

Review: Leptospirosis pada Anjing di Indonesia

Review: *Leptospirosis in Dogs in Indonesia*

Rifen Prabawan Krida Taruna Wiyata¹, Widi Nugroho^{1*}

¹Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

*Email : widi.nugroho@ub.ac.id

ABSTRAK

Leptospirosis ialah penyakit infeksius yang diakibatkan oleh bakteri motil dari genus *Leptospira*. Prevalensi leptospirosis pada anjing di Indonesia berkisar 13,8% – 44% dengan varian *Leptospira* antara lain serovar *Ichterohaemorrhagiae*, *Celledoni*, *Canicola*, *Pyrogenes*, *Cynopteri*, *Rachmati*, *Bataviae*, *Javanica*, *Grippotyphosa* dan *Tarrasovi*. *Leptospira sp.* dapat ditularkan melalui kontak langsung atau melalui tanah dan air yang terkontaminasi *Leptospira sp.* Hewan pengerat, babi, kuda, hewan ternak, anjing dan berbagai hewan liar seperti tupai dan rusa dapat berperan sebagai karier *Leptospira*. Gejala klinis leptospirosis pada anjing di Indonesia berupa demam, letargi, anoreksia, muntah, ikterus, gangguan ginjal, dispnea, poliuria, urin berwarna kuning, dehidrasi dan kematian. *Gold standard* pengujian leptospirosis pada anjing adalah MAT, namun uji PCR dan ELISA memiliki sensitivitas yang lebih tinggi. Upaya pencegahan kejadian leptospirosis dilakukan dengan vaksinasi, penggunaan disinfeksi rutin pada lingkungan kandang dan mencegah anjing kontak langsung dengan hewan reservoir seperti tikus.

Kata Kunci: anjing, *Leptospira sp.*, leptospirosis

ABSTRACT

Leptospirosis is an infectious disease caused by motile bacteria of the genus *Leptospira*. The prevalence of leptospirosis in dogs in Indonesia ranges from 13,8% - 44%, with *Leptospira* variants including the serovars *Ichterohaemorrhagiae*, *Celledoni*, *Canicola*, *Pyrogenes*, *Cynopteri*, *Rachmati*, *Bataviae*, *Javanica*, *Grippotyphosa* and *Tarrasovi*. *Leptospira sp.* can be transmitted through direct contact with an infected animal, soil or water contaminated with *Leptospira sp.* Rodents, pigs, horses, farm animals, dogs and various wild animals such as squirrels and deer can serve as carriers of *Leptospira sp.* Clinical symptoms of leptospirosis in dogs in Indonesia include fever, lethargy, anorexia, vomiting, jaundice, kidney disorders, dyspnea, polyuria, yellow urine, dehydration and death. The gold standard for leptospirosis testing in dogs is the MAT test, but the PCR and ELISA tests have higher sensitivity. Prevention of leptospirosis in dogs can be done by vaccination, routine disinfection of dog house and preventing dogs from direct contact with reservoir animals such as rats.

Keywords : dogs, *Leptospira sp.*, leptospirosis

PENDAHULUAN

Leptospirosis ialah penyakit infeksius yang menyerang hewan dan manusia. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri motil yang berasal dari genus *Leptospira*

(Goldstein, 2010). Leptospirosis tersebar pada berbagai negara di dunia khususnya pada daerah dengan iklim tropis maupun subtropis yang memiliki curah hujan tinggi, seperti Indonesia. Bakteri ini bisa hidup dan berkembang pada ginjal hewan

reservoir, selanjutnya akan ikut dibuang bersama urin sehingga dapat mencemari lingkungan. *Leptospira sp.* akan memasuki inang melalui ingesti air yang tercemar leptospira, penetrasi melalui luka terbuka, dan melalui selaput lendir yaitu konjungtiva, mulut, atau genital (Kurilung *et al.*, 2017). Individu yang terjangkit leptospirosis dapat menunjukkan gejala ringan sampai berat bahkan kematian.

Anjing ialah salah satu hewan reservoir *Leptospira sp.* Anjing dengan penyakit leptospirosis ditemukan pertama kali tahun 1899. *Leptospira interrogans serovar Canicola* dan *Icterohaemorrhagiae* ialah spesies utama yang menginfeksi anjing (Kusmiyati *et al.*, 2005). Leptospirosis merupakan penyakit yang dapat menimbulkan infeksi berat hingga kematian pada anjing dan berpotensi ditularkan ke manusia. Review ini bertujuan menampilkan informasi terkini tentang leptospirosis pada anjing, yang dapat menjadi referensi untuk meningkatkan kualitas diagnosa, pencegahan, pengobatan dan upaya pengendalian leptospirosis pada anjing di Indonesia.

METODE

Metode yang digunakan pada penulisan review ini yaitu pengumpulan data berupa artikel leptospirosis pada anjing di Indonesia pada tahun 1990 – 2021 dan artikel internasional yang membahas mengenai leptospirosis pada anjing di berbagai negara di dunia. Artikel diakses pada database Google Scholar dengan kata kunci pencarian yaitu: “leptospirosis”, “leptospirosis pada anjing

di Indonesia”, “*Canine leptospirosis*”, dan “*Leptospirosis in dogs*”. Analisis data dikerjakan secara deskriptif.

LEPTOSPIROSIS

Leptospirosis ialah penyakit menular dan zoonosis yang tersebar pada berbagai negara di dunia. Penyebabnya yaitu bakteri dari *ordo Spirochaetales, famili Leptospiraceae* dan *genus Leptospira* (Mishima *et al.*, 2013). *Leptospira* ialah bakteri Gram negatif, motil, memanjang, berbentuk melingkar seperti heliks (**Gambar 1**) (Schuller *et al.*, 2015). Bakteri ini memiliki ketebalan 0,1µm serta panjang 6–20 µm (Johnson and Johnson, 2018). *Leptosipra sp.* adalah bakteri obligat aerob, yang membutuhkan oksigen untuk bertahan hidup (Ramadhani dan Yunianto, 2012). Bakteri ini dapat bertahan hidup selama 3 minggu hingga berbulan-bulan tergantung dari kondisi lingkungan dan spesies (Bierque *et al.*, 2020). *Leptospira alstonii* misalnya, dapat bertahan selama lima bulan di tanah pada kelembaban 7,8% (Saito *et al.*, 2013). *Leptospira interrogan* dapat bertahan hidup pada tanah di lingkungan tropis hingga 9 minggu (Thibeaux *et al.*, 2017). *Leptospira sp.* dapat diklasifikasikan menjadi *Leptospira* patogen (*L. interrogan*) dan *Leptospira* saprofitik (*L. biflexa*) (Mohammed *et al.*, 2011). Kedua klasifikasi ini dikembangkan lebih jauh menjadi serovar spesifik berdasarkan adanya antigen homolog (60 serovar turunan *L. biflexa* dan 225 serovar turunan *L. interrogans*). Lebih dari 21 spesies turunan *Leptospira* telah diidentifikasi dengan lebih dari 200

serovar (Mohammed *et al.*, 2011). Klasifikasi leptospira dibagi menjadi tiga berdasarkan kemampuan menyebabkan penyakit yaitu leptospira patogen, saprofitik, dan *intermediate* (patogenisitas belum jelas) (Samrot *et al.*, 2021).

Leptospira saprofitik mampu tumbuh pada suhu rendah (5–35°C), dapat ditemukan secara alami di tanah dan air, serta tidak memiliki kemampuan untuk menyebabkan infeksi (Samrot *et al.*, 2021). Bakteri ini biasanya berada pada tanah lembab atau permukaan air namun jarang ditemukan pada manusia dan hewan lain (Benacer *et al.*, 2013). *Leptospira biflexa* merupakan leptospira golongan saprofitik yang pertama kali diidentifikasi. *Leptospira* saprofitik lainnya diantaranya adalah *L. wolbachii*, *L. meyeri*, *L. terpstrae*, *L. vanthielli*, dan *L. yanagawae* (Bulach *et al.*, 2006).

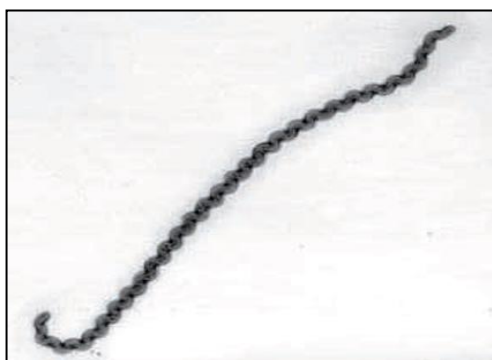
Leptospira intermediate merupakan leptospira yang status patogenitasnya belum diketahui secara jelas (Pui *et al.*, 2017). Spesies leptospira dari kelompok *intermediate* antara lain *L. inadai*, *L. licerasiae*, *L. broomi*, *L. Fainei* dan *L. Wolffii* (Chaiwattanarungruengpaisan *et al.*, 2018). Salah satu contoh leptospira *intermediate* adalah *Leptospira licerasiae* serovar *Varillal*. *Leptospira licerasiae* serovar *Varillal* memiliki sifat yang mirip dengan leptospira patogen yaitu peka terhadap 8-azaguanine, memiliki protein yang terkait LipL32 berdasarkan uji *Western* dan *Southern blot*, namun tidak mengandung Gen terkait LigA berdasarkan uji *Southern blot*. (Matthias *et al.*, 2008). Berbeda dengan *L. interrogans*, *Leptospira licerasiae* serovar *Varillal* dapat tumbuh cepat (mirip dengan *L. biflexa*) tapi tidak

menyebabkan penyakit pada hewan yang terinfeksi secara eksperimental.

Leptospira patogen membutuhkan suhu berkisar antara 20–35°C untuk tumbuh, umumnya dapat ditemukan pada rodensia dan memiliki flagela dengan struktur menyerupai bakteri Gram negatif (Benacer *et al.*, 2013). Beberapa spesies pada kelompok ini antara lain termasuk *L. weilii*, *L. santarosai*, *L. kirschneri*, *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, dan *L. noguchii* (dos Santos *et al.*, 2017). Kelompok ini mampu menyebabkan leptospirosis pada hewan dan manusia hingga menimbulkan morbiditas dan mortalitas (Samrot *et al.*, 2021).

Leptospira sp. dapat beradaptasi pada satu hewan mamalia atau lebih, baik sebagai inang definitif atau *reservoir*. Pada inang *reservoir* akan terjadi infeksi persisten dengan gejala klinis ringan dan bakteri akan dikeluarkan bersama urin selama berbulan-bulan hingga bertahun-tahun. Anjing merupakan hewan yang dapat bertindak sebagai inang *reservoir* untuk *Leptospira interrogans* serovar *Canicola* (Goldstein, 2010). Kejadian leptospirosis pertama kali pada anjing ditemukan di tahun 1899. Serovarian yang paling umum menyebabkan *Leptospirosis* pada anjing adalah *Leptospira* serovar *canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Grippothyposa*, *Pomona* dan *Bratislava* (Adin dan Cowgill 2000). *Leptospira interrogans* serovar *Canicola* dan *Icterohaemorrhagiae* ialah spesies utama yang menginfeksi anjing (Goldstein, 2010), babi, kuda, sapi, domba serta tikus (Ellis, 2015). Indonesia memiliki 14 serovar standar uji leptospirosis pada hewan dan manusia, antara lain serovar

Ichterohaemorrhagiae, *Celledoni*,
Pyrogenes, *Hardjo*, *Rachmati*,
Cynopteri, *Ballum*, *Grippotyphosa*,
Pomona, *Australis*, *Tarrasovi*, *Canicola*,
Javanica, dan *Bataviae* (Mulyani *et al.*,
2017).



Gambar 1. *Leptospira sp.* (Ko *et al.*, 2009)

GEJALA KLINIS LEPTOSPIROSIS PADA ANJING

Gejala klinis leptospirosis pada anjing bervariasi, mulai dari subklinis hingga menimbulkan kematian, tergantung umur, respon imun inang, dan virulensi mikroba (Levett *et al.*, 2001). Gejala klinis leptospirosis yang dilaporkan pada anjing di Indonesia antara lain demam, letargi, anoreksia, muntah, ikterus, gangguan ginjal, dispnea, poliuria, urin berwarna kuning, dehidrasi, dan kematian (Mulyani *et al.*, 2017; Prasetyo dan Pamungkas, 2018; Winaya *et al.*, 2018). Gejala klinis leptospirosis fase akut pada anjing didominasi *acute kidney injury* (AKI) dan gangguan hati. Manifestasi utama leptospirosis pada anjing (n=256) meliputi kerusakan ginjal 99,6%, paru-paru 76,7%, hati 26,0%, dan sindrom hemoragik 18,2% (Major *et al.*, 2014). Infeksi leptospira pada anjing dapat menyebabkan kematian dengan

presentase sebesar 28–70% (Kohn *et al.*, 2010).

Gejala klinis leptospirosis pada anjing berupa demam dapat terjadi pada fase awal penyakit disertai dengan lemah dan keengganan bergerak (Kohn *et al.*, 2010). Tanda klinis yang berhubungan dengan gangguan ginjal yaitu poliuria (PU) dan polidipsia (PD) dengan atau tanpa azotemia dan oliguria/anuria (Major *et al.*, 2014). Tanda klinis pernapasan dapat berupa takipnea dan dispnea ringan hingga berat (Kohn *et al.*, 2010). Manifestasi pada jantung menunjukkan takiaritmia ventrikel dan kerusakan miokardia (Mastrorilli *et al.*, 2007). Pankreatitis dapat terjadi pada anjing yang mengalami leptospirosis akut dan mengakibatkan munculnya tanda-tanda kesakitan pada perut, anoreksia dan muntah (Schuller *et al.*, 2015). Leptospirosis pada anjing juga dapat menunjukkan gejala optalmologis antara lain peningkatan lakrimasi, leleran mukopurulen, pan-uveitis, konjungtivitis, berkurangnya reflek pupil, ablasi retina dan perdarahan retina (Townsend *et al.*, 2006). Anjing yang mengalami kondisi leptospirosis juga dapat mengalami perdarahan seperti hemoptisis, epistaksis, hematemesis, haematochezia, melaena, haematuria dan petechiae (Kohn *et al.*, 2010).

Leptospira sp. juga menginfeksi hati sehingga mengakibatkan gangguan pada hati, baik gangguan hati ringan yang ditandai dengan peningkatan enzim-enzim hati dan gangguan hati parah yang ditandai dengan adanya *hepatic encephalopathy* (Schuller *et al.*, 2015). Gangguan ini mengakibatkan hati tidak dapat mengkonjugasi bilirubin, sehingga

bilirubin akan dilepaskan kembali menuju aliran darah. Jumlah bilirubin dalam darah yang melebihi batas nilai normal (hiperbilirubinemia) akan mengakibatkan timbulnya gejala ikterus. Oleh karena itu pada beberapa kasus leptospirosis dapat ditemui gejala ikterus, terutama pada kasus leptospirosis dengan gangguan hati parah (Greene, 2012).

PENULARAN *LEPTOSPIRA SP.* PADA ANJING

Penularan *Leptospira sp.* dapat terjadi melalui dua cara yaitu langsung dan tidak langsung. Penularan yang terjadi secara langsung dapat melalui kontak langsung dengan urin, *venereal*, trans plasenta, gigitan atau konsumsi makanan atau minuman yang tercemar *Leptospira sp.* Penularan secara tidak langsung yaitu berasal dari tanah dan air lingkungan yang tercemar urin dari hewan terinfeksi *Leptospira sp.* (Goldstein, 2010). Penularan leptospira juga dapat terjadi penetrasi melalui luka terbuka, dan melalui selaput lendir (konjungtiva, mulut, atau genital) (Kurilung *et al.*, 2017). Hewan pengerat, babi, kuda, hewan ternak, anjing dan berbagai hewan liar seperti tupai, dan rusa adalah beberapa hewan yang menjadi karier dari *Leptospira sp.* (Samrot *et al.*, 2021). Bakteri ini akan berkoloni pada tubulus proksimal ginjal, berkembang biak dengan cepat dan sebagian akan dieksresikan ke lingkungan melalui urin (Kurilung *et al.*, 2017).

PATOGENESIS PADA ANJING

Proses masuknya agen leptospirosis dapat terjadi pada saat minum, berenang,

atau berjalan di atas genangan air yang tercemar *Leptospira sp.* (Ellis, 2015). Selain itu *Leptospira sp.* juga dapat memasuki inang melalui luka terbuka, konjungtiva, selaput lendir atau *genital tract* (Mohammed *et al.*, 2011). Mekanisme molekuler patogenesis leptospirosis masih belum jelas. Beberapa faktor virulensi patogenesis *Leptospira* antara lain Lipopolisakarida (LPS), hemolisin, *Outer Membrane Proteins* (OMPs), serta molekul adhesi (Evangelista and Coburn, 2011). *Leptospira* patogen mengekspresikan sejumlah protein seperti LigA, LigB dan LigC yang mengandung domain mirip imunoglobulin. Baik LigA dan LigB mengikat komponen membran ekstraseluler inang, seperti elastin, tropoelastin, kolagen I dan IV, laminin, dan terutama fibronektin. Selain itu juga terdapat LipL32 dalam spesies leptospira patogen, namun tidak ditemukan pada spesies non-patogen. OMP leptospira utama ini mengikat kolagen I, IV dan V, serta laminin dan fibronektin (Evangelista and Coburn, 2011). Beberapa protein inang dapat mengikat banyak protein leptospira dan setidaknya 20 protein leptospira berikatan dengan laminin. LipL32 dan LigB merupakan faktor virulensi dan mempunyai kapasitas pengikatan terhadap komponen inang (Adler dan Klaasen, 2015).

Setelah melekat pada inang, bakteri memasuki pembuluh darah, merusak endotel pembuluh darah dan mengakibatkan sel mengalami ekstrasvasasi dan perdarahan. *Leptospira sp.* memiliki flagela periplasmik yang memungkinkan untuk memasuki aliran darah inang hanya dalam beberapa menit.

Tahap awal (fase akut) dari infeksi leptospira ini disebut juga fase leptospiraemia, non-ikterik atau bakteremia (Samrot *et al.*, 2021). Bakteri ikut tersebar melalui aliran darah ke seluruh tubuh dan tersebar ke berbagai organ seperti ginjal, sistem saraf pusat, mata, hati, limpa serta organ reproduksi. Setelah jumlah *Leptospira sp.* dalam darah dan jaringan mencapai tingkat tertentu, endotoksin berupa LPS akan mengakibatkan kerusakan jaringan dan gejala klinis akan muncul (Mohammed *et al.*, 2011).

Masa inkubasi leptospirosis tergantung pada dosis infeksi, kecepatan pertumbuhan organisme, toksisitas, dan kekebalan hospes. Studi eksperimental memperlihatkan bahwa masa inkubasi *Leptospira sp.* hingga munculnya gejala klinis seperti demam, lesu dan anoreksia yaitu sekitar tujuh hari, namun bervariasi tergantung respon imun dari inang serta dosis dan serovar yang menginfeksi ((Greenlee *et al.*, 2005). Respon kekebalan humoral terjadi pada minggu pertama infeksi, selanjutnya makrofag dan neutrofil akan melakukan fagositosis. Saat *Leptospira sp.* berikatan dengan sel inang, sitokin (interleukin-6, interleukin-10 dan TNF-) dan *Antimicroba Peptids* (AMPs) dilepaskan untuk membatasi kerusakan invasif yang ditimbulkan oleh bakteri (Cagliero *et al.*, 2018). Meskipun telah ditelan oleh sel fagositik, leptospira mampu bereplikasi dan bertahan hidup pada fagolisosom. Di lain sisi, sistem kekebalan tubuh inang akan secara terus menerus melepaskan sitokin dalam jumlah yang berlebihan (Cagliero *et al.*, 2018). *Leptospira sp.* yang berada pada ginjal akan sulit dimusnahkan, terutama

pada bagian glomerulus yang jarang terdapat antibodi, hal tersebut dikarenakan antibodi memiliki ukuran yang cukup besar sehingga tidak bisa melalui filtrat glomerulus.

DIAGNOSIS LEPTOSPIROSIS PADA ANJING DI INDONESIA

Diagnosis leptospirosis dicapai melalui sinyalmen, anamnesa, pemeriksaan fisik serta diagnosa penunjang. Diagnosis definitif leptospirosis sering menemui beberapa kesulitan. Kesulitan pertama yang harus dihadapi yaitu tanda klinis penyakit ini seringkali tidak jelas. Data klinikopatologi seringkali merupakan kerusakan suatu organ dan biasanya nonspesifik (Goldstein, 2010). Pemeriksaan laboratorium untuk leptospirosis umumnya menggunakan uji serologi, terutama untuk kasus akut. Pemeriksaan penunjang yang telah dilaporkan untuk mendiagnosa leptospirosis pada anjing di Indonesia antara lain uji hematologi dan kimia darah (Prasetyo dan Pamungkas, 2018), MAT (Mutawadiah *et al.*, 2015; Mulyani *et al.*, 2019), serta PCR (Putro *et al.*, 2016).

Pemeriksaan Hematologi dan Kimia Darah

Kelainan hematologi yang umum ditunjukkan pada mayoritas anjing yang mengalami leptospirosis yaitu leukositosis. Pada fase leptospiraemia, leukopenia terkadang dapat dijumpai. Diferensial leukosit umumnya menunjukkan neutrofilia, limfopenia dan monositosis. Trombositopenia ringan hingga berat dapat disebabkan oleh

aktivasi, adhesi dan agregasi trombosit ke endotelium, fagositosis sel Kupffer, kerusakan platelet yang dimediasi oleh imun atau sekuestrasi limpa. Pada sekitar 50% dari anjing dengan leptospirosis dijumpai gejala anemia ringan sampai sedang yang disebabkan karena kehilangan darah melalui saluran pernapasan atau pencernaan. Hemolisis karena efek racun leptospira lebih jarang terjadi pada anjing dibandingkan pada sapi (Schuller *et al.*, 2015). Pada kasus leptospirosis, konsentrasi urea dan kreatinin darah meningkat pada sebagian besar anjing. Kerusakan liver dapat terjadi pada leptospirosis, ditunjukkan dengan adanya peningkatan aktivitas dari serum ALT, AST, ALP serta hiperbilirubinemia yang umumnya terjadi bersamaan dengan azotaemia (Geisen *et al.*, 2007). Hasil pemeriksaan hematologi pada anjing dengan diagnosa dugaan leptospirosis di RSHP UB, Malang, menunjukkan anemia normositik hipokromik, leukositosis dan neutrofilia. Sel eritrosit hipokromik berbentuk anisositosis dan berwarna pucat. Pemeriksaan kimia darah menunjukkan adanya peningkatan total bilirubin, ALP dan BUN. Sedangkan total protein, albumin dan kreatinin menunjukkan penurunan (Prasetyo dan Pamungkas, 2018). Pemeriksaan hematologi dan kimia darah tidak dapat digunakan untuk menentukan diagnosis definitif dari leptospirosis, namun pemeriksaan ini dapat digunakan untuk mengetahui status perkembangan penyakit dan kesehatan pasien sehingga dapat membantu dalam pemberian terapi suportif yang tepat untuk meningkatkan peluang kesembuhan pasien.

Pemeriksaan Elektrolit

Kelainan elektrolit pada kasus leptospirosis pada anjing umumnya berupa hipokalemia dan hiperkalemia, hiperfosfatemia dan hipofosfatemia, hiponatremia dan hipokloremia. Perubahan ini biasanya terjadi selaras dengan derajat kerusakan fungsi ginjal dan gastrointestinal. Hipokalemia dapat terjadi karena kerusakan fungsi ginjal atau gastrointestinal (Goldstein *et al.*, 2006). Pemeriksaan elektrolit pada kasus leptospirosis dilakukan untuk mengetahui status elektrolit pasien, sehingga dapat dilakukan pemberian terapi suportif yang tepat dan untuk meningkatkan peluang kesembuhan pasien.

Urinalisis

Urinalisis menunjukkan isosthenuria pada sebagian besar anjing dengan leptospirosis, namun hyposthenuria juga dapat terjadi. Glukosuria sekunder, hematuria dan piuria dapat terjadi, akibat cedera tubular (Kohn *et al.*, 2010). Proteinuria muncul di sebagian besar kasus leptospirosis pada anjing. Elektroforesis protein urin pada anjing penderita leptospirosis, menunjukkan berat molekul tinggi yang konsisten dengan kerusakan glomerulus dan/atau protein yang memiliki berat molekul rendah yang konsisten dengan protein yang berasal dari tubulus ginjal (Mastrorilli *et al.*, 2007). Pemeriksaan urin menggunakan mikroskop cahaya tidak selalu menemukan *Leptospira sp* (Budihal and Perwez, 2014). Fibrin dan protein filamen dalam sampel urin dapat disalahartikan sebagai leptospira.

Kultur Bakteri

Sampel untuk kultur *Leptospira sp.* dari anjing yang diduga leptospirosis dapat berupa urin atau sampel darah yang dimasukkan pada tabung yang berisi media cair. Media albumin asam oleat adalah media yang paling umum digunakan untuk kultur *Leptospira sp.* Media ini terdiri dari amonium klorida, tiamin, disodium fosfat dan monopotassium fosfat serta berbagai faktor yang memperkaya media termasuk Tween 80 dan albumin. Antibiotik seperti rifampisin, neomisin, aktidion dapat ditambahkan ke media untuk isolasi bakteri secara selektif, pada sampel yang terkontaminasi (Miraglia *et al.*, 2009). Metode kultur dapat memberikan hasil yang sangat akurat, namun membutuhkan proses panjang. Hal ini dikarenakan *Leptospira sp.* membutuhkan waktu yang sangat lama untuk membelah, yaitu sekitar 6–8 jam dan keseluruhan waktu yang dibutuhkan untuk kultur dapat memakan waktu hampir 3 bulan untuk tumbuh. Metode ini tidak efektif untuk diagnosis kasus yang membutuhkan penanganan pasien secara cepat, namun metode ini dapat digunakan untuk penelitian atau riset. *Leptospira sp.* adalah organisme yang sangat menular, maka dari itu perlu ditangani dengan sangat hati-hati, karena ada risiko infeksi yang didapat di laboratorium dengan teknik ini (Budihal and Perwez, 2014).

Microscopic Agglutination Test (MAT)

Metode MAT merupakan uji yang paling umum digunakan di Indonesia. Pemeriksaan MAT di Indonesia dapat dilakukan di Balai Besar Penelitian

Veteriner, Bogor. Pengujian ini dapat mendiagnosa paparan *Leptospira sp.* pada anjing yang tidak menunjukkan gejala leptospirosis, namun pengujian ini tidak dapat mengetahui apakah hewan sebagai karier atau tidak dikarenakan titer antibodi bisa rendah pada hewan yang terinfeksi secara kronis (Arent *et al.*, 2013). Prinsip MAT yaitu kemampuan pengenceran serial serum pasien untuk menggumpalkan serovar leptospira hidup secara *in vitro* (Levett *et al.*, 2001)(Musso and La Scola, 2013). Pembacaan hasil MAT dilakukan dengan menggunakan mikroskop medan gelap. Mikroskop medan gelap merupakan mikroskop yang menggunakan lensa kondensor untuk memantulkan cahaya sehingga objek yang diamati menjadi lebih terang dan area disekitarnya menjadi lebih gelap. Titik akhir pembacaan MAT adalah 50% aglutinasi yang artinya 50% leptospira tidak teraglutinasi, yang disebut dengan titer antibodi (Mulyani *et al.*, 2017).

Titer MAT diperoleh dengan menguji berbagai pengenceran serum dengan serovar positif. Sampel dinyatakan positif terhadap serovar leptospira apabila menunjukkan titer lebih atau sama dengan 1:100. Uji ini dianggap sebagai *gold standard* (Chirathaworn *et al.*, 2014). Pengujian serologis menggunakan metode MAT dari sampel darah leptospirosis pada anjing dalam fase akut memiliki spesifisitas mencapai 100%, sensitivitas 50%, dan akurasi 64%. Namun pengujian serologis sampel darah pasien yang sembuh memiliki spesifisitas 92%, sensitivitas 100%, dan akurasi 98%. Pengujian MAT cukup akurat untuk diagnosis leptospirosis pada anjing, namun memiliki sensitivitas rendah untuk

diagnosis pada fase infeksi akut (Fraune *et al.*, 2013). Selain itu, selama fase akut antibodi yang meningkat mungkin tidak spesifik (Jimenez-Coello *et al.*, 2008). Uji MAT juga mungkin menunjukkan hasil negatif pada tahap awal penyakit dikarenakan belum terbentuk antibodi pada tubuh inang, sehingga pengujian harus dilakukan lebih dari satu kali untuk meneguhkan diagnosa (Budihal and Perwez 2014). Uji MAT umumnya dilakukan pada semua jenis serovar *Leptospira sp.* yang bersirkulasi pada suatu daerah sehingga membutuhkan biaya yang cukup mahal.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Metode PCR bertujuan untuk mendeteksi adanya DNA *Leptospira*. Pengujian pada sampel klinis menggunakan primer yang berasal dari sekuen DNA spesifik *Leptospira* (Sykes *et al.*, 2011). Pendeteksian leptospirosis dikembangkan dengan menggunakan beberapa target gen. Beberapa gen digunakan sebagai target untuk mendeteksi genus bakteri *Leptospira* misalnya gen 16S rRNA, lipL32, LigA dan LigB. Sekuen gen RRS yang menyandi 16S rRNA merupakan sekuen gen paling umum digunakan untuk deteksi leptospirosis (Putro *et al.*, 2016). Melalui uji PCR, *Leptospira sp.* dapat dengan mudah dideteksi dari sampel urin atau sampel darah pada tahap awal penyakit dengan cara yang lebih cepat dibandingkan dengan teknik konvensional seperti kultur bakteri (Shafighi *et al.*, 2014). Prosedur *real-time* PCR (RT-PCR) telah dikembangkan untuk deteksi *Leptospira sp.* dan mampu memberikan

hasil diagnosis segera setelah materi DNA diamplifikasi, dibandingkan dengan PCR konvensional (Villumsen *et al.*, 2010). Uji PCR pada pengujian sampel urin anjing terduga leptospirosis mempunyai sensitivitas 100% dan spesifisitas 88,3% (Harkin *et al.*, 2003).

Pengujian leptospirosis menggunakan PCR memiliki kelemahan terutama saat menggunakan spesimen urin (Fink *et al.*, 2015). Hal ini disebabkan karena primer dapat mengikat ke situs yang tidak spesifik, sehingga menunjukkan hasil positif palsu. Guna mendapatkan hasil yang lebih akurat, penggunaan teknik molekuler PCR dan serologis ELISA lebih menjadi pilihan apabila dibandingkan dengan MAT (Gasem *et al.*, 2020). Pemeriksaan PCR terhadap leptospirosis dapat dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP), Salatiga, Jawa Tengah (Putro *et al.*, 2016).

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

ELISA merupakan salah satu metode uji serologis yang digunakan untuk mendiagnosis leptospirosis melalui deteksi antileptospira IgM. Antileptospira IgM dapat dideteksi 4 atau 6 hari setelah timbulnya gejala klinis (Lizer *et al.*, 2017). Deteksi IgM biasanya menggunakan antigen spesifik genus *Leptospira*. Selain itu metode ELISA juga dapat dilakukan untuk mendeteksi IgG. Antibodi IgG dapat terdeteksi mulai dua minggu setelah infeksi dan bertahan sampai waktu yang lama (Kusmiyati *et al.*, 2005). ELISA mempunyai sensitifitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan MAT (Sumanth *et al.*, 2013). Sensitivitas ELISA mencapai 98,6% dan

spesifisitasnya 95,8% (Jimenez-Coello *et al.*, 2008). Metode pengujian ini lebih efisien karena membutuhkan waktu hanya 2–4 jam. Meskipun lebih efisien, namun tingkat antibodi yang masih rendah atau belum ada selama fase awal infeksi dapat menyebabkan diagnosis negatif palsu (Rosa *et al.*, 2017).

PREVALENSI LEPTOSPIROSIS PADA ANJING DI INDONESIA

Prevalensi leptospirosis pada anjing di Indonesia berkisar antara 13,8%–44% dengan varian leptospirosis antara lain serovar *Ichterohaemorrhagiae*, *Celledoni*, *Canicola*, *Pyrogenes*, *Cynopteri*, *Rachmati*, *Bataviae*, *Javanica*, *Grippotyphosa* dan *Tarrasovi*. Pada kurun waktu 2002–2004, prevalensi kejadian leptospirosis pada anjing di Indonesia sebesar 24,6% (Kusmiyati *et al.*, 2005). Seroprevalensi leptospirosis pada anjing di kota Denpasar yaitu sebesar 18,2% (n=55) dengan varian antara lain serovar *Canicola*, *Celledoni*, *Cynopteri* dan *Ichterohemorrhagiae* (Mutawadiah *et al.*, 2015). Seroprevalensi leptospirosis pada anjing di Daerah Istimewa Yogyakarta yaitu sebesar 15–44% dengan serovar antara lain *Ichterohaemorrhagiae*, *Celledoni*, *Canicola*, *Pyrogenes*, *Cynopteri*, *Rachmati*, *Bataviae*, *Javanica*, *Grippotyphosa* dan *Tarrasovi* (Mulyani *et al.*, 2017). Leptospirosis pada anjing di kota Semarang yaitu sebesar 13,8% (n=29) (Putro *et al.*, 2016).

FAKTOR RISIKO LEPTOSPIROSIS PADA ANJING

Studi faktor risiko leptospirosis pada anjing di Indonesia belum pernah

dilaporkan. Studi di negara lain menunjukkan bahwa kejadian wabah leptospirosis pada daerah endemik umumnya berkaitan dengan musim. Hujan dengan intensitas tinggi dapat menghanyutkan *Leptospira sp.* kedalam air. Leptospirosis di wilayah Asia-Pasifik, dianggap sebagai penyakit berperantara air. Lingkungan yang optimum untuk *Leptospira sp.* bertahan hidup dan melakukan perkembangbiakan yaitu pada kondisi lembab, temperatur optimum berkisar 25°C, dan pH netral. Kondisi tersebut umum di negara tropik dan terjadi hampir sepanjang tahun. Anjing yang melakukan kontak langsung dengan tikus memiliki risiko lebih besar terjangkit leptospirosis dibanding individu yang tidak melakukan kontak langsung dengan tikus (Goldstein, 2010). Anjing yang sering berada di area kotor, hidup di luar rumah, serta memakan daging mentah memiliki risiko yang lebih besar untuk terjangkit leptospirosis dibandingkan anjing rumahan (Meeyam *et al.*, 2006). Tingkat infeksi *Leptospirosis* pada anjing relatif lebih tinggi ditemukan pada anjing jantan jika dibandingkan dengan anjing betina (Ward *et al.*, 2004). Hal ini disebabkan oleh aktivitas seksual anjing jantan yang suka mengendus dan menjilat vulva anjing betina, memungkinkan anjing jantan berisiko kontak dengan urin yang mengandung *Leptospira* (Winaya *et al.*, 2018). Rentang usia anjing yang terjangkit leptospirosis yaitu antara 4–7 tahun (Ward *et al.*, 2004)

PENCEGAHAN

Pencegahan leptospirosis pada anjing bisa dilakukan dengan vaksinasi pada usia

tiga bulan (Goldstein, 2010). Anjing yang hidup di daerah rawan leptospira bisa divaksin rutin tahunan (Sykes *et al.*, 2011). Vaksin terbukti dapat melindungi anjing setidaknya selama 12 bulan (Klaasen *et al.*, 2003). Namun vaksinasi terhadap leptospira dinilai masih kurang efektif dikarenakan vaksin komersil yang beredar di Indonesia umumnya hanya mengandung serovar *Canicola* dan *Icterohaemorrhagiae* (bivalent), sehingga memungkinkan serovar lainnya untuk menginfeksi. Kandungan vaksin sebaiknya terdiri atas serovar leptospira yang dominan pada suatu daerah (Koizumi *et al.*, 2013). Vaksin quadrivalent telah tersedia di Amerika dengan penambahan serovar *Pomona* dan *Grippotyphosa*.

Selain melalui vaksinasi, penularan *Leptospira sp.* pada anjing peliharaan dapat dicegah dengan membatasi kontak langsung dengan hewan-hewan reservoir seperti tikus, sapi, babi, kuda dan domba (Goldstein, 2010). Anjing juga perlu dihindarkan dari berkontak dengan sumber penularan potensial seperti genangan-genangan air serta mengeliminasi tikus di sekitar rumah. Eliminasi *Leptospira sp.* pada lingkungan dapat dilakukan dengan iradiasi UV dan larutan desinfektan, seperti iodine, hidrogen peroksida, dan larutan amonium kuaterner (Sykes *et al.*, 2011).

PENGOBATAN

Pengobatan leptospirosis pada anjing dapat berupa antibiotik dan terapi suportif. Terapi pada anjing penderita leptospirosis yaitu antibiotik berspektrum luas misalnya ampisilin, doksisisiklin,

eritromisin, tetrasiklin, streptomisin, dan penisilin (Ellis, 2015). Penisilin, ampisilin, amoksisilin dan tetrasiklin dengan dosis tinggi diyakini efektif pada fase leptospiremia. Pemberian penisilin atau turunannya secara intravena umum digunakan pada fase ini. Pemberian amoksisilin dapat dilakukan selama 14 hari. Pemberian doksisisiklin selama 14 hari dilakukan setelah penisilin atau turunannya (Claus *et al.*, 2008). Doksisisiklin lebih efektif digunakan pada fase leptospiruria agar pembersihan bakteri pada tubulus ginjal lebih optimum (Sykes *et al.*, 2011). Leptospirosis merupakan penyakit sistemik yang mampu mengakibatkan kerusakan berbagai organ, maka dari itu rencana terapeutik harus didasarkan pada keseluruhan evaluasi klinis dan klinikopatologi untuk menghindari keputusan terapeutik yang tidak tepat (Schuller *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Anjing merupakan salah satu hewan reservoir leptospira dan sumber penularan pada manusia. Prevalensi leptospirosis pada anjing di Indonesia 13,8%–44% dengan varian leptospirosis antara lain serovar *Ichterohaemorrhagiae*, *Celledoni*, *Canicola*, *Pyrogenes*, *Cynopteri*, *Rachmati*, *Bataviae*, *Javanica*, *Grippotyphosa* dan *Tarrasovi*. Diagnosis definitif terhadap leptospirosis pada anjing di Indonesia umumnya menggunakan MAT yang merupakan *gold standard* pengujian *Leptospira*, namun kombinasi Uji PCR dan ELISA lebih cepat serta memiliki sensitivitas yang lebih tinggi. Pencegahan terhadap

leptospirosis dapat dilakukan dengan cara vaksinasi, penggunaan desinfektan secara rutin dan mencegah anjing kontak langsung dengan hewan reservoir seperti tikus. Pengobatan leptospirosis pada anjing dapat berupa terapi antimikroba dan terapi suportif.

DAFTAR PUSTAKA

- Adin, C. A. and Cowgill, L. D. 2000. Treatment and outcome of dogs with leptospirosis: 38 cases (1990-1098). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 216(3):371–375.
- Adler, B. and Klaasen, E. 2015. Recent advances in canine leptospirosis: focus on vaccine development. *VMRR*.6:245-260.
- Arent, Z. J., Andrews, S., Adamama-Moraitou, K., Gilmore, C., Pardali, D., Ellis, W.A. 2013. Emergence of novel *Leptospira* serovars: A need for adjusting vaccination policies for dogs? *Epidemiology and Infection*. 141(6):1148–1153.
- Benacer, D., Who, P. Y., Zain, S. N. M., Amran, F., Thong, K. L. 2013. Pathogenic and saprophytic *Leptospira* species in water and soils from selected urban sites in peninsular Malaysia. *Microbes and Environments*. 28(1):135–140.
- Bierque, E., Thibeaux, R., Girault, D., Soupé-Gilbert, M. E., Goarant, C.. 2020. A systematic review of *Leptospira* in water and soil environments. *PLoS ONE*. 15(1):1–22.
- Budihal, S. V. and Perwez, K. 2014. Leptospirosis diagnosis: Competancy of various laboratory tests. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 8(1):199–202.
- Bulach, D. M., Zuerner, R. L., Wilson, P., Seemann, T., McGrath, A., Cullen, P. A., Davis, J., Johnson, M., Kuczek, E., Alt, D. P, *et al.*, 2006. Genome reduction in *Leptospira borgpetersenii* reflects limited transmission potential. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 103(39):14560–14565.
- Cagliero, J., Villanueva, S. Y. A. M., Matsui, M. 2018. Leptospirosis pathophysiology: Into the storm of cytokines. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 8(JUN):1–8.
- Chaiwattananrungruengpaisan, S., Suwanpakdee, S., Sangkachai, N., Chamsai, T., Taruyanon, K., Thongdee, M. 2018. Potentially pathogenic leptospira species isolated from a waterfall in Thailand. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 71(1):65–67.
- Chirathaworn, C., Inwattana, R., Poovorawan, Y., Suwancharoen, D. 2014. Interpretation of microscopic agglutination test for leptospirosis diagnosis and seroprevalence. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 4(Suppl 1):S162–S164.
- Claus, A., Van De Maele, I., Pasmans, F., Gommeren, K., Daminet, S. 2008. Leptospirosis in dogs: A retrospective study of seven clinical cases in Belgium. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 77(4):259–263.
- Ellis, W.A. 2015. *Animal Leptospirosis*. Volume ke-387. Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg.
- Evangelista, K. V. and Coburn, J. 2011. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiol*. 5(9):1413–1425.
- Fink, J. M., Moore, G. E., Landau, R., Vemulapalli, R. 2015. Evaluation of three 5' exonuclease-based real-time

- polymerase chain reaction assays for detection of pathogenic *Leptospira* species in canine urine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 27(2):159–166.
- Gasem, M. H., Hadi, U., Alisjahbana, B., Tjitra, E., Hapsari, M. M. D. E. A. H., Lestari, E. S., Aman, A. T., Lokida, D., Salim, G., Kosasih, H., *et al.*, 2020. Leptospirosis in Indonesia: Diagnostic challenges associated with atypical clinical manifestations and limited laboratory capacity. *BMC Infectious Diseases*. 20(1):1–11.
- Geisen, V., Stengel, C., Brem, S., Müller, W., Greene, C., Hartmann, K. 2007. Canine leptospirosis infections - Clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups (42 cases). *Journal of Small Animal Practice*. 48(6):324–328.
- Goldstein, R. E. 2010. Canine Leptospirosis. *Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practice*. 40(6):1091–1101.
- Goldstein, R. E., Lin, R. C., Langston, C. E., Scrivani, P. V., Erb, H. N., Barr, S. C. 2006. Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 20(3):489–494.
- Greene, C. E. 2012. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Ed ke-4. St. Louis. Missouri. USA: Saunders Elsevier Inc.
- Greenlee, J. J., Alt, D. P., Bolin, C. A., Zuerner, R. L., Andreasen, C. B. 2005. Experimental canine leptospirosis caused by *Leptospira interrogans* serovars pomona and bratislava. *American Journal of Veterinary Research*. 66(10):1816–1822.
- Harkin, K. R., Roshto, Y. M., Sullivan, J. T., Purvis, T. J., Chengappa, M. M. 2003. Comparison of polymerase chain reaction assay, bacteriologic culture, and serologic testing in assessment of prevalence of urinary shedding of leptospires in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 222(9):1230–1233.
- Jimenez-Coello, M., Vado-Solis, I., Cárdenas-Marrufo, M. F., Rodríguez-Buenfil, J. C., Ortega-Pacheco, A. 2008. Serological survey of canine leptospirosis in the tropics of Yucatan Mexico using two different tests. *Acta Tropica*. 106(1):22–26.
- Johnson, D. I. and Johnson, D. I. 2018. *Leptospira* spp. *Bacterial Pathogens and Their Virulence Factors*. 289–294.
- Klaasen, H. L. B. M., Molkenboer, M. J. C. H., Vrijenhoek, M. P., Kaashoek, M. J. 2003. Duration of immunity in dogs vaccinated against leptospirosis with a bivalent inactivated vaccine. *Veterinary Microbiology*. 95(1–2):121–132.
- Ko, A. I., Goarant, C., Picardeau, M. 2009. Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 7(10):736–747.
- Kohn, B., Steinicke, K., Arndt, G., Gruber, A. D., Guerra, B., Jansen, A., Klopffleisch, R., Lotz, F., Luge, E., No, K. 2010. Pulmonary Abnormalities in Dogs with Leptospirosis. *J Vet Intern Med*. 24(6):1277–1282.
- Koizumi, N., Muto, M. M., Akachi, S., Okano, S., Yamamoto, S., Horikawa, K., Harada, S., Funatsumaru, S., Ohnishi, M. 2013. Molecular and serological investigation of *Leptospira* and leptospirosis in dogs in Japan.

- Journal of Medical Microbiology*. 62(PART4):630–636.
- Fraune, K.C., Schweighauser, A., Francey, T. 2013. Evaluation of the diagnostic value of serologic microagglutination testing and a polymerase chain reaction assay for diagnosis of acute leptospirosis in dogs in a referral center. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 242(10):1373–1380.
- Kurilung, A., Chanchaithong, P., Lugsomya, K., Niyomtham, W., Wuthiekanun, V., Prapasarakul, N. 2017. Molecular detection and isolation of pathogenic *Leptospira* from asymptomatic humans, domestic animals and water sources in Nan province, a rural area of Thailand. *Research in Veterinary Science*. 115(March):146–154.
- Kusmiyati, Noor, S. M., Supar. 2005. Animal and human Leptospirosis in Indonesia. *Wartazoa*. 15(4):213–9.
- Levett, P. N., Branch, S. L., Whittington, C. U., Edwards, C. N., Paxton, H. 2001. Two methods for rapid serological diagnosis of acute leptospirosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 8(2):349–351.
- Lizer, J., Grahlmann, M., Hapke, H., Velineni, S., Lin, D., Kohn, B. 2017. Evaluation of a rapid IgM detection test for diagnosis of acute leptospirosis in dogs. *Veterinary Record*. 180(21):517-521
- Major, A., Schweighauser, A., Francey, T. 2014. Increasing incidence of canine leptospirosis in Switzerland. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 11(7):7242–7260.
- Mastrorilli, C., Dondi, F., Agnoli, C., Elena, T. M., Vezzali, E., Gentilini, F. 2007. Clinicopathologic Features and Outcome Predictors of *Leptospira interrogans Australis* Serogroup Infection in Dogs: A Retrospective Study of 20 Cases (2001–2004). *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 21(1):3-10
- Matthias, M. A., Ricaldi, J. N., Cespedes, M., Diaz, M. M., Galloway, R. L., Saito, M., Steigerwalt, A. G., Patra, K. P., Ore, C. V., Gotuzzo, E., et al., 2008. Human leptospirosis caused by a new, antigenically unique *Leptospira* associated with a *Rattus* species reservoir in the Peruvian Amazon. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2(4):1-12.
- Meeyam, T., Tablerk, P., Petchanok, B., Pichpol, D., Padungtod, P. 2006. Seroprevalence and risk factors associated with leptospirosis in dogs. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. 37(1):148–153.
- Miraglia, F., De Moraes, Z. M., Melville, P. A., Dias, R. A., Vasconcellos, S. A. 2009. Emjnh medium with 5-fluorouracil and nalidixic acid associated with serial dilution technique used to recover leptospira spp from experimentally contaminated bovine semen. *Brazilian Journal of Microbiology*. 40(1):189–193.
- Mishima, N., Tabuchi, K., Kuroda, T., Nakatani, I., Lamaningao, P., Miyake, M., Kanda, S., Koizumi, N., Nishiyama, T. 2013. The first case in Japan of severe human leptospirosis imported from Vietnam. *Tropical Medicine and Health*. 41(4):171–176.
- Mohammed, H., Nozha, C., Hakim, K., Abdelaziz, F. 2011. LEPTOSPIRA: Morphology, Classification and Pathogenesis. *Journal of Bacteriology & Parasitology*. 02(06):6–9.

- Mulyani, G. T., Hartati, S., Santoso, Y., Kurnia, K., Pramono, A. B., Wirapratwi, D. K. 2017. Kejadian Leptospirosis pada Anjing di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Veteriner*. 18(3):403-408.
- Mulyani, G. T., Hartati, S., Wuryastuty, H., Tjahajati, I., Yuriadi, Y., Widiyono, I., Yanuartono, Y., Purnamaningsih, H., Indarjulianto, S., Raharjo, S., *et al.*, 2019. Identifikasi Serovar Penyebab Leptospirosis pada Anjing di Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. 37(2):227-231.
- Musso, D. and La Scola, B. 2013. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 46(4):245–252.
- Mutawadiah, Puja I. K. P., Dharmawan N. S. 2015. Seroprevalensi Leptospirosis pada Anjing Kintamani di Bali Seroprevalence of Leptospirosis in Kintamani Dog in Bali. *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan*. 3(2):41–44.
- Prasetyo, D. and Pamungkas, K. N. I. N. 2018. Suspect leptospirosis pada anjing lokal mix. *ARSHI Veterinary Letters*. 2(4):75-76.
- Pui, C. F., Bilung, L. M., Apun, K., Su'ut, L. 2017. Diversity of *Leptospira* spp. in Rats and Environment from Urban Areas of Sarawak, Malaysia. *Journal of Tropical Medicine*. 2017:1-8.
- Putro, D. B. W., Ristiyanto, R., Mulyono, A., Handayani, F. D., Joharina, A. S. 2016. Deteksi *Leptospira* Patogenik pada Urin Anjing dengan Polymerase Chain Reaction (PCR) di Kota Semarang. *Vektora: Jurnal Vektor dan Reservoir Penyakit*. 8(1):7–12.
- Ramadhani, T. dan Yunianto, B. 2012. Reservoir dan Kasus Leptospirosis di Wilayah Kejadian Luar Biasa. *Kesmas: National Public Health Journal*. 7(4):162-168.
- Rosa, M. I., dos Reis, M. F., Simon, C., Dondossola, E., Alexandre, M. C., Colonetti, T., Meller, F. O. 2017. ELISA IgM para diagnóstico de leptospirose: Revisão sistemática e meta-análise. *Ciencia e Saude Coletiva*. 22(12):4001–4012.
- Saito, M., Villanueva, S. Y. A. M., Chakraborty, A., Miyahara, S., Segawa, T., Asoh, T., Ozuru, R., Gloriani, N. G., Yanagihara, Y., Yoshida, S. I. 2013. Comparative analysis of *Leptospira* strains isolated from environmental soil and water in the Philippines and Japan. *Applied and Environmental Microbiology*. 79(2):601–609.
- Samrot, A. V., Sean, T. C, Bhavya, K. S., Sahithya, C. S., Chandrasekaran, S., Palanisamy, R., Robinson, E. R., Subbiah, S. K., Mok, P. L. 2021. Leptospiral infection, pathogenesis and its diagnosis—a review. *Pathogens*. 10(2):1–30.
- dos Santos, L. F., Guimarães, M. F., de Souza, G. O., da Silva, I. W. G., Santos, J. R., Azevedo, S. S., Labruna, M. B., Heinemann, MB., Horta, M. C. 2017. Seroepidemiological survey on *Leptospira* spp. infection in wild and domestic mammals in two distinct areas of the semi-arid region of northeastern Brazil. *Tropical Animal Health and Production*. 49(8):1715–1722.
- Schuller, S., Francey, T., Hartmann, K., Hugonnard, M., Kohn, B., Nally, J. E., Sykes, J. 2015. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*. 56(3):159–179.
- Shafighi, T., Zahraei, Salehi, T., Abdollahpour, G., Asadpour, L.,

- Akbarein, H., Salehzadeh, A. 2014. Molecular detection of *Leptospira* spp. in the urine of cattle in northern Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 15(4):402–405.
- Sumanth, K. R., Pillai, R. M., Mukhopadhyay, H. K., Antony, P. X., Thanislass, J., Vivek, S. V. M., Vishnupriya S. 2013. Seroepidemiology of canine leptospirosis by iELISA and MAT. *Veterinary World*. 6(11):926–930.
- Sykes, J. E., Hartmann, K., Lunn, K. F., Moore, G. E., Stoddard, R. A., Goldstein, R. E. 2011. 2010 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Leptospirosis: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Prevention. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 25(1):1–13.
- Thibeaux, R., Geroult, S., Benezech, C., Chabaud, S., Soupé-Gilbert, M. E., Girault, D., Bierque, E., Goarant, C. 2017. Seeking the environmental source of Leptospirosis reveals durable bacterial viability in river soils. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 11(2):1–14.
- Townsend, W. M., Stiles, J., Krohne, S. G. 2006. Leptospirosis and panuveitis in a dog. *Veterinary Ophthalmology*. 9(3):169–173.
- Villumsen, S., Pedersen, R., Krogfelt, K. A., Jensen, J. S. 2010. Expanding the diagnostic use of PCR in leptospirosis: Improved method for DNA extraction from blood cultures. *PLoS ONE*. 5(8):1-7.
- Ward, M. P., Guptill, L. F., Prah, A., Wu, C. C. 2004. Serovar-specific prevalence and risk factors for leptospirosis among dogs: 90 Cases (1997-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 224(12):1958–1963.
- Winaya, I. B. O., Berata, I. K., Kardena, I. M., Adi, A. A. M., Rompis, A. L. T. 2018. Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Anjing Terduga Leptospirosis di Kota Denpasar. *Jurnal Veteriner*. 19(2):298-302.