

**SKRIPSI :**

**MUHAIMIN**

**SURVEY SEROLOGIS TITER ANTIBODY  
TERHADAP LEPTOSPIRA PADA KERA JAWA  
DI KEBUN BINATANG SURABAYA**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1984**

SURVEY SEROLOGIS TITER ANTIBODY TERHADAP LEPTOSPIRA  
PADA KERA JAWA DI KEBUN BINATANG  
SURABAYA

SKRIPSI

DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS  
AIRLANGGA UNTUK MEMENUHI SEBAGIAN SYARAT GUNA  
MEMPEROLEH GELAR DOKTER HEWAN

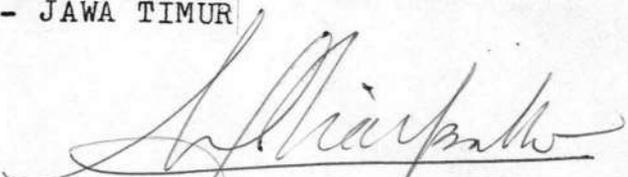
OLEH

M U H A I M I N

SURABAYA - JAWA TIMUR

  
( DRH. R. SOEBARCAH )

Pembimbing Utama

  
( DRH. MIDIAN NAIBAHU )

Pembimbing Kedua

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

1984

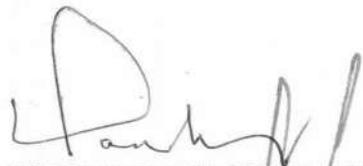
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik skope maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar DOKTER HEWAN.

Ditetapkan di Surabaya, tanggal :

Panitia Penguji :



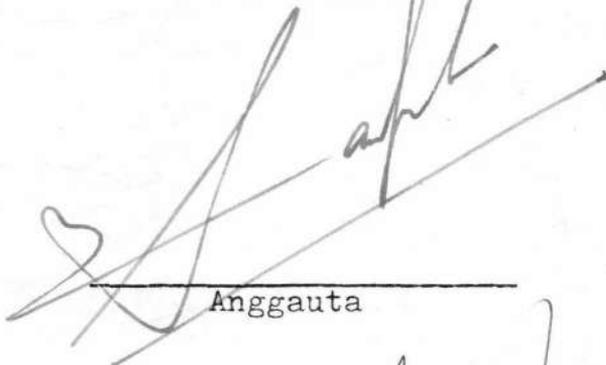
Ketua



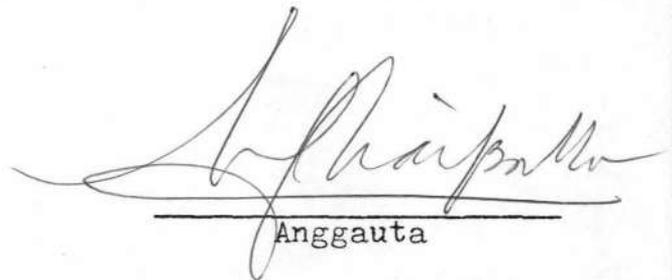
Sekretaris



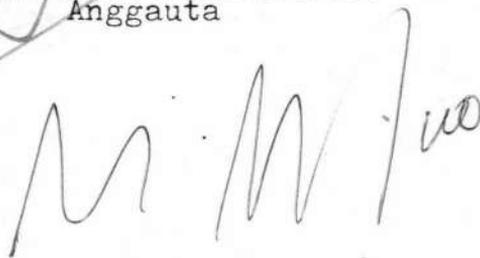
Anggauta



Anggauta



Anggauta



Anggauta



Anggauta

UCAPAN TERIMA KASIH

Skripsi ini disusun berdasarkan penelitian yang merupakan salah satu syarat untuk mahasiswa tingkat akhir Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DRH. R.-Soebarkah ( Dosen Luar Biasa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga ) dan DRH. M.Naibaho ( Kepala Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga ) yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk dalam penelitian ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Direktur Kebun Binatang Surabaya yang telah memberikan fasilitas pada penelitian ini, juga kepada DRH. Liang Kaspe ( Bagian Klinik dan Karantina Kebun Binatang Surabaya ) yang telah membantu pada penelitian ini.

Kepada Lembaga Bio Farma Bandung, penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan antigen yang telah diberikan.

Kepada semua pihak yang ikut membantu pelaksanaan penelitian ini, penulis mengucapkan terima kasih.

Penulis.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH .....	iii
DAFTAR ISI .....	iv
DAFTAR TABEL DAN LAMPIRAN .....	v
BAB. I. PENDAHULUAN .....	1
BAB. II. TINJAUAN KEPUSTAKAAN .....	5
1. Sejarah Penyakit .....	5
2. Morphology dan Sifat Pewarnaan .....	6
3. Sifat Biakan .....	7
4. Daya Tahan .....	8
5. Struktur Antigenik dan Toxin .....	10
6. Pathogenesis dan Gejala Klinis .....	10
7. Diagnosa Laboratoris .....	11
8. Kekebalan .....	18
9. Pengobatan .....	18
BAB. III. BAHAN DAN CARA KERJA .....	20
BAB. IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	24
BAB. V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	27
BAB. VI. RINGKASAN .....	30
DAFTAR KEPUSTAKAAN .....	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel hasil pemeriksaan serologis terhadap sera kera Jawa di Kebun Binatang Surabaya .....	24

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Cara membuat media untuk pemupukan <i>Leptospira</i> .....	36

## BABI. I

## PENDAHULUAN

Indonesia termasuk negara yang mempunyai berbagai jenis fauna yang perlu dijaga kelestariannya. Salah satu hewan tersebut adalah kera Jawa ( *Macacus fascicularis* ). Binatang ini mempunyai ciri-ciri hidup berkelompok besar. Jantan yang terkuat menjadi pemimpin kelompok, beranak 1 ekor dan lama kebuntingan 5 bulan. Hidupnya di daerah terpencil dan hutan bakau. Makanannya buah-buahan dan daun juga siput, berkantong pipih untuk menyimpan makanan. Umurnya dapat mencapai sampai 30 tahun.

Kebun Binatang Surabaya adalah salah satu obyek wisata untuk melihat berbagai kekayaan dan keindahan fauna yang terdapat di Indonesia. Disamping itu juga Kebun Binatang Surabaya dapat digunakan untuk penelitian yang perlu terus dikembangkan. Dari jenis hewan yang ada, kera Jawa merupakan salah satu hewan yang sering digunakan untuk berbagai macam keperluan penelitian. Oleh sebab itu Kebun Binatang Surabaya perlu meningkatkan usaha pengamanan hewan-hewan tersebut dari berbagai macam penyakit terutama yang bersifat zoonosa.

Salah satu penyakit yang bersifat zoonosa adalah leptospirosis yang disebabkan oleh kuman *Leptospira*. Pada manusia leptospirosis tidak tergantung umur atau seks ( 10 ). Penyakit ini juga dapat menyerang kera ( 16 ).

Banyak type *Leptospira* yang patogen dan banyak cara untuk membedakan dengan uji serologis. Meskipun morfologi, sifat biologis, sifat perbiakannya, epidemiologi dan patogenesa dari masing-masing *Leptospira* sama, akan tetapi hal yang perlu diperhatikan adalah type *Leptospira* mana yang menyerang, atau bagaimana kondisi lingkungannya ( 2 ).

Banyak hewan liar dan peliharaan yang dapat bertindak sebagai sumber penularan dari *Leptospira*. Hewan-hewan tersebut misalnya: tikus putih dan tikus besar, babi, sapi, kuda, mamalia lain dan berbagai jenis burung. Hewan yang menjadi sumber penularan, tidak memperlihatkan tanda-tanda sakit ( sub klinis ) dan mengeluarkan *Leptospira* dari urinenya yang dapat bervariasi dari beberapa minggu sampai beberapa tahun. Manusia jarang sekali bertindak sebagai carrier. Manusia dapat terinfeksi baik secara kontak langsung dengan individu terserang ( carrier ) ataupun yang lebih sering lagi kontak dengan air atau lumpur yang terkontaminasi oleh urine penderita, sehingga leptospirosis ada hubungannya dengan pekerjaan misalnya: petani, peternak pengairan atau pekerjaan tambang.

*Leptospira* ada juga yang bersifat saprofitik, hidup di air yang jernih atau lumpur, sehingga dapat ditemui pada waktu-waktu tertentu dalam air minum di kota-kota besar. Secara morfologi *Leptospira* saprofitik tidak dapat dibedakan dengan *Leptospira* patogen, tetapi *Lepto*

spira yang bersifat saprofitik tidak menyebabkan penyakit ( 2 , 15 ).

*Leptospira canicola* dan *Leptospira ichterohaemorrhagiae* paling sering menginfeksi anjing. Antibody dari serotype *Leptospira pomona* dan *Leptospira sejroe* telah juga ditemukan dalam serum anjing, yang menderita penyakit Weil( 10 ). *Leptospira* pada darah bersifat parasitik yang dapat menyebabkan penyakit yang bersifat fatal. Pernah dilaporkan yaitu kejadian leptospirosis yang menyebabkan kematian 23 ekor chimpanzee dari 24 ekor yang terinfeksi. Pada stadium awal penyakit terlihat gejala diarehae kemudian diikuti tenesmus yang berat sehingga menyebabkan kelemahan yang pada akhirnya dapat menyerang syaraf pusat dan pada stadium tersebut, ditandai dengan berteriak-teriak seperti melihat musuh dihadapannya ( 23 ).

Dari penelitian kolam-kolam yang terdapat di Kebun Binatang Surabaya, termasuk kolam di kandang kera Jawa, setelah diisolasi ternyata semua positif *Leptospira* ( 22 ).

Survey serologis titer antibody terhadap *Leptospira* pada kera Jawa di Kebun Binatang Surabaya, adalah untuk mengetahui apakah hewan tersebut pernah terinfeksi oleh *Leptospira*. Disamping itu juga untuk mengetahui serotype *Leptospira* yang menginfeksi. Dari berbagai serotype yang terdapat di Indonesia, pada penelitian ini digunakan 9 serotype *Leptospira* hidup ( sebagai antigenya ). Dari 9 serotype *Leptospira* tersebut adalah: *L. ca*

nicola, L. pomona, L. hebdomadis, L. Hardjo, L. grippotyphosa, L. hyos, L. ichterohaemorrhagiae, L. australis, dan L. sejroe. Untuk bahan penelitian ini diambil darah kera Jawa sebanyak 30 contoh.

Survey serologis ini menggunakan cara Agglutination Lysis Test. Pada pemeriksaan, bila antigen Leptospira dicampurkan dengan serum yang homolog, mula-mula terjadi aglutinasi kemudian terjadi lysis dari pada kuman tersebut. Reaksi aglutinasi dan lysisnya Leptospira, dapat diamati dengan menggunakan mikroskop medan gelap ( 18 , 21 ).

Pada pengenceran 1 : 100 atau lebih dinyatakan positif, yang berarti hewan tersebut pada saat itu atau pada saat yang lampau pernah terinfeksi oleh Leptospira ( 11 , 12 , 18 ).

## BAB. II

## TINJAUAN KEPUSTAKAAN

## 1. Sejarah Penyakit

Leptospirosis adalah penyakit yang dapat menyerang binatang dan manusia, yang disebabkan oleh kuman *Leptospira*. Landouzy ( 1883 ), Weil ( 1886 ) dan Vasiliyev ( 1888 ) menyatakan syndroma tersebut Infectious Joudice ( 28 ). ①

Demam Spirochaeta ( Spirochaetal joundice atau Weil disease ) merupakan suatu penyakit fibris yang dihubungkan dengan joundice, terutama adanya kelainan ginjal dan liennya. Inada et al. ( 1915 ) telah mengisolasi organisme penyebabnya dan mendemonstrasikan vektor alami ( tikus ). Pada marmot dan tikus yang diinokulasi dengan *Leptospira* dapat dipelajari sifat pathogenesanya dari stadium kestadiumnya ( 5 ). Inada et al. ( 1916 ) melaporkan bahwa penyakit Weil disebabkan oleh infeksi Spirochaetal ichterohaemorrhagiae, organisme ini dapat diisolasi tikus dan merupakan sumber penularan.

⑤ Lukes ( 1924 ) menemukan Spirochaetes dari 7 di antara 8 ginjal anjing yang menderita gastro entritis dan stomatitis ulcrativa. Dunkin ( 1925 ), Uhlenhut dan Frome ( 1930 ) melaporkan adanya infeksi akut oleh *Leptospira ichterohaemorrhagiae* pada rubah liar ( 22 ). Wilbert dan Dalorme ( 1927 ) ⑥ melaporkan bahwa kasus epidemi

yang bersifat akut dan menyebabkan kematian 23 diantara 24 chimpanzee di Kebun Binatang Guinea Perancis, disebabkan oleh *Leptospira* ( 1 ).

Alstone dan Broom ( 1958 ) melaporkan bahwa *Leptospira* dapat ditularkan dari hewan kepada manusia. Pada beberapa kasus disebabkan oleh tikus sebagai hewan carrier. Sapi dan rodentia dapat bersifat carrier terhadap *Leptospira grippotyphosa*, anjing terhadap *Leptospira ca nicola* dan babi terhadap *Leptospira pomona* ( 24 ). ✓

Schaudin dan Hoffman ( 1925 ) mengklasifikasikan *Leptospira* kedalam order; Spirochaeta, family; Treponema tidae. Kemudian Bobudieri ( 1961 ) menggolongkan kedalam genus *Leptospira*, yang dibagi menjadi 2 species yaitu : *Leptospira inter organ* ( yang bersifat pathogen ) dan *Leptospira biflexa* ( bersifat tidak pathogen ). Selanjutnya pada tahun 1965 species *inter organ* dibagi menjadi 18 serogroup dan 124 serotype ( 18 ).

## 2. Morphology dan Sifat Pewarnaan

*Leptospira* mempunyai ciri khas mengenai bentuk dan sifat pewarnaannya. *Leptospira* mempunyai bentuk spiral, tipis, flexible, panjang 6 - 20 mikron, lebar 0,1 - 0,2 mikron. Ujungnya membengkok seperti kait. Pergerakannya sangat cepat, maju atau mundur secara rotasi aktif, tetapi tidak mempunyai flagella. Secara mikroskop elektron, terlihat berbentuk filament tipis. Kuman ini tidak mudah diwarnai.

Dengan pewarnaan anilin dan juga dengan pewarnaan impregnasi perak ( metode Levaditi dan Fountana ) hasilnya kurang memuaskan, akan tetapi pewarnaan impregnasi perak dari Warthin starry yang dimodifikasi oleh Faulkner dan Lillies dapat menunjukkan *Leptospira* yang terdapat pada jaringan terinfeksi ( 2 , 4 , 8 , 15 ).

### 3. Sifat Biakan

*Leptospira* tumbuh baik pada temperatur 28 - 30°C dan sifat pertumbuhannya aerobik, dalam kaldu pepton yang mengandung 10% serum kelinci. Pada media setengah padat ( Fletcher ) yang mengandung 10% serum kelinci tumbuh koloni-koloni yang berdiameter 1 - 3 milimeter dalam waktu 6 - 10 hari. Penggunaan media semi solid selain untuk melihat pertumbuhan *Leptospira*, juga sebagai stock kultur, serta untuk mengetahui adanya pergerakan kuman ( 14 , 18 , 27 ).

Untuk merangsang pertumbuhan *Leptospira* dapat ditambahkan sedikit haemoglobin, dan pertumbuhan maksimum terjadi pada hari ke 15 setelah pengeraman pada temperatur 30°C - 32°C.

*Leptospira* dapat tumbuh pada berbagai media cair. Diantara medium cair yang sering digunakan adalah medium Korthof, Vervoort, atau Stuart. Media yang baik mengandung serum kelinci ( 8 - 10% ), terutama untuk pertumbuhan *Leptospira* yang pathogen ( 2 ).

*Leptospira* juga dapat tumbuh pada cairan chorio-

alantois telur ayam bertunas yang berumur 9 - 10 hari, pemeriksaan dilakukan pada saat embryo terlihat bergerak lambat ( 14 , 24 , 25 ).

Penambahan sedikit emulsi hati segar marmot muda yang sehat, ternyata dapat mempertahankan keganasan Leptospira didalam kultur. Didalam jaringan terinfeksi, Leptospira tahan hidup selama 2 minggu, bila disimpan pada temperatur  $2,8^{\circ}\text{C}$  sampai  $-2,8^{\circ}\text{C}$ . Didalam susu murni Leptospira hanya tahan beberapa jam, tetapi bila susu diencerkan menjadi 5%, maka daya tahan hidupnya dapat mencapai 2 bulan ( 18 , 20 ). Faktor yang sangat menentukan bagi kelangsungan hidup Leptospira adalah suasana asam dan basa ( pH ). Untuk pertumbuhan yang maksimal, Leptospira membutuhkan pH 7 - 7,4. Leptospira akan terhambat pertumbuhannya pada pH 6,2 ( 6 ).

#### 4. Daya Tahan

Daya tahan hidup Leptospira sangat tergantung pada lingkungan antara lain: kekeringan, perubahan pH, keseimbangan elektrolit, makanan, adanya sinar terutama radiasi ultra violet dan infra merah, adanya logam berat, serta perubahan temperatur dan kelembaban udara.

Beberapa ahli telah membuktikan adanya hubungan antara faktor-faktor tersebut dan pengaruhnya terhadap daya tahan hidup Leptospira. Leptospira tidak tahan terhadap panas maupun kekeringan, dan air yang agak alkalis ( pH 7 - 8 ) dapat menunjang kehidupan Leptospira.

Sedangkan dalam feses hewan, *Leptospira* hanya tahan hidup selama 12 jam. (Marchant & Paehen, 1991)

Smith dan Self (1955) mengadakan percobaan bahwa *Leptospira* bisa tahan hidup didalam tanah yang lembab selama 2 minggu bahkan kadang-kadang lebih lama. Tetapi pada tanah yang kering *Leptospira* bisa tahan hidup hanya selama 2 - 3 jam, sedangkan urine dengan suasana pH rendah (asam) dapat mematikan *Leptospira*.

Penggunaan thiosulfat 5 - 10<sup>0</sup>/oo dalam fosfat buffer, dapat memberikan suasana yang baik untuk kehidupan *Leptospira* (18, 20, 24). (Marchant and Paehen 1991; Saltyk, 1976; Cottel, 1978)

Okasaki dan Ringen juga mengadakan percobaan hubungan antara temperatur dan perubahan pH dalam pengaruhnya terhadap daya tahan hidup *Leptospira*. Dalam percobaan terlihat bahwa pada pH 6,2 dengan temperatur 7 - 10<sup>0</sup>C serta pH 8,4 dengan temperatur 20 - 26<sup>0</sup>C, ternyata *Leptospira* masih tahan hidup, sedangkan pada temperatur yang lebih rendah dari 7<sup>0</sup>C dan lebih tinggi dari 26<sup>0</sup>C, akan menghambat pertumbuhan *Leptospira*. (Rattan et al (1981))

Pada daerah - daerah yang mempunyai curah hujan yang tinggi sering terjadi leptospirosis. Di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, *Leptospira* masih dapat hidup dalam darah atau hepar selama 2 minggu bila disimpan pada temperatur 2 - 6<sup>0</sup>C (18). (Lulu, 1981)

## 5. Struktur Antigenik dan Toxin

Genus *Leptospira* dibagi menjadi beberapa serotype yang mana beberapa peneliti mengklasifikasikan species tersebut secara nyata. Rothstein dan Hiatt ( 1956 ) telah mempelajari tentang *Leptospira*, yang mana menurut mereka dibagi menjadi 2 komponen antigen yang besar. Masing-masing adalah : 1. Antigen permukaan yang merupakan type antigen yang spesifik. 2. Somatik antigen yang merupakan genus spesifik. Antigen permukaan tersebut terdiri dari protein polysaccharide complex, sedang somatik antigen terdiri dari lipopolysaccharide. Identifikasi dengan menggunakan cara agglutination lysis test, yaitu dengan menggunakan *Leptospira* hidup sebagai antigen dan sera yang sudah diketahui typenya, dapat digunakan untuk mengetahui beberapa serotype *Leptospira* ( 24 ).

Disamping itu *Leptospira* juga dapat menghasilkan eksotoxin dalam sirkulasi darah yaitu haemolysine, yang dapat melysiskan erythrocyte. *Leptospira* juga menghasilkan asam glutamat, yang berasal dari metabolisme kuman ( 18 ).

## 6. Pathogenesis dan Gejala Klinis

*Leptospira* dapat menyerang hampir pada semua hewan peliharaan maupun manusia. Infeksi biasanya terjadi melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh *Leptospira*, tetapi dapat juga melalui selaput mukosa yang utuh atau melalui luka pada kulit. Setelah masa in-

kubasi 1 - 2 minggu, timbul demam yang waktunya dapat bervariasi, dimana *Leptospira* tersebut terdapat di dalam darah ( leptospiremia ) ( 3 , 15 , 17 , 26 ).

Kemudian *Leptospira* tinggal di dalam jaringan parenkhimatosa terutama hati dan ginjal, yang menimbulkan perdarahan, nekrosis dan kemudian menyebabkan disfungsi jaringan tersebut. Susunan syaraf pusat dapat juga terinfeksi dan menyebabkan meningitis. Sering juga menyerang episklera mata, selaput lendir mata menjadi kuning dan keruh. Pada suatu daerah, infeksi *Leptospira* dapat didominasi oleh satu serotype *Leptospira*. Di Scotlandia infeksi pada sapi paling banyak ( 70 % ), disebabkan oleh *Leptospira hebdomadis* ( 3 , 8 ).

Penyakit yang ditimbulkan dapat ringan atau subklinis. Hepatitis terutama terjadi pada penderita leptospirosis, kejadian ini dihubungkan dengan kadar creatine phosphokynase serum. Infeksi pada ginjal bersifat kronis dan dapat mengakibatkan pengeluaran *Leptospira* dalam jumlah yang besar di dalam urine, dan merupakan sumber penularan pada manusia. Urine manusia juga dapat mengandung *Leptospira* pada minggu ke dua dan minggu ke tiga setelah masa inkubasi. Antibody yang ditimbulkan, pada manusia dan hewan karena infeksi *Leptospira* adalah khas ( specific ) ( 14 , 15 ).

## 7. Diagnosa Laboratoris

### a. Pemeriksaan secara mikroskopis

Bila urine atau sediment dari urine ( yang telah dicentrifuge ) diperiksa dibawah mikroskop medan gelap, maka *Leptospira* tampak bergerak aktif. Selain itu dapat pula dilakukan pemeriksaan darah yang diambil pada masa inkubasi ( 14 , 20 , 24 ).

Darah penderita diambil untuk pemeriksaan, dilakukan pada stadium leptospiremia yaitu hari kelima sampai hari ketujuh setelah tampak gejala klinis berupa demam. Sedangkan dalam urine, *Leptospira* dapat ditemukan pada hari kesepuluh sampai hari keduapuluh setelah tampak gejala klinis. *Leptospira* dalam urine sapi dewasa dapat tahan hidup selama 3 - 4 bulan, tetapi dalam urine anak sapi *Leptospira* hanya tahan hidup selama 3 minggu. Selain urine dan darah, maka untuk bahan pemeriksaan mikroskopis dapat juga diambil dari ginjal dan mata fetus serta cairan cerebro spinal ( 7 , 9 , 18 ).

Nervic dan L.A. Garrett menggunakan diuretika *Furosemide* untuk mendapatkan contoh urine dari sapi dewasa dan anak sapi. Dosis yang diberikan pada sapi dewasa adalah 0,8 mg/Kg berat badan dan pada anak sapi 0,5 mg/Kg berat badan dengan aplikasi intra vena. Pengambilan urine pada sapi dewasa tahap I dilakukan pada menit ke 19 setelah pemberian diuretika dan tahap ke II pada menit ke 17 setelah pengambilan pertama. Pada anak sapi pengambilan I pada menit ke 12 setelah pemberian diuretika, kemudian pengambilan II pada menit ke 10 setelah pengambilan tahap pertama ( 18 ).

#### b. Pemupukan

Darah segar yang diambil, dapat dipupuk dalam serum encer atau perbenihan setengah padat dari Fletcher's medium atau pada media kaldu dari Stuart, masing-masing mengandung 10% serum kelinci ( 14 ).

Korthof medium adalah media yang sering diguna - kan untuk pemupukan *Leptospira*, yang sekaligus merupakan media untuk produksi antigen *Leptospira* ( 21 ).

Selain Korthof medium, juga dapat digunakan media lain seperti: Noguchi's medium untuk melihat pertum - buhan *Leptospira*, Fletcher's liquid medium untuk perse - diaan inokulasi pada hewan percobaan, atau digunakan Fletcher's semi solid medium untuk inokulasi pada hewan percobaan dan stock kultur. Pada media semi solid akan tumbuh koloni-koloni *Leptospira* yang berbentuk bulat de - ngan diameter 1 - 3 milimeter ( 18 ).

#### c. Inokulasi pada hewan percobaan

Dengan dosis tertentu, suspensi kuman yang dapat berupa urine, darah atau yang berasal dari pupukan disun - tikkan intra peritoneal. Pada anak ayam dan hamster di - suntikkan 0,25 - 0,5 ml, sedangkan pada marmot dan tikus besar disuntikkan 0,5 - 2 ml. Setelah 3 sampai 10 menit, darah diambil secara steril dari jantung dan dimasukkan kedalam medium Korthof. Pada hewan yang mati, terdapat lesi-lesi berdarah dan *Leptospira* dapat ditemukan dalam berbagai organ ( 4 , 14 , 18 , 20 , 24 ).

Larson, mengatakan bahwa jenis tikus *Cricetus*, tikus putih, marmot, hamster dan anak ayam peka terhadap *Leptospira canicola* dan *Leptospira ichterohaemorrhagiae*.

Yang sering digunakan sebagai hewan percobaan adalah marmot dan hamster, sebab tikus putih dan tikus besar merupakan sumber penyebaran utama dari *Leptospira* secara alami ( 18 , 20 , 24 ).

Untuk memurnikan pupukan *Leptospira* dari kontaminan, beberapa mili liter pupukan disuntikkan secara intra peritoneal pada marmot, setelah 10 - 30 menit, darah jantung diambil dan dimasukkan kedalam medium Korthof. Dari pupukan asal darah marmot dapat diperbanyak lagi dengan memupuk dalam medium baru. Pupukan dieramkan dalam inkubator pada temperatur  $37^{\circ}\text{C}$ , selama hari pertama, kemudian dapat disimpan pada temperatur  $30^{\circ}\text{C}$  pada hari berikutnya ( 21 ).

#### d. Pemeriksaan serologis

Secara umum pemeriksaan serologis bertujuan untuk mengetahui antibody terhadap *Leptospira*. Ditemukannya antibody tersebut, membuktikan bahwa hewan itu pernah terinfeksi oleh *Leptospira*.

Banyak cara yang dapat dipergunakan pada pemeriksaan serologis, diantaranya adalah: Microscopic Agglutination Test ( Agglutination Lysis Test ), Complement Fixation Test ( 2 ).

### Agglutination Lysis Test

Cara ini dapat menggunakan antigen hidup atau dengan menggunakan antigen yang diinaktivkan guna menunjukkan adanya antibody. Pada pemeriksaan, bila antigen *Leptospira* dicampur dengan serum yang homolog, maka mula-mula terjadi aglutinasi, kemudian diikuti dengan lysis. Reaksi aglutinasi lysis ini dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop medan gelap. Bila pada pengenceran serum 1 : 100 atau lebih terjadi lysis dan dinyatakan positif berarti hewan tersebut, pada saat itu atau pada saat yang lampau pernah terinfeksi oleh *Leptospira* ( 11, 12 , 18 ).

### Complement Fixation Test

Pada prinsipnya cara ini menggunakan serum yang sudah diketahui ( sudah ditentukan typenya ). Cara ini tidak digunakan untuk mengidentifikasi dari beberapa macam serotype *Leptospira*.

Banyak serotype *Leptospira* yang telah digunakan untuk reaksi ini satu diantaranya adalah yang dikemukakan oleh Terzin ( 1956 ). Secara praktis cara ini tidak banyak digunakan, karena antigen *Leptospira* yang digunakan harus benar-benar spesifik ( 2 ).

Cara kerja Complement Fixation Test ( C. F. T ).

Kultur *Leptospira* dicentrifuge dengan kecepatan tinggi, pada sediment yang dihasilkan ditambahkan PZ, kemudian dipanaskan pada temperatur 100°C selama 10 menit

dalam waterbath. Menurut Terzin, 0,1 ml digunakan sebagai volume unit untuk macam-macam reagen.

Ketentuan untuk masing-masing unit adalah sebagai berikut: 1 unit antibody + 1 unit antigen + 2 unit complement, kemudian campuran tersebut diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 90 menit. Setelah waktu tersebut, ditambahkan haemolytic system sebanyak 2 unit. Dan dimasukkan dalam thermostart selama 30 menit, serta digoyang-goyangkan selama 10 menit. Bila reaksi positif maka pada haemolytic system sebagai kontrol tidak terjadi lysis.

#### Agglutinin Absorbtion Test

Cara ini disamping untuk tujuan diagnosa, juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi strain *Leptospira* baru ( 2 ).

#### Cara kerja Agglutinin Absorbtion Test

Diperlukan sebanyak 100 ml pupukan dari strain *Leptospira* yang akan diidentifikasi ( A ). Kemudian dibandingkan dengan strain *Leptospira* yang sudah diketahui ( B ). Dari kedua strain *Leptospira* tersebut, diambil anti seranya dan diencerkan dengan NaCl Physiologis ( PZ ) yaitu dengan titer 1 : 3000 - 1 : 10.000.

Dari kedua pupukan *Leptospira* tersebut, diinaktivkan dengan 0,5 - 1<sup>o</sup>/oo formalin.

Strai *Leptospira* ( A ) dicampur dengan serum b, dan strain *Leptospira* ( B ) dicampur pada serum a, yaitu

masing-masing dengan perbandingan 0,1 ml serum + 0,9 ml suspensi *Leptospira* dan direaksikan dalam plat aglutinasi. Pada 2 lubang plat aglutinasi yang lain, diisikan kedua immunsera ( a , b ) dan diencerkan dengan 0,5% formalin dengan perbandingan 1 : 10. Keempat lubang plat aglutinasi tersebut diinkubasi pada temperatur 37°C selama 12 jam. Kemudian dicentrifuge dan supernatannya digunakan satu serial test aglutinasi terhadap strain *Leptospira* yang masih meragukan tersebut. Jika hasil positif, maka serum yang terabsorpsi tidak mengandung lebih dari 1% antibody initialnya.

Untuk strain-strain pada reaksi absorpsi hasilnya adalah sebagai berikut:

<u>Serum</u>	<u>Strain</u>	I		II		III	
		A	B	A	B	A	B
a		-	-	+	-	+	-
b		-	-	-	+	-	-

Pada kasus pertama ( I ), dua buah immun sera yang terabsorpsi tidak mengaglutinasi 2 strain yang homolog, hal ini berarti 2 strain *Leptospira* tersebut secara serologis adalah sama, baik serotyponya atau subserotipnya. Pada kasus kedua ( II ), menunjukkan bahwa 2 strain *Leptospira* tersebut secara serologis adalah berbeda, baik serotyponya maupun subserotipnya. Pada kasus yang ketiga ( III ), satu sera tidak lagi mengaglutinasi strain yang homolog dan satu lainnya mengaglutinasi, ini menunjukkan bahwa 2 strain *Leptospira* tersebut mempunyai serotype sama tetapi berbeda subserotipnya.

## 8. Kekebalan

Antibody merupakan suatu protein, yang terdiri dari immunoglobulin yang dihasilkan karena stimulasi antigen ( 13 ).

Serum pasien yang sudah sembuh dari penyakit lep tospirosis, mengandung protektip antibody yang terdapat pada serum sampai beberapa tahun ( 15 , 19 ).

Penurunan jumlah organisme 7 sampai 10 hari da lam darah setelah terjadinya infeksi, akan menunjukkan perkembangan antibody yang spesifik. Vaksinasi dapat di berikan kepada manusia dan hewan, yaitu menggunakan vak sin inaktif. Pemberian vaksin aktif sebaiknya tidak dila kukan karena reaksinya cenderung ganas ( 5 ).

## 9. Pengobatan

Pada infeksi dini, antibiotika ( penicillin, tet racycline dan streptomycine ) mempunyai efek pengobatan yang cukup baik, tetapi tidak untuk membasmi kuman. Bila pengobatan dilakukan pada hari keempat setelah sakit, ma ka penyakit masih tetap tidak berubah ( 14 , 15 ).

Pada hewan yang sakit sebaiknya secepat mungkin diobati untuk mencegah terjadinya kerusakan pada hati ju ga pada ginjalnya. Beberapa antibiotika dapat dipakai un tuk pengobatan terhadap leptospirosis, seperti: strepto mycine 10 mg/kg BB 2 kali sehari selama 3 hari dengan ap likasi intra muskuler. Dapat juga digunakan oxytetracyc-

line atau chlortetracycline 6 mg/kg BB selama 5 hari dan aplikasinya secara per oral ( 3 , 18 ).

Untuk pengobatan leptospirosis pada beberapa hewan, dapat digunakan streptomycyne karena mempunyai efek yang cukup baik, dengan dosis 25 mg/kg BB streptomycine secara kontinyu dapat membunuh *Leptospira* melalui urine-nya setelah 2 jam waktu pemberian ( 26 ).

Selain itu dapat juga diberikan teramycine atau aureomycine 6 mg/kg BB selama 3 hari dengan aplikasi intra muskuler.

Sprad Brow dan Scawright ( 1963 ) mengatakan bahwa 1 gram streptomycine yang diberikan selama stadium akut, dapat mencegah infeksi pada ginjal ( 18 ).

BAB. III

BAHAN DAN CARA KERJA

I. Bahan

1. Kera Jawa

Kera Jawa yang diambil berasal dari kandang kera di Kebun Binatang Surabaya. Sebanyak kurang lebih 54 ekor kera yang ada, diambil sejumlah 30 ekor untuk penelitian.

2. Sera

Untuk mendapatkan sera adalah dengan cara mengambil darah kera melalui vena radialis. Pengambilan dilakukan secara steril dari kera Jawa Kebun Binatang Surabaya, sebanyak 30 ekor contoh.

Tiap-tiap kera diambil 5 ml darah, dan tiap darah ditampung dalam tabung steril, lalu dimasukkan ke dalam termos kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Darah tersebut kemudian dicentrifuge, diambil serumnya kemudian dimasukkan ke dalam tabung steril. Tiap tabung diberi etiket untuk menunjukkan asal serumnya.

3. Antigen *Leptospira*

Sebanyak 9 serotype antigen *Leptospira* hidup berasal dari Bio Farma Bandung, masing-masing adalah *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. Hardjo*, *L. grippoty* -

phosa, L. hyos, L. pomona, L. australis, L. sejroe dan L. hebdomadis digunakan sebagai antigen. Dari semua serotype *Leptospira* tersebut, pernah dinyatakan menyerang hewan yang terdapat di Indonesia ( 21 ).

Untuk pemeliharaan pupukan *Leptospira*, masing-masing antigen *Leptospira* dipupuk dalam medium Korthof.

Korthof medium

Larutan bahan-bahan berikut dalam 1 liter aqua

dest:

Neopepton	200 mg
NaCl	400 mg
NaHCO <sub>3</sub>	20 mg
KCl	40 mg
CaCl <sub>2</sub>	40 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	240 mg
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	880 mg

Larutan disterilkan selama 30 menit pada temperatur 100°C, setelah larutan dingin, ditambahkan 8% serum kelinci yang telah diinaktifkan selama 1 jam pada temperatur 56°C. Kemudian campuran disaring melalui seitz EK filter lalu dibagi-bagi dalam tabung steril dan siap dipupuk dengan *Leptospira*. Untuk keperluan sero diagnosa, pupukan *Leptospira* yang digunakan berumur 5 - 15 hari.

## II. Cara Kerja

Pada tahap pertama tiap serotype antigen *Leptospira*, yang telah dipupuk selama 15 hari pada medium Kor

thof, diperiksa dibawah mikroskop medan gelap untuk melihat pergerakan kuman, karena uji serologis menggunakan *Leptospira* hidup.

#### Agglutinasasi Lysis Test

Untuk mengetahui titer antibody, digunakan plat agglutinasasi. Tiap lobang I pada plat agglutinasasi diisi dengan larutan buffer 0,9 ml, lalu kedalam lobang I juga ditambahkan 0,1 ml serum ( pengenceran serum 1 : 10 ).

Dari lobang I dipindahkan 0,1 ml masing - masing kedalam lobang II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX dan X. Kedalam lobang II sampai X ditambahkan masing-masing 0,9 ml antigen *Leptospira* hidup sehingga pengenceran serum menjadi 1 : 100. Campuran serum dengan antigen dimasukkan dalam inkubator ( 37°C ) selama 1 jam sebelum diperiksa. Dengan oesa, campuran serum dengan antigen diambil, diletakkan diatas obyekt glass, lalu diperiksa dibawah mikroskop medan gelap ( 21 ).

Untuk pemeriksaan sero diagnosa, tiap serum diuji 1 : 100 terhadap 9 serotype *Leptospira*. Bila hasil menunjukkan agglutinasasi positif, maka dilanjutkan dengan pengenceran 1 : 1000, 1 : 10.000, 1 : 100.000 sampai 1 : 1000.000. Tetapi bila pengenceran 1 : 100 negatif, maka tidak dilanjutkan lagi.

Kadang-kadang pada pemeriksaan mikroskopis dapat terjadi agglutinasasi semu atau palsu, ini disebabkan pupukan *Leptospira* tidak murni lagi. Untuk memurnikan pupu

kan *Leptospira* dari kontaminant, beberapa mililiter pupu-  
kan *Leptospira* disuntikkan intra peritoneal pada marmot,  
setelah 10 - 30 menit kemudian, darah jantung diambil ke-  
mudian dimasukkan pada medium Korthof. Dari pupukan asal  
darah marmot dapat diperbanyak lagi dengan memupuk pada  
medium baru. Pupukan dieramkan dalam inkubator pada tem-  
peratur 37°C, pada hari pertama, kemudian disimpan pada  
temperatur 30°C ( 21 ).

## BAB. IV

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 30 contoh sera kera jawa yang telah diuji dengan cara Agglutination Lysis Test, terhadap 9 seroty-  
pe *Leptospira*, maka hasilnya dapat dilihat pada tabel di  
bawah ini:

Tabel hasil pemeriksaan dengan cara Agglutina -  
tion Lysis Test terhadap sera kera Jawa di Kebun  
Binatang Surabaya

A. N T I G E N	positip	positip
	1 : 100	1 : 1000
L. canicola	2	0
L. ichterohaemorrhagiae	2	0
L. pomona	1	0
L. grippotyphosa	0	0
L. sejroe	1	0
L. hebdomadis	0	0
L. hyos	0	0
L. australis	0	0
L. Hardjo	2	0
J U M L A H	8	0

Keterangan

1 : 100 dan 1 : 1000 adalah pengenceran serum.

0 = tidak terjadi reaksi aglutinasi.

### Prosentase Kejadian Leptospirosis

Pada penelitian serologis titer antibody terhadap *Leptospira*, dari 30 contoh sera yang telah diuji dengan cara agglutinasi lysis test, terdapat 8 contoh sera yang positif *Leptospira*, dengan titer tertinggi 1 : 100, sedang yang lainnya negatif.

Dari 9 serotype *Leptospira* yang digunakan, terdapat 5 serotype yang positif, diantaranya adalah: *L. pomona*, *L. canicola*, *L. ichterohaemorrhagiae*, *L. sejroe* dan *L. Hardjo*.

Prosentase keseluruhan kejadian Leptospirosis pada kera Jawa Kebun Binatang Surabaya adalah 26,6%.

Menurut hasil pemeriksaan terhadap 32 contoh air kolam dan air sumur, termasuk juga kolam yang terdapat dalam kandang kera di Kebun Binatang Surabaya, semua positif *Leptospira* ( 22 ).

Atas dasar tersebut, penulis menduga bahwa, kejadian Leptospirosis pada kera Jawa Kebun Binatang Surabaya, berasal dari kolam yang terdapat pada kandang kera tersebut, karena cara penularan dari *Leptospira* yaitu melalui makanan, minuman atau air yang terkontaminasi oleh urine yang mengandung *Leptospira*. Selain itu dapat juga melalui selaput mukosa hidung, mulut, conjunctiva atau melalui kulit yang luka.

Infeksi pada kera tersebut dapat terjadi karena seringnya kera-kera yang terdapat pada kandang, bermain dan masuk kedalam kolam, sehingga kejadian *Leptospira*

rosis pada kera Jawa di Kebun Binatang Surabaya, kemungkinan akibat kontak langsung dengan air atau lumpur yang terkontaminasi oleh *Leptospira*, atau melalui makanan yang terkontaminasi oleh *Leptospira*.

## BAB. V

## KESIMPULAN DAN SARAN

Setelah dilakukan uji serologis titer antibody terhadap *Leptospira* pada kera Jawa, dengan menggunakan cara aglutinasi lysis test, menunjukkan 8 positif dengan titer antibody tertinggi adalah 1 : 100. Hasil ini menunjukkan bahwa, hewan tersebut pada saat itu atau pada saat yang lampau pernah terinfeksi oleh *Leptospira* ( 18, 21 ).

Serotype *Leptospira*

Serotype *Leptospira* yang digunakan pada penelitian serologis ini sebanyak 9 serotype *Leptospira*. Dari jumlah tersebut, terdapat 5 serotype *Leptospira* yang positif lysis, ini menunjukkan bahwa tidak ada dominasi dari satu serotype *Leptospira* yang menyerang kera Jawa di Kebun Binatang Surabaya.

Sehubungan adanya kasus leptospirosis pada kera Jawa di Kebun Binatang Surabaya, maka sangat perlu untuk mengusahakan pengendalian penyakit tersebut dan usaha-usaha yang perlu dilakukan adalah:

## 1. Pencegahan Penyakit

Pencegahan ini harus diutamakan terutama pada hewan-hewan yang belum terserang penyakit, yaitu melakukan immunisasi dengan secara teratur yang bertujuan untuk perlindungan pada hewan-hewan tersebut.

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam tindakan pencegahan adalah: a. Tempat air minum harus bersih dan harus disediakan pada setiap kandang, untuk menghindari hewan-hewan minum air kolam, terutama hewan - hewan yang kandangnya terbuka bebas. b. Bila memasukkan hewan yang baru datang, sebaiknya dikarantina lebih dahulu. c. Melakukan pemberantasan pada hewan - hewan pembawa penyakit terutama rodentia liar seperti tikus. d. Mengusahakan agar kandang dijaga kebersihannya dan mengisikan hewan tidak terlalu banyak dalam satu kandang. e. Sungai yang ada di Kebun Binatang Surabaya sebaiknya diproses terlebih dahulu sebelum masuk, agar air tetap jernih dan bersih.

Pada kolam-kolam sebaiknya dibuatkan dinding dari semen dan dibuatkan plengsengan yang lebih dalam, yaitu bertujuan untuk mencegah *Leptospira* masuk kedalam lapisan tanah, juga untuk menghambat pertumbuhan *Leptospira*, karena kuman ini membutuhkan  $O_2$  ( aerob ). Pada sumur-sumur yang tercemar sebaiknya tidak dipergunakan untuk hewan-hewan, baik untuk air minum maupun untuk permandian, karena *Leptospira* tahan hidup lebih lama dalam sumur yang tidak berdinding semen.

Untuk keseluruhan air yang terdapat di Kebun Binatang Surabaya, diusahakan tetap mengalir, sehingga *Leptospira* dapat mati terkena radiasi sinar matahari.

Untuk menjaga agar makanan tetap bersih dan sehat, hendaknya persediaan makanan untuk semua hewan tetap dijaga kebersihannya.

## 2. Pengobatan

Pada setiap hewan yang sakit, secepatnya diobati untuk mencegah penularan lebih lanjut pada hewan - hewan lainnya. Sebaiknya hewan yang diduga sudah terserang penyakit, di karantina dan secara rutin terus diobati.

BAB. VI

RINGKASAN

Leptospirosis merupakan salah satu penyakit yang bersifat zoonosis yang disebabkan oleh kuman *Leptospira*.

*Leptospira* hampir menyerang semua hewan ternak ataupun hewan peliharaan, termasuk juga menyerang hewan-hewan jenis premata, seperti kera dan juga chimpanzee.

Penulis mencoba untuk mensurvey secara serologis terhadap *Leptospira* pada kera Jawa di Kebun Binatang Surabaya, yang bertujuan mendiagnosa atau untuk mengetahui antibody terhadap *Leptospira*. Ditemukannya antibody tersebut, membuktikan bahwa hewan-hewan itu sudah pernah terinfeksi oleh *Leptospira*.

Sehubungan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Jhonson Purwadi, yaitu tentang isolasi dan identifikasi *Leptospira* dari air sumber dan kolam-kolam Kebun Binatang Surabaya, ternyata semua positif *Leptospira* maka untuk mengetahui apakah *Leptospira* sudah menyerang hewan yang ada di Kebun Binatang Surabaya, maka perlu dilakukan diagnosa serologis. Diagnosa serologis juga bertujuan untuk mengetahui apakah kuman itu patogen atau tidak patogen, juga untuk mengetahui apakah hewan tersebut sudah pernah terinfeksi atau belum oleh *Leptospira*.

Kera merupakan jenis premata yang dapat terinfeksi oleh *Leptospira*. Infeksi *Leptospira* dapat bersifat

subklinis, yang mana hewan kelihatan sehat tetapi mempunyai kemampuan untuk menularkan penyakitnya kepada hewan lainnya ataupun juga ditularkan kepada manusia.

Survey serologis titer antibody terhadap *Leptospira* pada kera Jawa di Kebun Binatang Surabaya, menggunakan cara agglutinasi lysis test. Uji serologis ini membutuhkan bahan: Serum yang diambil dari kera Jawa Kebun Binatang Surabaya dan antigen *Leptospira* hidup yang berasal dari Bio Farma Bandung.

Untuk uji serologis ini membutuhkan pupukan *Leptospira* yang berumur 15 hari, pada medium Korthof. Dari hasil pemeriksaan, yaitu diantara 30 contoh sera yang diuji, terdapat 8 contoh sera yang positif pada titer tertinggi 1 : 100, sedangkan yang lainnya sebanyak 22 contoh sera adalah negatif terhadap *Leptospira*.

Type *Leptospira* yang diduga menyerang kera Jawa di Kebun Binatang Surabaya adalah: 1. *L. pomona* 2. *L. canicola* 3. *L. ichterohaemorrhagiae* 4. *L. sejroe* dan 5. *L. Hardjo*.

## DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Alstone, J.M. , J.C. Broom. , J.A. Doughty. , S.M. Bedson. , 1958. Leptospirosis in Man and Animals. 1<sup>st</sup> Ed. E. and S. Livingstone L. T. D. Edinburgh and London. p. 266 - 267.
2. Babudieri, B. 1961. Laboratory Diagnosis of Leptospirosis. Bull. W. H. O. 24. p. 45 - 58.
3. Blood and Handerson. 1975. Veterinary Medicine. 4<sup>th</sup> - Ed. Baillieri and Tyndal London. p. 439 - 446.
4. Cruicksank, R. , J.P. Duguid, B.P. Marmion. , R.H.A.-Swain. 1975. Medical Microbiology. 12<sup>th</sup> Ed. Vol II. Churchil Livingstone. Edinburgh London. p. 511 - 515.
5. Dubos, R.J. 1958. Bacterial and Mycotic Infection of Man 3<sup>rd</sup> Ed. J.B. Lippincott Company. p. 541 - 548.
6. Dunne, H.W. 1964. Disease of Swine. 2<sup>nd</sup> Ed. University Press, Ames, Iowa. U. S. A. p. 323 - 335.
7. Ellis, W.A. , J.J. O'Brien. , S.D. Heil, H.W. Ferguson. 1982. Bovine Leptospirosis: Microbiological and Serological Findings in aborted fetuses. Vet. Rec. 110: 147 - 150.
8. Ellis, W.A. , S.W. Michna. 1976. Bovine Leptospirosis Infection by The Hebdomadis Serogroup and Abortion A herd study. Vet. Rec. 99: 409 - 412.

9. Finegold, S.M. , Martin, J.W. , Scott. 1978. Biley- and Scott's Diagnostic Microbiology. 5<sup>th</sup>Ed. The C.V. Mosby Company. p. 207 - 208.
10. Gillespie, J.H. and Timoney, J.F. 1981. Hagan and Bruner's. Infectious Diseases of Domestic Animal. 7<sup>th</sup>Ed. Corruzell University Press Itacha and London. p. 64 - 70.
11. Hathaway, S.C. , T.W.A. Litle. 1981. Prevalence and Clinical Significance of Leptospiral antio- dies in Pig in England. Vet. Rec. 108: 224 - 228.
12. Hathaway, S.C. , S.M. Finch. , A.E. Stevens. 1981. - Leptospiral Infection in Horse in England: A serological Study. Vet. Rec. 108: 396 - 398.
13. Herbert, W.J. 1974. Veterinary Immunology. 1<sup>st</sup>Ed. Blackwell Scientific Publicatus Oxford London Edinburgh Melborne. p. 13 - 36.
14. Jawetz, E. , J.L. Menick, E.A. Adel. 1980. Review of Medical Publication, Drawer L, Los Altos, Cali- fornia 9402. p.361 - 364.
15. Joklik. , Willet. , Amos. 1980. Zinsser Microbiology 17<sup>th</sup>Ed. Appleton - Century - Crofts / New York p. 885 - 889.
16. Klos, H.G. and E.M. Lang. 1982. Handbook of Zoo Medicine Diseases and Tratment of Wild Animals in Zoos, Game Park, Circuses and Pervate Colecti- ons. 1<sup>st</sup>Ed. New York - Melborne. p. 56 - 62.

17. Last, J.M. 1981. Public Health and Preventive Medicine. 1<sup>st</sup> Ed. Apleton - Century - Crofts / New-York. p. 422 - 424.
18. Lulu, UE. J.J.L. 1981. Leptospirosis Pada Hewan Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
19. Maegraith, B.G. 1971. Clinical Tropical Diseases 5<sup>th</sup> Ed. Black Well Scientific Publication. Oxford and Edinburgh. p. 221 - 225.
20. Marcant, I.A. and Parker, R.A. 1971. Veterinary Bacteriology. 7<sup>th</sup> Ed. The Iowa State University Press. p. 298 - 306.
21. Naibaho, M. , Ernawati, R. , Ingriana, M.A. dan Samita, R. 1980. Laporan Survey Serologis Titer Antibody Terhadap Leptospira dan Parainfluenza 3 Pada Sapi-sapi Potong di Jawa Timur dan Bali. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
22. Purwadi, J. 1984. Isolasi dan Identifikasi Leptospira dari Air Sumber dan Kolam - kolam di Kebun Binatang Surabaya. Serta Percobaan Laboratoris Bromoquad 50 dan Calcium Hydroxyda Sebagai Pemberantas. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
23. Ruch, T.C. 1959. Diseases of Laboratory Primates. 1<sup>st</sup> Ed. W.B. Saunders Company. p. 339 - 341.

24. Soltys, M.A. 1974. Bacteria and Fungi Pathogenic to Man and Animals. Bailliere and Tyndall and Cox London. p. 422 - 433.
25. Smith, D.T. , D.S. Martin. , N.F. Conant. , J.W. Beard. G. Taylor. , H.I. Khon. , M.A. Poston. - 1948. Zinsser's Textbook of Bacteriology. 9<sup>th</sup> Ed. Appleton - Century - Crofts, INC. New York. p. 631 - 634.
26. Sullivan, N.D. 1974. Leptospirosis in Animals and Man. Aust. Vet. Journal. 50: 216 - 222.
27. Wilson, S.G.S. and Miles, S.A. 1975. Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. 6<sup>th</sup> Ed. Vol. I. Edward Arnold. p. 1182 - 1190.
28. Wilson, S.G.S. and Miles, S.A. 1975. Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. 6<sup>th</sup> Ed. Vol. II. The Williams and Wilkins Company Baltimore. p. 2329 - 2340.

## DAFTAR LAMPIRAN

Beberapa cara membuat media untuk pemupukan Leptospira:

## 1. Cara membuat Korthof medium

Korthof medium

Larutan bahan-bahan berikut didalam 1 liter aqua dest.

Neopepton	800 mg
NaCl	1400 mg
NaHCO <sub>3</sub>	20 mg
KCl	40 mg
CaCl <sub>2</sub>	40 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	240 mg
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 2H <sub>2</sub> O	880 mg

Larutan disterilkan selama 30 menit pada temperatur 100°C. Setelah larutan dingin, ditambahkan 8 - 10% serum kelinci yang telah dinaktifkan selama 1 jam pada temperatur 56°C. Kemudian campuran disaring melalui Seitz EK Filter, lalu dibagi-bagi kedalam tabung steril dan siap dipupuk dengan Leptospira. Pupukan ini dapat digunakan sebagai stock kultur dan produksi antigen.

## 2. Cara membuat Noguchi's medium

Noguchi's medium

Masukkan kedalam tabung, 8 ml ringer's solution lalu tambahkan 1 ml nutrient agar, cairan disterilkan pada temperatur 100°C selama 15 menit kemudian dinginkan

hingga temperatur  $55^{\circ}\text{C}$ , selanjutnya tambahkan 20 tetes darah kelinci dan siap dipupuk dengan *Leptospira*. Kegunaan medium ini adalah untuk melihat pertumbuhan *Leptospira*.

### 3. Cara membuat Fletcher's liquid medium

#### Fletcher's liquid medium

R/ Pepton	0,2%
NaCl	0,1%
Aquadest	

Campuran dimasukkan kedalam masing-masing botol sebanyak 7 ml dengan pH 7,2. Sterilkan pada temperatur  $100^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit, didinginkan hingga  $50^{\circ}\text{C}$ , tambahkan 1,5 ml serum kelinci. Medium siap dipupuk dengan *Leptospira* dan kegunaannya untuk inokulasi pada hewan percobaan.

### 4. Cara membuat Fletcher's semi solid medium

#### Fletcher's semi solid medium

R/ Pepton	0,2%
NaCl	0,1%
Agar	0,1%
Aquadest	

Campuran dimasukkan kedalam masing-masing botol sebanyak 10 ml dengan pH 7,2. Sterilkan pada temperatur- $100^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit, kemudian dinginkan sampai temperatur  $50^{\circ}\text{C}$  lalu tambahkan 1,5 ml serum kelinci. Media siap dipupuk dengan *Leptospira*. Kegunaan untuk inokulasi dan stock kultur ( 18 ).