemeriksaan LDA dan MAT secara simultan. Hasil tes diagnostik secara umum tergambar pada gambar berikut ini



Gambar 5
Diagram Distribusi Hasil Pemeriksaan LDA pada 32 Penderita Klinis Leptospirosis dan 24 Klinis Mirip Leptospirosis dari Sampel yang dilakukan Pemeriksaan LDA dan MAT secara Simultan.

Sebagian besar dari 56 sampel dengan klinis leptospirosis memberikan hasil positif terhadap LDA sedang pada sampel klinis mirip leptospirosis sebagian besar memberikan hasil negatif. Distribusi hasil LDA pada sampel klinis leptospirosis berturut turut adalah sebagai berikut : LDA negatif 4 penderita, LDA (+1) 3 penderita, LDA (+2) 11 penderita dan LDA (+3) dan LDA (+4) sebanyak 5 penderita. Pada sampel klinis mirip leptospirosis memberikan distribusi hasil sebagai berikut : LDA (-) 17 penderita, LDA (+1) 5 penderita, LDA (+2) 2 penderita, LDA (+3) dan LDA (+4) tidak ditemukan. Terhadap 19 sampel lainnya yang telah dilakukan pemeriksaan LDA tetapi tidak dilakukan MAT memberikan hasil dengan distribusi sebagai berikut : Pada kelompok penderita dengan klinis leptospirosis menunjukkan LDA (-) 1 penderita, LDA (+1) 2 penderita, LDA (+2) 4 penderita, LDA (+3) 2 penderita dan LDA (+4) 1 penderita.

Pada kelompok penderita klinis mirip leptospirosis memberikan hasil LDA (-) 4 penderita, LDA (+1) 2 penderita, dan tak ada yang memberikan hasil LDA (+2), LDA (+3) dan LDA (+4).

Tabel 8
Distribusi hasil LDA pada 30 penderita klinis mirip leptospirosis

Jenis Penyakit	LDA					Total
	-	+1	+2	+3	+4	
DHF	2	0	0	0	0	2
Demam tifoid	3	0	0	0	0	3
ISK	2	1	1	0	0	4
Abses hati	1	0	0	0	0	1
Hepatitis virus	4	2	0	0	0	6
Bronkopneumonia	4	1	0	0	0	5
Febris	2	0	1	0	0	3
Sepsis	1	0	0	0	0	1
Gagal ginjal akut	1	0	0	0	0	1
Malaria berat	1	1	0	0	0	2
Penyakit hati kronis	1	1	0	0	0	2

Bila diperinci berdasarkan jenis penyakitnya 30 penderita klinis mirip leptospirosis yang dilakukan pemeriksaan LDA memberikan distribusi seperti pada tabel 8. Terhadap sampel tersebut ternyata yang memberikan hasil LDA (-) 22 penderita, LDA (+1) 6 penderita, LDA (+2) 2 penderita dan tidak didapatkan hasil LDA (+3) dan LDA (+4). Penyakit yang memberikan hasil LDA positif adalah ISK dan hepatitis virus masing masing 2 penderita, bronkopneumonia, febris, penyakit hati kronis dan malaria masing masing 1 penderita.

Tabel 9
Distribusi hasil LDA pada 45 penderita klinis leptospirosis berdasarkan onset penyakit

Onset (Hari)	LDA				
	-	+1	+2	+3	+4
≤ 4	3	0	6	1	2
5-9	1	3	12	10	3
≥ 10	1	1	1	1	0

Distribusi hasil LDA berdasarkan onset terjadinya penyakit pada sampel klinis leptospirosis dapat dilihat pada tabel 9. Hasil LDA pada 45 penderita klinis leptospirosis dengan onset penyakit kurang atau sama dengan 4 hari sebanyak 12 orang,

onset penyakit 5-9 hari 29 orang dan *onset* penyakit sama atau lebih 10 hari sebanyak 4 orang. *Onset* penyakit dihitung sejak penderita merasakan keluhan seperti demam atau sakit kepala dan lain lain sampai saat pengambilan sampel I. Bila pada penderita dilakukan pengulangan pemeriksaan LDA *Onset* penyakit dihitung mulai keluhan pertama sampai pengambilan sampel II.

Selanjutnya perlu disampaikan bahwa dari 75 sampel yang terkumpul hanya 56 sampel yang dilakukan pemeriksaan LDA dan MAT secara simultan. Dari sejumlah sampel tersebut meliputi 32 sampel sebagai penderita klinis leptospirosis dan 24 penderita klinis mirip leptospirosis. Distribusi hasil pemeriksaan LDA dan MAT dapat dilihat seperti pada tabel 10,11 dan 12.

Tabel 10
Distribusi hasil pemeriksaan LDA dan MAT terhadap 32 sampel dengan klinis leptospirosis yang diteliti

		MAT		Jumlah
		Positif (+)	Negatif (-)	
LDA	Positif 4 (++++)	5	0	5
	Positif 3 (+++)	9	0	9
	Positif 2 (++)	9	2	11
	Positif 1 (+)	2	1	3
	Negatif (-)	3	1	4

Terhadap 32 penderita klinis leptospirosis yang diperiksa LDA dan MAT secara simultan, memberikan hasil dengan distribusi MAT (+) dan LDA (+) 25 orang, MAT (+) dan LDA (-) 3 orang, MAT (-) dan LDA (+) 3 penderita, sedang MAT (-) dan LDA (-) 1 orang.

Tabel 11
Distribusi hasil pemeriksaan LDA dan MAT terhadap 24 sampel dengan klinis mirip leptospirosis yang diteliti

		MAT		Jumlah
		Positif (+)	Negatif (-)	
LDA	Positif 4 (++++)	0	0	0
	Positif 3 (+++)	0	0	0
	Positif 2 (++)	2	0	2
	Positif 1 (+)	2	3	5
	Negatif (-)	6	11	17

Tabel 11 menunjukkan bahwa distribusi hasil LDA (+) dan MAT (+) 4 penderita, LDA (+) dan MAT (-) 3 penderita, LDA (-) dan MAT (+) 6 penderita serta LDA (-) dan MAT (-) sebanyak 11 penderita.

Tabel 12

Distribusi hasil pemeriksaan LDA dan MAT terhadap sampel yang terdiri atas 32 penderita klinis leptospirosis dan 24 penderita klinis mirip leptospirosis yang diteliti (penderita campuran)

		MAT		Jumlah
		Positif (+)	Negatif (-)	
LDA	Positif 4 (++++)	5	0	5
	Positif 3 (+++)	9	0	9
	Positif 2 (++)	11	2	13
	Positif 1 (+)	4	4	8
	Negatif (-)	9	12	21

Bila antara penderita klinis leptospirosis dan klinis mirip leptospirosis digabungkan maka hasil LDA dan MAT terhadap 56 sampel tersebut adalah MAT (+) dan LDA (+) 24 orang, MAT (+) dan LDA (-) 9 orang, MAT (-) dan LDA (+) 6 orang sedang MAT (-) dan LDA (-) 12 orang.

Selanjutnya perlu disampaikan perhitungan nilai diagnostik LDA berdasarkan tabel 2X2 pada berbagai titik potong (*cut off point*).

Tabel 13

Tabel 2X2 Nilai Diagnostik LDA pada Penderita Klinis Leptospirosis pada Titik Potong Positif 1

		MAT	
		+	-
LDA	+	25	3
	-	3	1

Sensitifitas	89,3 %	Nilai ramal positif	92,9 %
Spesifisitas	25 %	Nilai ramal negatif	25 %
Akurasi	81,3 %		

Tabel 14

Tabel 2X2 Nilai Diagnostik LDA pada Penderita Klinis Leptospirosis Pada Titik Potong Positif 2

		MAT	
		+	-
LDA	+	23	2
	-	5	2

Sensitifitas	82,14 %	Nilai ramal positif	92 %
Spesifisitas	50 %	Nilai ramal negatif	28,6 %
Akurasi	78,1 %		

Tabel 15

Tabel 2X2 Nilai Diagnostik LDA pada Penderita Klinis Leptospirosis Pada Titik Potong Positif 3

		MAT	
		+	-
LDA	+	14	0
	-	14	4

Sensitifitas	50 %	Nilai ramal positif	100 %
Spesifisitas	100 %	Nilai ramal negatif	22,2 %
Akurasi	56,2 %		

Tabel 16

Tabel 2X2 Nilai Diagnostik LDA pada Penderita Klinis Leptospirosis pada Titik Potong Positif 4

		MAT	
		+	-
LDA	+	5	0
	-	23	4

Sensitifitas 17,8 %
 Spesifisitas 100 %
 Akurasi 28,1 %

Nilai ramal positif 100 %
 Nilai ramal negatif 14,8 %

Tabel 17

Tabel 2X2 Nilai Diagnostik LDA pada Penderita Klinis Leptospirosis dan Klinis Mirip Leptospirosis (Penderita Campuran) Pada Titik Potong Positif 1

		MAT	
		+	-
LDA	+	29	6
	-	9	12

Sensitifitas 76 %
 Spesifisitas 66,6 %
 Akurasi 73,2 %

Nilai ramal positif 82,9 %
 Nilai ramal negatif 57,1 %

Tabel 18

Tabel 2X2 Nilai Diagnostik LDA pada Penderita Klinis Leptospirosis dan Klinis Mirip Leptospirosis (Penderita Campuran) Pada Titik Potong Positif 2

		MAT	
		+	-
LDA	+	25	2
	-	13	16

Sensitifitas 65,8 %
 Spesifisitas 88,9 %
 Akurasi 73,2 %

Nilai ramal positif 92,6 %
 Nilai ramal negatif 55,2 %

Tabel 19

Tabel 2X2 Nilai Diagnostik LDA pada Penderita Klinis Leptospirosis dan Klinis Mirip Leptospirosis (Penderita Campuran) pada Titik Potong Positif 3

		MAT	
		+	-
LDA	+	14	0
	-	24	18

Sensitifitas	36,8 %	Nilai ramal positif	100 %
Spesifisitas	100 %	Nilai ramal negatif	42,9 %
Akurasi	57,1 %		

Tabel 20

Tabel 2X2 Nilai Diagnostik LDA pada Penderita Klinis Leptospirosis dan Klinis Mirip Leptospirosis (Penderita Campuran) Pada Titik Potong Positif 4

		MAT	
		+	-
LDA	+	5	0
	-	33	18

Sensitifitas	13,2 %	Nilai ramal positif	100 %
Spesifisitas	100 %	Nilai ramal negatif	36,8,3 %
Akurasi	41,1 %		

Tabel 21

Nilai diagnostik LDA terhadap penderita klinis leptospirosis dan klinis mirip leptospirosis (Penderita campuran) pada berbagai titik potong

Titik potong LDA	Se (%)	Sp (%)	1-Sp (%)	PV + (%)	PV - (%)
Positif 1	76	66,6	33,4	82,9	57,1
Positif 2	65	88,9	11,1	92,6	55,2
Positif 3	36,8	100	0	100	42,9
Positif 4	13,2	100	0	100	35,3

Nilai diagnostik LDA terhadap penderita klinis leptospirosis pada berbagai titik potong

Titik potong LDA	Se (%)	Sp (%)	1-Sp (%)	PV + (%)	PV - (%)
Positif 1	89,3	25	75	92,9	25
Positif 2	82,2	50	50	92	28,6
Positif 3	50	100	0	56,2	22,2
Positif 4	17,8	100	0	100	14,8

4.2.3. Jenis *Leptospira* Penyebab Leptospirosis Pada Penderita yang Diteliti

Tabel 23.
Hasil MAT terhadap 56 sampel yang diteliti

Spesies	Serogrup	Strain	Jumlah
L. Interogans	Ichterohaemorrhagiae	Kantarowicz	8
	Ichterohaemorrhagiae	Wijnberg	3
	Australis	Jez-Brastislava	1
	Australis	Ballico	0
	Canicola	Hond utrecht W	0
	Pomona	Pomona	0
	Pyogenes	Salinem	0
L. Borgpetersenii	Bataviae	VanTienen	0
	Bataviae	Swart	1
	Sejroe	Harjoprajitno	0
	Sejroe	Lely 607	0
	Sejroe	Mus 24	0
	Sejroe	M84	7
	Ballum	Mus 127	0
	Hebdomadis	Hebdomadis	0
L. Santarosai	Tarassovi	Perecepelicin	4
	Mini	Sari	4
	Shermani	1342K	9
L. Bifleksa	Gripotyphosa	Duyster	0
	Gripotyphosa	Mandemakers	0
	Pomona	1161C	0
L. Meyeri	Samaranga	Patoc	3
L. Noguchii	Andaman	CH11	1
	Samaranga	Rat Semarang 173	0
L. Weillii	Panama	PA-CZ214K	2
L. Borpetersenii	Autumnalis	Rachmat	7
L. Alstoni	Celledoni	Celledoni	5
	Javanica	Poi	1
	Cynopteri	3522C	14

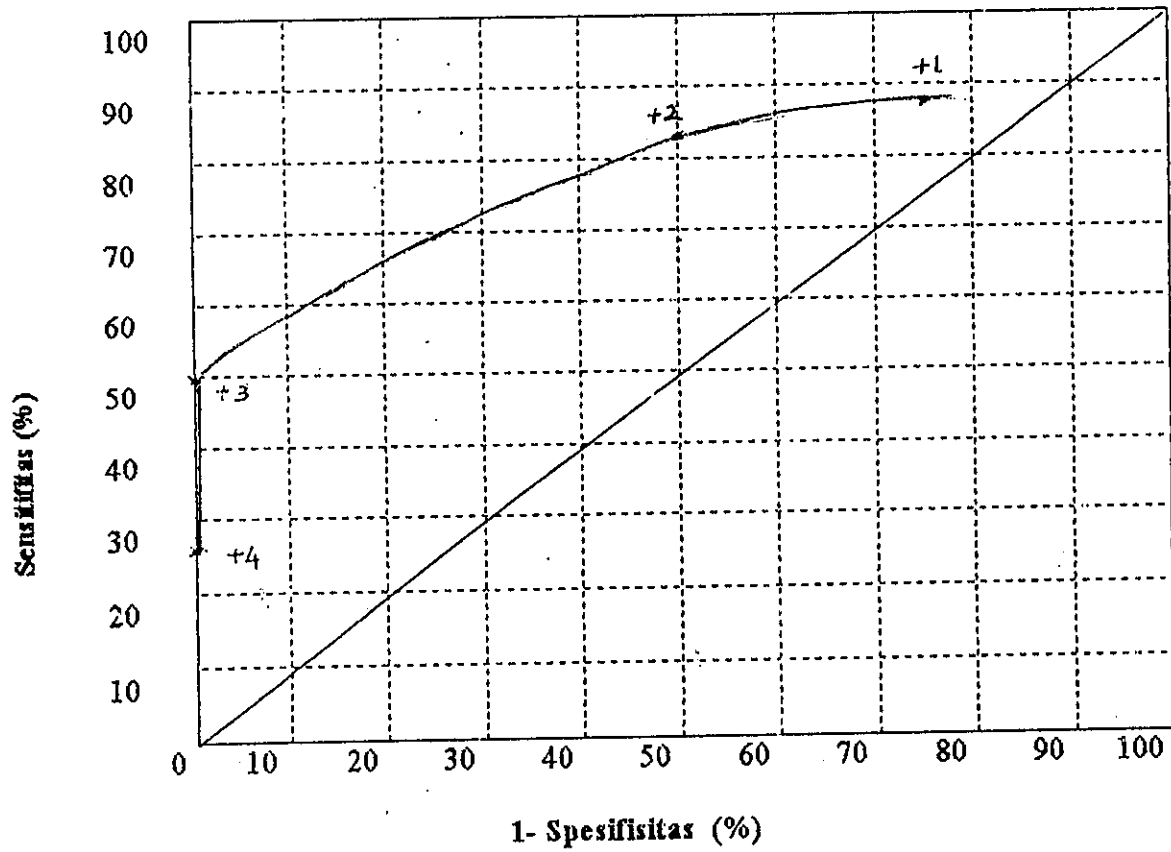
Dari 32 penderita klinis leptospirosis didapatkan 28 orang menunjukkan hasil MAT positif dan sebanyak 4 orang dengan hasil MAT negatif. Pada klinis mirip leptospirosis terdapat 11 penderita dengan MAT positif sedang sisanya yaitu 13 penderita hasil MATnya negatif. Jenis leospira yang memberi hasil reaksi positif dapat dilihat pada tabel 23. Memperhatikan tabel 23 tersebut tampak beberapa spesies *Leptospira* yang menyebabkan leptospirosis di daerah kodia Semarang. Spesies yang dimaksud adalah *L. Interogans*, *L. Borgpetersenii*, *L. Santorini*, *L. Nugochii*, *L. Weilii*, *L. Borpeterserii* dan *L. Alstoni*. Dari 7 spesies tersebut yang sering menyebabkan leptospirosis berasal dari serogrup *Cynopteri*, *Ichterohaemorrhagiae*, *Sejroe* dan *Shermani*.

Dominasi tanda dan gejala demam, azotemia dan ikterik pada leptospirosis yang disebabkan oleh kuman tersebut pada penelitian ini mungkin penderita leptospirosis di Semarang kebanyakan adalah kelompok sindroma leptospirosis ikterik. Kelompok ini biasanya keadaan klinisnya lebih berat dibanding kelompok sindroma leptospirosis anikterik. Dengan kata lain kelompok sindroma leptospirosis ikterik yang mempunyai indikasi perawatan di rumah sakit.

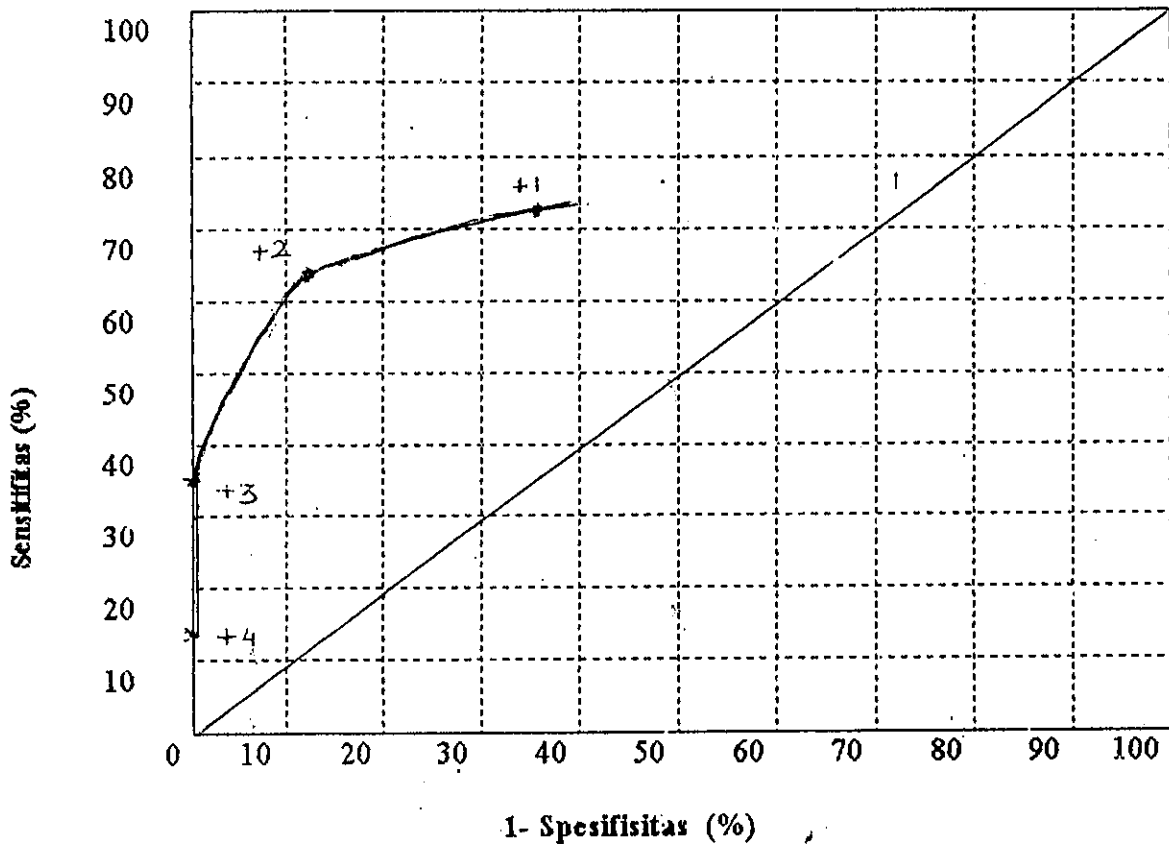
4.2.4. Receiver Operating Characteristic (ROC)

Dari hasil perhitungan nilai diagnostik terhadap sampel penelitian sebagaimana tabel 13 sampai tabel 22 dapat dibuat kurve ROC untuk melakukan tawar menawar terhadap nilai sensitifitas terbaik yang dapat diterima sebagai penetapan kesahihan uji leptodipstik yang telah dilakukan tersebut.

Gambar 5.
ROC Untuk Penderita Klinis Leptospirosis



Gambar 6.
ROC Untuk Penderita Klinis Leptospirosis dan Klinis Mirip Leptospirosis (Penderita Campuran)



PEMBAHASAN

5.1. Analisis Deskriptif

Uji diagnostik yang ideal adalah suatu uji yang dapat memberikan hasil positif pada semua subyek yang sakit dan negatif pada subyek yang sehat. Kejadian tersebut dapat terjadi bila suatu uji diagnostik mempunyai nilai indeks sensitifitas dan spesifisitas masing masing 100 %. Keadaan tersebut sangat jarang ditemukan. Hampir semua uji diagnostik terdapat kemungkinan untuk diperoleh hasil positif pada subyek yang sehat (*false positive*) dan negatif pada subyek yang sakit (*false negative*) [44].

Pada penelitian ini telah dilakukan uji diagnostik terhadap 56 sampel penderita yang terdiri dari 32 penderita klinis leptospirosis dan 24 penderita klinis mirip leptospirosis menggunakan LDA dengan *gold standard* MAT . Hasil LDA pada kelompok klinis leptospirosis dan klinis mirip leptospirosis (penderita campuran) adalah : LDA (+) dan MAT (+) sebanyak 28 orang, LDA (+) dan MAT (-) sebanyak 4 orang, LDA (-) dan MAT (+) sebanyak 12 orang serta LDA (-) dan MAT (-) sebanyak 11 orang. Hasil LDA pada kelompok klinis leptospirosis adalah : LDA (+) dan MAT (+) sebanyak 25 orang, LDA (+) dan MAT (-) sebanyak 3 orang , LDA (-) dan MAT (+) sebanyak 3 orang, serta LDA (-) dan MAT (-) sebanyak 1 orang. Berdasarkan hasil tersebut memberi petunjuk bahwa pada uji LDA tersebut telah terjadi hasil *false positive* dan *false negative*. Untuk menentukan besarnya kesalahan tersebut masih perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut.

Untuk mendapatkan nilai indeks diagnostik dari LDA paling baik diharapkan penelitian ini memberikan hasil : Pada kelompok klinis leptospirosis LDA (+) dan MAT (+) serta LDA (-) dan MAT (-) pada kelompok klinis mirip leptospirosis. Kenyataan hasil yang didapat pada kelompok klinis leptospirosis adalah : LDA (+) dan MAT (+) 25 orang (78 %), LDA (-) dan MAT (+) 3 orang (9,3 %). Pada kelompok klinis mirip leptospirosis didapatkan hasil LDA (-) dan MAT (-) 11 orang (45,8 %), LDA (-) dan MAT (+) 6 orang (25 %).

Hasil tersebut mengisyaratkan sensitifitas dan spesifisitas LDA masing masing tidak mencapai 100 %. Untuk mengetahui besarnya sensitifitas dan spesifitas LDA akan dikaji pada berbagai titik potong.

5.2. Nilai Diagnostik LDA Pada Berbagai Titik Potong

Nilai uji diagnostik dalam praktek medik tergantung pada 4 indeks yaitu sensitifitas, Spesifisitas, akurasi, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif (45). Mengingat hasil uji LDA digambarkan dengan nilai negatif, positif 1, positif 2, positif 3 dan positif 4 maka untuk menentukan sensitifitas terbaik perlu dikaji pada berbagai titik potong untuk mendapatkan pada titik potong yang mana diperoleh nilai diagnostik terbaik yang dapat diterima dari uji LDA tersebut. Biasanya terdapat *trade off* antara sensitifitas dan spesifitas dari suatu uji diagnostik. Artinya sensitifitas dapat ditingkatkan dengan mengorbankan spesifisitas. Pada ROC *trade off* terbaik terletak pada titik potong yang berposisi di paling kiri atas.

5.2.1. Nilai Diagnostik LDA Pada Titik Potong Positif 1

Jika dipilih titik potong positif 1 pada penderita klinis leptospirosis akan diperoleh sensitifitas 89,3 %, Spesifisitas 25 %, akurasi 75 %, nilai ramal positif 92,9 % dan nilai ramal negatif 25 %. Sedang pada penderita campuran didapatkan sensitifitas 76 %, spesifisitas 66,6 %, akurasi 33,4 %, nilai ramal positif 82,9 % dan nilai ramal negatif 57,1 %.

5.2.2. Nilai Diagnostik LDA Pada Titik Potong Positif 2

Jika dipilih titik potong positif 1 pada penderita klinis leptospirosis akan diperoleh sensitifitas 82,2 %, Spesifisitas 50 %, akurasi 50 %, nilai ramal positif 92 % dan nilai ramal negatif 28,6 %. Sedang pada penderita campuran didapatkan sensitifitas 65 %, spesifisitas 87,5 %, akurasi 11,1 %, nilai ramal positif 92,6 % dan nilai ramal negatif 55,2 %.

5.2.3. Nilai Diagnostik LDA Pada Titik Potong Positif 3

Jika dipilih titik potong positif 1 pada penderita klinis leptospirosis akan diperoleh sensitifitas 50 %, Spesifisitas 100 %, akurasi 0 %, nilai ramal positif 56,2 % dan nilai ramal negatif 22,2 %. Sedang pada penderita campuran didapatkan sensitifitas 36,8 %, spesifisitas 100 %, akurasi 0 %, nilai ramal positif 100 % dan nilai ramal negatif 38 %.

5.2.4. Nilai Diagnostik LDA Pada Titik Potong Positif 4

Jika dipilih titik potong positif 1 pada penderita klinis leptospirosis akan diperoleh sensitifitas 17,8 %, Spesifisitas 100 %, akurasi 0 %, nilai ramal positif 100 % dan nilai ramal negatif 14,8 %. Sedang pada penderita campuran didapatkan sensitifitas 11,1 %, spesifisitas 100 %, akurasi 0 %, nilai ramal positif 100 % dan nilai ramal negatif 35,4 %.

Dengan menggunakan ROC ternyata titik potong yang terletak pada posisi paling kiri dan di atas diagonal sebagai *trade off* terhadap sensitifitas dan spesifisitas adalah pada titik potong positif 2. Hal ini terjadi pada kelompok penderita klinis leptospirosis maupun kelompok penderita campuran. Ini menunjukkan pada titik potong tersebut nilai diagnostik LDA paling dapat diterima untuk memilah penderita leptospirosis atau bukan leptospirosis. Pada *trade off* ini terdapat sensitifitas 82,2 % dan spesifisitas 50 % pada kelompok klinis leptospirosis.

Nilai sensitifitas tersebut tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Smits HL dan kawan kawan yaitu 84,5 % (17), Yersin C dan kawan kawan 78,9 % (18), dan sensitifitas yang diperoleh Gussenhoven GC dan kawan kawan 85,7 %. Pada 3 penelitian tersebut menggunakan *gold standard* yang sama dengan penelitian ini yaitu MAT. Tampaknya stadium penyakit saat pengambilan sampel berpengaruh terhadap tinggi rendahnya sensitifitas. Pada stadium awal (kurang 10 hari) ternyata memberikan hasil sensitifitas yang lebih rendah dibandingkan stadium lanjut (12.17.18). Hasil tertinggi nilai sensitifitas akan dicapai bila sampel diambil saat durasi penyakit antara 10-30 hari. Kejadian ini oleh karena pada periode tersebut pembentukan Ig M mencapai puncaknya (12). Pada penelitian terdapat 45 penderita klinis leptospirosis terdapat 4 penderita dengan onset penyakit lebih dari 10 hari.

Diantara penderita tersebut terdapat seorang penderita yang memberikan hasil LDA negatif. Pada 41 penderita dengan onset penyakit kurang 10 hari 4 diantaranya memberikan hasil LDA negatif. Secara deskriptif hasil tersebut menunjukkan tak ada perbedaan antara hasil LDA penderita leptospirosis yang serum sampelnya diambil sebelum 10 hari dan sesudah 10 hari. Hasil ini berbeda dengan yang didapatkan oleh Gussenhoven GC dan kawan kawan. Hal ini terjadi mungkin akibat jumlah sampel pada penelitian ini yang kecil.

5.3. Faktor faktor yang Mempengaruhi Nilai Diagnostik

Sensitifitas dan spesifisitas LDA yang diperoleh tidak lepas dari beberapa hasil yang didapat pada penelitian ini, antara lain :

- Pada kelompok klinis mirip leptospirosis didapatkan 6 penderita (25 %) memberikan hasil LDA (-) dan MAT (+) , 4 penderita (16,6 %) LDA (+) dan MAT (+), 3 penderita (25 %) memberikan hasil LDA (-) dan MAT (+) serta ,3 penderita (12,5 %) memberikan hasil LDA (+) dan MAT (-)
- Pada kelompok klinis leptospirosis didapatkan 3 penderita (9,3 %) memberikan hasil LDA (+) dan MAT (-) serta 1 penderita (3,1 %) memberikan hasil LDA (-) dan MAT (-).

Dari 6 penderita klinis mirip leptospirosis dengan LDA (-) dan MAT (+) tersebut sebelumnya didiagnosis bronkopneumonia 2 penderita dan malaria, kolelitiasis, sirosis hati dan hepatitis akut masing masing 1 penderita. Dari kelompok tersebut 3 penderita menunjukkan penurunan titer yang tajam sampai dibawah *cut of value* untuk diagnosis leptospirosis di daerah endemik. Keadaan ini menunjukkan penderita pernah menderita leptospirosis dan saat ini antibodi yang terbentuk belum hilang dari peredaran darah. Antibodi tersebut sudah tidak dapat dideteksi oleh LDA tetapi masih memberikan reaksi positif terhadap MAT. Pada saat ini penderita tersebut menderita sesuai diagnosis klinis, yaitu hepatitis virus akut 1 orang dan bronkopneumonia 2 orang. Kejadian ini dapat dimengerti mengingat :

- Penderita berasal dari Semarang dan sekitarnya, yang mana daerah tersebut merupakan daerah endemik leptospirosis [4,5].

- Antibodi Ig M spesifik leptospira kadang masih dapat ditemukan di dalam sirkulasi darah sampai 3 bulan .

Kalau dugaan ini benar maka sesuai dengan yang pernah dilaporkan Gussenhoven GC dan kawan kawan, mereka menemukan 50 dari 64 penderita (78 %) secara serologik Ig M spesifik *Leptospira* masih positif setelah 90 hari menderita leptospirosis (12.18). Terhadap 3 penderita lain yang memberikan hasil LDA (-) dan MAT (+) ternyata titer antibodinya lebih besar dari cut of value untuk diagnosis leptospirosis. Hal ini menunjukkan penderita disamping menderita leptospirosis, pada saat yang sama juga menderita masing masing bronkopneumonia, kolelitiasis dan sirosis hati. Dengan kata lain penderita tersebut memberikan *false negative* untuk LDA tetapi positif terhadap MAT.

Pada 4 penderita dengan LDA (+) dan MAT (+) pada kelompok klinis mirip leptospirosis secara klinis didiagnosis masing masing sebagai malaria, infeksi saluran kemih (ISK), bronkopneumonia dan febris. Pada penderita febris tersebut ternyata hasil MATnya sesuai dengan diagnosis leptospirosis untuk daerah endemis. Penderita ISK dan bronkopneumonia tersebut dengan MAT memberikan titer yang melebihi *cut of value* untuk diagnosis leptospirosis di daerah endemik. Dua penderita lainnya memberikan kenaikan titer MAT yang bermakna untuk leptospirosis yang sedang aktif. Kejadian terhadap 4 penderita tersebut berarti mereka memang sedang menderita leptospirosis dan secara kebetulan bersamaan dengan penyakit lain, tetapi secara klinik gejala dan tanda penyakit yang lain lebih menonjol. Keadaan ini tidak dapat dihindari mengingat spektrum klinis leptospirosis sangat luas dari asimtomatik, *flu like syndrome* sampai keadaan yang fatal (13.31). Kelompok penderita klinis mirip leptospirosis dengan LDA (+) dan MAT (-) terdapat pada 3 penderita masing masing sirosis hati, hepatitis virus akut dan ISK. Hasil tersebut mungkin akibat adanya reaksi silang. Kalau dugaan ini benar, kejadian ini sesuai dengan yang dilaporkan Gussenhoven G C dan kawan kawan, mereka mendapatkan reaksi silang sebanyak 16 dari 180 penderita (8,9 %) dalam penelitiannya. Reaksi silang diantaranya ditemukan pada hepatitis virus A sebanyak 20 % dari seluruh kejadian, tetapi terhadap hepatitis virus B tidak ditemukan (12).

Pada 3 penderita klinis leptospirosis yang memberikan hasil LDA (+) dan MAT (-) mungkin telah terjadi *false negative* pada MAT tetapi tetap positif terhadap LDA. Pada kelompok klinis leptospirosis dengan LDA (-) dan MAT (-) mungkin dalam hal ini telah terjadi *false negative* pada kedua pemeriksaan tersebut. Penyebab false negative paling mungkin diduga karena pemakaian antibiotik, mengingat ke 3 penderita baru diambil darahnya 6 hari setelah antibiotik diberikan. Kemungkinan penyebab lain false negative adalah penggunaan kortikosteroid, immunosupresan, keadaan gizi buruk dan penyakit autoimun tetapi kejadian tersebut tidak diketemukan pada semua penderita yang diteliti. Dari uraian di atas besarnya nilai diagnostik LDA tersebut dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain :

- Adanya reaksi silang antara penderita leptospirosis dengan penyakit lain.
- Pemakaian obat-obatan : antibiotik sebelum pengambilan sampel
- Penderita pernah menderita leptospirosis dan saat ini di dalam sirkulasi masih terdapat Ig M spesifik *Leptospira*.
- Kriteria WHO 1982 yang digunakan dalam seleksi sampel pada penelitian ini.

5.4. Perbandingan Hasil penelitian Leptodipstick Assay dengan Cara yang Lain

Leptodipstick assay sebagai serodiagnostik telah dievaluasi di 27 laboratorium yang tersebar di 23 negara diantaranya di Indonesia. Pada umumnya evaluasi tersebut memberikan hasil yang cukup baik.

Tabel 24
Distribusi Hasil LDA Terhadap Penderita Leptospirosis Di Beberapa penelitian

	Tahun	LDA					Total	% positif
		(-)	(+ 1)	(+2)	(+3)	(+4)		
Penelitian ini	1999	4	3	11	9	5	32	87
Smits dkk	1999	83	78	16	188	149	514	83,9
Gussenhoven dkk	1997	76	36	56	93	38	299	74,6
Yersin dkk	1999	51	12	23	39	18	143	64,3
Hatta	1997	15	20	1	4	2	42	64,3

Beberapa contoh hasil penelitian tersebut dapat di lihat pada tabel 24. Pada umumnya penderita leptospirosis yang di periksa LDA memberikan hasil positif. Pada penelitian ini dengan LDA positif sebanyak 87 %, hasil ini hampir berimbang dengan penelitian lainnya seperti Smits dan kawan kawan 83,9 % [17], Gussenhoven GC dan kawan kawan 74,6 % [12], Yersin dan kawan kawan 64,3 % [18] sedang yang didapatkan oleh Hatta M dan kawan kawan paling rendah yaitu 64 % [46].

Besarnya nilai diagnostik LDA dibandingkan dengan cara yang lain mengesankan LDA cukup sensitif sebagai serodiagnostik leptospirosis. Lihat tabel 25. Sensitifitas yang didapatkan pada penelitian ini sebesar 82,2 %. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian lain seperti Smits HL dkk 84,5 %, Gussenhoven dkk 85,7 %. Dibandingkan dengan metode yang lain sensitifitas LDA lebih baik dibanding RLA LATEX dan IFA test yang masing masing memberikan sensitifitas 54,2 % dan 48,3 %, tetapi dibandingkan ELISA sedikit lebih tinggi (89,9 %), akan tetapi ELISA pengerjaannya lebih rumit dan membutuhkan tenaga khusus dan peralatan laboratorium yang mahal.

Tabel 25.
Hasil Test serodiagnostik dari bergaai jenis pada suatu penelitian.

Peneliti	Tempat & Tahun	Serodiagnostik	Besar sampel	Sensitifitas (%)	Lama pengerjaan
Penelitian ini	Scmarang 1999	LDA	56	82.2	3 jam
Smits dkk	Belanda 1999	LDA	421	84.5	3 jam
Gussenhoven dkk	Belanda 1997	LDA	91	85.7	3 jam
Ribiero dkk	Brasil 1996	ELISA	169	89.9	3 jam
Hoorn MWA WG dkk	Belanda 1999	RLA LATEX	59	54.2	3 menit
Appassakij H dkk	Thailand 1995	IFA test	175	48.3	1 jam

Dari segi kepraktisan LDA dan RLA LATEX merupakan cara yang paling sederhana. Cara ini tidak membutuhkan ruangan khusus, alat yang canggih dan tenaga yang terlatih. Sedangkan cara cara yang lain perlu peralatan yang membutuhkan ruangan khusus dan biaya perawatan yang mahal. Berdasarkan waktu yang dibutuhkan untuk pengerjaan LDA membutuhkan waktu yang hampir sama dengan cara serodiagnostik lain yaitu sekitar 3 jam kecuali RLA LATEX yang hanya membutuhkan waktu 3 menit. Memperhatikan segala aspek sebagaimana disampaikan tersebut LDA dapat dipertimbangkan sebagai salah satu pilihan alternatif serodiagnostik untuk leptospirosis.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Leptodipstick assay (KIT Amsterdam) merupakan metode serodiagnostik baru yang telah dievaluasi diberbagai negara (penelitian multisenter) sebagai serodiagnostik leptospirosis. Nilai diagnostik LDA yang didapat dari penelitian ini pada berbagai titik potong adalah sebagai berikut :

1. Pada kelompok penderita klinis leptospirosis :
 - Pada titik potong positif 1 (+1) memberikan hasil nilai diagnostik sensitifitas 89,3 %, spesifisitas 25 %, akurasi 81,3%, nilai ramal positif 92,9 % dan nilai ramal negatif 25 %
 - Pada titik potong positif 2 (+2) memberikan hasil nilai diagnostik sensitifitas 82,2 %, spesifisitas 50 %, akurasi 78,1%, nilai ramal positif 92 % dan nilai ramal negatif 28,6%
 - Pada titik potong positif 3 (+3) memberikan hasil nilai diagnostik sensitifitas 50 %, spesifisitas 100 %, akurasi 56,2 %, nilai ramal positif 56,2 % dan nilai ramal negatif 22,2 %
 - Pada titik potong positif 4 (+4) memberikan hasil nilai diagnostik sensitifitas 17,8 %, spesifisitas 100 %, akurasi 28,1%, nilai ramal positif 100 % dan nilai ramal negatif 14,8 %
2. Pada kelompok penderita campuran (klinis leptospirosis dan klinis mirip leptospirosis) memberikan hasil :
 - Pada titik potong positif 1 (+1) memberikan hasil nilai diagnostik sensitifitas 76 %, spesifisitas 66,6 %, akurasi 73,2 %, nilai ramal positif 82,9 % dan nilai ramal negatif 57,1%
 - Pada titik potong positif 2 (+2) memberikan hasil nilai diagnostik sensitifitas 65 %, spesifisitas 88,9 %, akurasi 73,2 %, nilai ramal positif 92,6 % dan nilai ramal negatif 55,2%
 - Pada titik potong positif 3 (+3) memberikan hasil nilai diagnostik sensitifitas 36,8%, spesifisitas 100 %, akurasi 57,1 %, nilai ramal positif 100 % dan nilai ramal negatif 42,9 %

- Pada titik potong positif 4 (+4) memberikan hasil nilai diagnostik sensitifitas 13,2 %, spesifisitas 100 %, akurasi 41,1 %, nilai ramal positif 100 % dan nilai ramal negatif 35,3%

Nilai diagnostik yang didapat sebagaimana tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor yang tidak terhindarkan antara lain :

- Adanya reaksi silang antara penderita leptospirosis dengan penyakit lain, yaitu hepatitis virus akut dan sirosis hati
- Penderita pernah menderita leptospirosis dan saat diperiksa LDA pada penelitian ini di dalam sirkulasi darah masih terdapat Ig M spesifik *Leptospira*. Penderita tersebut saat ini menderita bronkopneumonia 2 orang dan penyakit hati kronis (sirosis hati) 1 orang.
- Penderita saat diteliti secara bersamaan menderita leptospirosis bersama sama dengan malaria falsifarum, ISK dan bronkopneumonia masing masing 1 orang.

Bila hasil tersebut dibuat suatu kurva ROC maka pada penelitian ini dapat diketahui bahwa hasil LDA pada titik positif 2 (+2) merupakan titik potong terbaik yang dapat diterima sebagai *trade off* terhadap sensitifitas dan spesifisitas untuk memilah seseorang apakah menderita leptospirosis atau tidak.

6.2. Saran

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan sampel yang lebih besar untuk mengevaluasi nilai diagnostik LDA dengan lebih memperhatikan faktor faktor yang berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan LDA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Burrows W, Moulder JW, Lewert RM, Rippon JW. *Leptospira and leptospirosis*. In : Burrows W, Moulder JW, eds. *Textbook of microbiology*. 19th. Toronto : WB sounders company, 1968 : 760-5
2. Macleod J. *Leptospirosis*. In : Macleod J, Davidson, eds. *Davidson's principles and practice of medicine a textbook for students and doctor*. 12th. Livingstone ; The english language book society, 1977 : 79-81
3. Faine s. *Guideline for the control of leptospirosis*. Faine's (ed). Geneva : WHO, 1982 : 43-135
4. Soeharyo H, Karnadi E, Lestariningsih. *Aspek klinik leptospirosis (Weil's disease)*. Dalam : Soeharyo H, ed. *Tropical disease up date*. Semarang : FK undip, 1991 : 1-16
5. Soeharyo H. *Epidemiologic aspect of severe leptospirosis in semarang, central java, indonesia*. Abstract. National congress of the indonesian society for the study tropical medicine and ifect dis. Semarang. 1998 : 68
6. Heisey GB, Nimmanitya S, Karnchanachetanee C, Tingpalepong M, Samransamruajkit S, Hansukjariya p, Elwell MR, Ward GS. *Epidemiology and characterization of leptospirosis at an urban and provincial site in thailand, Southeast asian j trop med pub hlth- 1988; 19 ; 317-22*
7. Chruickshank R, Duguid JP, Marmion BP, Swain RHA. *Leptospira*. In : Swain RHA, Marmion BP, eds. *Medical microbiology, the practice of medical medical microbiology*. 12th. New york : Churchill livingstone,inc, 1975 : 510-5
8. Everard COR, Maude GH, Hayes RJ. *Leptospiral infection : a huosehald serosurvey in urban an rural communities in barbados and trinidad*. *Annals of trop med parasitol-* 1990; 84 : 255-66
9. Farri RW. *State of the art clinical article : Leptospirosis*. *Clin infect dis* – 1995;21: 1-8
10. Adams RD, Victor M. *Nonviral infevtions of the nerveus system*. In : *Principles of neurology*. 4th. Toronto : Mc Graw-hill, 1989 ; 554-85
11. Areak VM, Henry JB. *Studies on the patogenesis of leptospirosis*. *Am j trop med Hygiene-* 1971, 20: 430-42

12. Gusenhoven GC, Hoorn MAWG, Goris MGA, Terpstra WJ, Hartskeel RA, Mol BW, Smits HL. Leptodipstick, a dipstick assay for detection of leptospira specific immunoglobulin M antibodies in human sera. *J clin microbiol.* 1997; 35 : 92-7
13. Hommel M, Snowden k. Antigen detection immunoassay using dipstick and colloidal dyes. *J immunol method.*- 1991;140 : 57-65
14. Hoorn MAWG, Goris MGA, Kover H, Smits HL, Terpstra WJ, Hartkeerl RA. Evaluation of a latex agglutination assay for quick serodiagnosis of leptospirosis in human. Department of biomedical research, Royal intitute, Meibergdreef. 1999. Submitted.
15. Watt G, Padre LP, Atquiza LM, Laughlin LW. The rapid diagnosis of leptospirosis : a prospective comperrison of the dot enzyme-linked immunosorbent assay and the genus-spesific microscopic agglutination test at didfferent stages af illness. *J infect dis-* 1988; 151 : 840-4
16. Kover H. Microscopic agglutination test (MAT) for the diagnosis of leptospirosis and serotyping of leptospire. In : NH wellengrebel laboratory of tropical hygiene, Royal tropical intitute. Meibergdreef. 1995 : 148-55
17. Smits HL, Hartskeerl RA, Terstra WJ. An international multicenter evaluation of a dipstick assay, a quick and easy test for the serodiagnosis of present or recent immun leptospirosis- 1994 (Submitted)
18. Yersin C, Boret P, Smits HL, Perolet P. Field evaluation of a one step dipstick assay for diagnosis of human leptospirosis in seychelles. *J trop med international hith-* 1999; 4 : 38-45
19. Soedin K, Syukron OIA. Leptospirosis. Dalam : Soeparman, ed. Ilmu penyakit dalam. 5th. Jakarta : Penerbit FKUI, 1995 : 52-57
20. Yatim F. Risiko leptospirosis bagi pengarang jerami, penjelajah hutan dan yang senang kemping. *Puslit balitbang. Depkes-* 1992 : 65-7
21. Sasaki DM, pang L, Minetle HP. Active surveilance and rish factors for leptospirosis in hawai. *Am j trop med hyg-* 1993; 48 : 35-43
22. Morshed MG, Konis HPH, Terada Y. Seroprevalence of leptospirosis in rural flood prone distriect of bangladesh. *Epidemiol infect-* 1994;112 : 527-31

23. Manson-Bahr. Leptospirosis. In : Manson-Bahr, ed. Manson's tropical diseases. 60th. London : The english language book society, 1982 : 425-9
24. Speelman P. Leptospirosis in the netherlands. Abstract. National congress of the indonesian society for the study of tropical medicine and infect dis. Semarang . 1998 : 69
25. Zulkarnain I. Leptospirosis at ciptomangunkusumo and persahabatan hospital a review of 105 cases. Abstract. National congress of the indonesian society for the study of tropical medicine and infect dis. Semarang. 1998 : 86-7
26. Savio ML, Rosi c, Fusi p. detection and modification of leptospira serovar by PCR coupled with retriction endonuclease analysis of amplified DNA. J clin microbiol- 1994 ; 935-41
27. Merien F, Baranton G Perolat P. Comparison of polymerase chain reaction with micro agglutination test and culture for diagnosis of leptospirosis. J infect dis- 1995;172 : 172-81
28. Wilson GS, Miles AS. The spirochaetes. In : Topley, Wilson, eds. Topley and wilson's principles of bacteriology and immunity. 5th. Baltimore : Thewilliams & wilkins copany, 1970 : 1104-29
29. Anashiro EY, Bernard G, Sato MW. Patients with leptospirosis. Am j trop med hyg- 1991 : 138-45
30. Farrar AE. Leptospira species (Leptospirosis). In : Mendel GE, Douglas RE, Bernet JE, eds. Principle and practice of infection diseases. 3th ed. New York, 1991 : 317-27
31. Segers RPAM, Geste J, eys GJIM. Presence of putative spingomyelinase C among members of the family leptospiracaeae. Infect and immunity - 1992 ; 60 : 1707-10
32. Sitprija V, Pipatanagul V, Mertowidjojo K, Boonpucknavig. Pathogenesis of renal disease in leptospirosis : clinical and experimental studies. Kidney international-1980; 17 : 827-36
33. Babudierl B. Laboratory diagnosis of leptospirosis. Bull. WHO, 1961 : 45-58
34. Rogers DE, Prez RM, Cline MJ. Meningitis. In : Brndy PK, Epstein FH, Malawista SE, eds. The year book of medicine. 1st. London : Year book medicine publishers, 1983 : 47-51

35. Bellanti JA. Mekanisme immunitas terhadap penyakit bakteri. Dalam : Bellanti JA,ed. Immunology III. Terjemahan : Wahab samak. Jogyakarta : FK gajah mada, 1993 : 293-303
36. Arimatsu Y, Kmety E, Ananyira Y. evaluation of the one point microcapsule agglutination test for diagnosis of leptospirosis. Bull WHO-1994 ; 72 : 395-9
37. Bratawidjaja KG. Sistem imun, antigen dan antibodi, Selsel sistem imun dan imunologi infeksi. Dalam : Imunologi dasar. ed 3. Jakarta :FKUI, 1996 :3-113
38. Petchclai b, Hiranras S, Photha U. gold immunoblot analysis og Ig M specific antibody in the diagnosis of human leptospirosis. Am j trop med gyg- 1991 : 672-5
39. Appasakij H, Silvapojakul K, Wansit R, Woodtayakorn T. Evaluation of the immunofluorescent antibody test for the diagnosis of human leptospirosis. Am j trop med hyg- 1995; 52 : 340-3
40. Ribeiro MA, Brandao AP, Romero EC. Evaluation of diagnosis leptospirosis. Brazilian J med and biol- 1996 : 723-7
41. Padre LP, watt G, tauzon ML. Serologic survey of rice field leptospirosis in central luzon, Philippines, southeast asian , J trop med hlth- 1988 ; 193-9 test for human
42. Terpstra WJ, Ligthart GS, Schoone GJ. ELISA for the detection of specifif Ig M and Ig G in human leptospirosis. J general microbiol- 1985; 131 : 377-84
43. Lane EM, Ramaley RF, Miller NG. Hemolysin production by leptospira interrogans serovar canicola in a protein force medium with hemin southeast asian. J trop med pub hlth- 1988; 19 : 187-90
44. Pusponegoro HD, Wila-Wirrya IGN, Pudjiadi AH, Bisanti J, Zulkarnain SZ. Ujidiagnostik. Dalam : Dasar dasar metodologi penelitian klinis. Sastro asmoro S, Ismael S (eds). Jakarta : Bina aksara, 1995 : 126-42
45. Widiastuti-Sameko. Penelitian tes diagnostik. Dalam : Epidemiologi dan critical appraisal. Husni A (ed). Semarang : Badan penerbit universitas diponegoro, 1996 : 14-26
46. Hatta M. Evaluasi leptodipstick pada penderita suspek penyakit weil. Abstract. Kongres nasional III perhimpunan peneliti penyakit tropik dan infeksi indonesia. Balikpapan. 1997 : 81