

Kontaminasi *Leptospira* Patogenik pada Air Konsumsi di Pemukiman Kabupaten Demak

Pathogenic Leptospira Contamination in Household Water in Settlement Area of Demak Regency

Dyah Widiastuti*, Rr. Anggun Paramita Djati
Balai Litbang P2B2 Banjarnegara
Jl. Selamanik No. 16 A Banjarnegara, Jawa Tengah, Indonesia
*E_mail: umi.azki@gmail.com

Received date: 07-08-2015, Revised date: 16-09-2015, Accepted date: 06-10-2015

ABSTRAK

Leptospirosis merupakan penyakit zoonosis penting di dunia termasuk Indonesia. Penularan penyakit ini dapat terjadi melalui kontak dengan air yang terkontaminasi bakteri *Leptospira* patogen. Tujuan penelitian ini untuk mendeteksi *Leptospira* patogen pada air konsumsi di pemukiman Kabupaten Demak. Penelitian observasional ini dilaksanakan pada bulan Juli 2014. Sebanyak 15 sampel air konsumsi dikumpulkan dari area pemukiman di sekitar kasus leptospirosis terbaru di Kabupaten Demak. Sampel diperiksa menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mendeteksi kontaminasi *Leptospira* patogenik dengan gen target LipL32. Tujuh sampel (46,7%) menunjukkan kontaminasi positif dari spesies patogenik dari *Leptospira* berdasarkan PCR. *Leptospira* patogenik dapat dideteksi dalam lingkungan Demak dan ini berpotensi menyebabkan terjadinya penularan leptospirosis.

Kata kunci: *Leptospira*, air konsumsi, Demak

ABSTRACT

Leptospirosis is recognized as one of the important zoonotic diseases in the world including Indonesia. This study aimed to detect pathogenic Leptospira in household water in settlement area of Demak Regency. An observational research was conducted in July 2014. A total of 15 household water samples were collected from settlement area in Demak Regency. The samples were examined using Polymerase Chain Reaction (PCR) to detect pathogenic Leptospira contamination with LipL32 gene as target. Seven samples (46,7%) exhibited positive contamination of pathogenic Leptospira based on PCR. Pathogenic Leptospira can be detected in Demak and this has the potential to cause an outbreak.

Keywords: *Leptospira*, household water, Demak

PENDAHULUAN

Leptospirosis disebabkan oleh infeksi *Leptospira* patogenik. Penyakit ini dikelompokkan dalam *emerging zoonotic disease* dengan penyebaran yang luas.¹ Seseorang dapat tertular penyakit ini antara lain apabila terpapar air yang terkontaminasi *Leptospira* dari urin hewan yang terinfeksi.² Pada rantai penularan leptospirosis, *rodent* dan mamalia lain baik domestik maupun liar dapat berperan sebagai reservoir *Leptospira* dalam kurun waktu yang bervariasi. Misalnya anjing, dapat mengeluarkan *Leptospira* ke lingkungan minimal 4 minggu setelah diinfeksi secara eksperimental.³ *Rodent*, khususnya tikus dapat

menjadi reservoir yang efektif, karena mampu mengeluarkan *Leptospira* dari tubuhnya ke lingkungan untuk jangka waktu yang lama.⁴ Kemampuan bakteri untuk bertahan di lingkungan yang hangat dan lembab memberi peluang untuk keberlangsungan penularan pada manusia.

Leptospira adalah bakteri gram negatif berbentuk pilinan batang yang bergerak dengan aktif. Bakteri ini berukuran sangat tipis dengan panjang 6-20 um dan lebar 0,2-0,15 um. Genus *Leptospira* terbagi menjadi spesies patogenik dan non patogenik. *Leptospira* non patogenik berhabitat alami di permukaan air. *Leptospira* patogenik hidup di tubuh reservoirnya. Penularan *Leptospira* dapat terjadi pada saat manusia terpapar hewan terinfeksi

atau air yang terkontaminasi urin hewan yang terinfeksi.⁴

Pada daerah dengan iklim tropis, keberadaan *Leptospira* di lingkungan dipengaruhi oleh kondisi suhu yang hangat, kelembaban yang tinggi pada tanah dan air yang selalu tersedia di lingkungan. Adapun di daerah beriklim sedang, air yang dapat menjadi sumber penularan biasanya berasal dari air kran, air kolam atau danau, air limbah dan air di tempat wisata akuatik. Penelitian Munoz-Zanzi di Chile tahun 2014 menunjukkan bahwa pada air konsumsi rumah tangga ditemukan *Leptospira*.²

Wilayah Kabupaten Demak termasuk dalam kategori topografi datar dan terdiri atas dataran rendah, pantai serta perbukitan, dengan ketinggian permukaan antara 0-100 meter. Kabupaten Demak merupakan salah satu daerah dengan permasalahan leptospirosis di Provinsi Jawa Tengah. Kasus leptospirosis pertama kali dilaporkan di kabupaten ini tahun 2003. Antara tahun 2010 – 2014, pada beberapa daerah di Kabupaten Demak dilaporkan terjadi kasus leptospirosis. Hasil penyelidikan epidemiologi yang dilakukan oleh petugas Dinas Kesehatan Kabupaten Demak, menunjukkan bahwa berbagai sumber penularan berkaitan dengan keberadaan air di sekitar rumah tempat tinggal penderita. Pada penelitian ini, dilakukan deteksi keberadaan *Leptospira* patogen pada beberapa badan air yang ada di area pemukiman, terutama air konsumsi rumah tangga di beberapa kecamatan dengan masalah leptospirosis.

METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2014. Pengambilan sampel dilakukan secara *accidental sampling*. Sebanyak 15 sampel air konsumsi rumah tangga diambil dari sembilan desa dengan kasus leptospirosis terbaru di Kabupaten Demak, yang tersebar di enam kecamatan yaitu Kecamatan Guntur, Mranggen, Karangawen, Bonang, Demak dan Mijen. Sampel air yang diambil berasal dari sumber air dan atau tempat penampungan air yang biasa digunakan oleh responden atau penghuni rumah penderita dan atau keluarga penderita leptospirosis hingga Juli tahun 2014, untuk konsumsi sehari-hari, mandi, cuci, dan buang air.

Jika ada dua atau lebih tempat penampungan air yang berasal dari sumber yang sama, maka hanya diambil satu sampel air saja. Masing-masing sampel air diambil dengan volume 125 ml yang ditempatkan dalam botol kaca berwarna gelap. Sampel air disimpan pada suhu 4°C dan diproses dalam waktu 24 jam.

Setiap sampel air disaring dengan satu membran *nitrocelulose* (*Millipore*) yang porinya berukuran 0,22 µm. Selanjutnya, membran dipotong kecil-kecil dan dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuge.

Tahap selanjutnya adalah isolasi DNA dari membran *nitrocelulose* yang digunakan untuk menyaring sampel air. Isolasi DNA dilakukan menggunakan kit isolasi *Genomic DNA Mini Kit* (*Geneaid*). Tahapan isolasi dilakukan sesuai prosedur yang tercantum dalam manual kit tersebut.

Untuk mendeteksi DNA *Leptospira*, dilakukan pemeriksaan PCR menggunakan kit *Go Taq Green Master Mix* (*Promega*), dengan primer yang spesifik untuk *Leptospira* patogenik sesuai protokol Levett.⁵ Susunan basa pada primer yang digunakan antara lain: LipL32/270F (5'-CGCTGAAATGGGAGTTCGTATGATT-3') dan LipL32/692R (5'-CCAACAGATGCAACGAAAGATCCTTT-).

Adapun program PCR yang digunakan adalah predenaturasi 1 siklus pada suhu 94°C selama 5 menit, amplifikasi 35 siklus yang terdiri dari 94°C selama 1 menit (denaturasi), 55°C selama 1 menit dan 72°C selama 2 menit.⁵

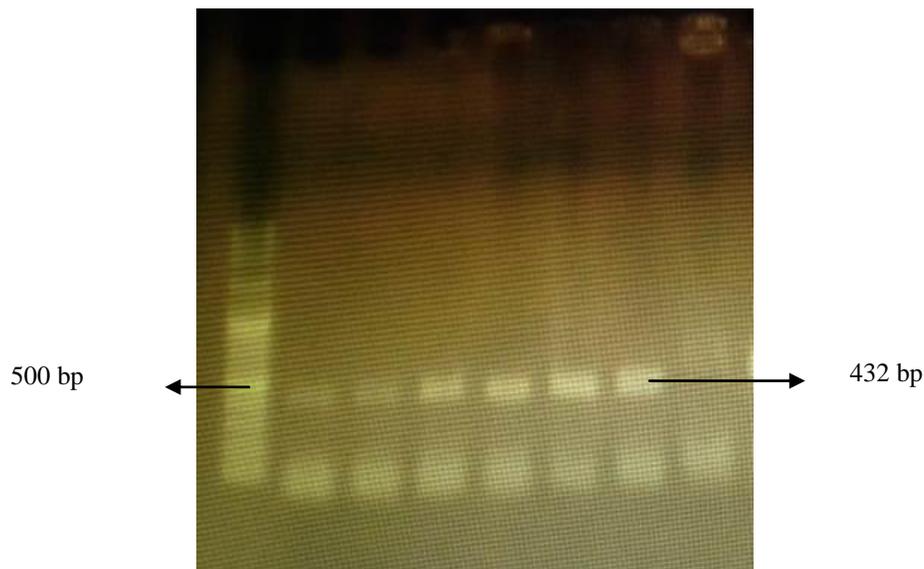
Selain pemeriksaan *Leptospira* pada sampel air, juga dilakukan pengumpulan data sekunder mengenai kasus leptospirosis di Kabupaten Demak di Dinas Kesehatan Kabupaten dari tahun 2010-2014. Data hasil pemeriksaan air selanjutnya dianalisis secara deskriptif berdasarkan status endemisitas leptospirosis yang ada di enam kecamatan terpilih.

HASIL

Tujuh dari 15 sampel air (46,7%) yang diambil dari sembilan desa di Kabupaten Demak mengandung DNA *Leptospira* patogenik (Tabel 1). Ketujuh sampel air tersebut merupakan air yang

diambil dari bak mandi penduduk di sekitar kasus leptospirosis. Hasil elektroforesis produk PCR

secara lebih jelas ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Elektroforesis Hasil PCR untuk Deteksi *Leptospira* di Sampel Air

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa produk PCR berada pada posisi 432 bp yang sesuai dengan target primer LipL32 untuk *Leptospira* patogen. Dari enam kecamatan terpilih dalam penelitian ini, ada empat kecamatan yang sampel

airnya positif DNA *Leptospira* patogenik, yaitu Guntur, Mranggen, Karangawen, dan Mijen. Distribusi sampel air positif DNA *Leptospira* patogenik di Kabupaten Demak berdasarkan kecamatan ditampilkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Keberadaan Air Positif *Leptospira* patogen pada Air Pemukiman di Enam Kecamatan di Kabupaten Demak

Kecamatan	Jumlah sampel air positif	Jumlah sampel air yang diperiksa	% air positif dari keseluruhan sampel diperiksa
Guntur	1	1	6,7
Mranggen	3	7	20
Karangawen	1	1	6,7
Bonang	0	3	0
Demak	0	1	0
Mijen	2	2	13,3

Tabel 1 menunjukkan bahwa dari seluruh sampel air yang diperiksa, sampel air positif mengandung DNA *Leptospira* patogenik terbanyak ditemukan di Kecamatan Mranggen (20%). Hasil

pengumpulan data sekunder kasus leptospirosis di Kabupaten Demak selama lima tahun disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Kasus Leptospirosis di Enam Kecamatan di Kabupaten Demak Tahun 2010-2014

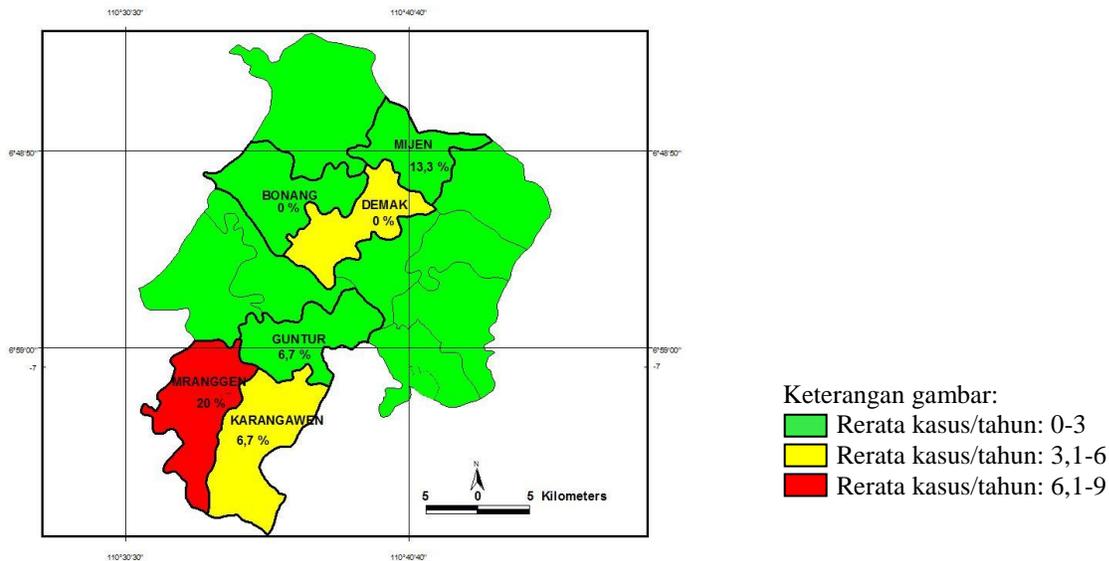
Kecamatan	2010	2011	2012	2013	2014	Rata rata Σ kasus/tahun
Guntur	2	2	1	2	0	1.4
Mranggen	9	8	6	6	2	8.2
Karangawen	3	7	3	3	0	3.2
Bonang	2	1	1	1	5	2
Demak	7	1	0	0	15	4.6
Mijen	0	0	0	0	1	0.2

Sumber: Dinas Kesehatan Kabupaten Demak. Laporan Kasus Leptospirosis

Tabel 2 menunjukkan bahwa kecamatan yang memiliki rata-rata jumlah kasus per tahun tertinggi adalah Kecamatan Mranggen diikuti Kecamatan Demak. Kecamatan Mijen memiliki rata-rata jumlah kasus terendah. Rerata kasus per tahun yang paling tinggi dalam lima tahun terakhir ditemukan di Kecamatan Mranggen (8,2%).

Berdasarkan distribusi terditi, maka disusun stratifikasi rata-rata jumlah kasus leptospirosis per

tahun. Klasifikasi tersebut terdiri dari tinggi (rata-rata jumlah kasus 6,1-9), sedang (rata-rata jumlah kasus 3,1-6) dan kelompok rendah (rata-rata jumlah kasus 0-3). Hasil pemetaan yang menggabungkan distribusi kecamatan dengan rata-rata jumlah kasus sesuai stratifikasi tinggi (warna merah), sedang (kuning) dan rendah (hijau) dengan persentase air positif *Leptospira* patogen, secara lengkap disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Stratifikasi Rerata Kasus Leptospirosis per Tahun dan Persentase Air positif *Leptospira* Patogen

PEMBAHASAN

Persentase air positif mengandung *Leptospira* patogen adalah sebesar 46,7%, menunjukkan nilai persentase yang lebih besar dibanding hasil penelitian yang dilakukan oleh Vital-Brazil *et al.* yang menemukan 3% sampel air di daerah

perkotaan di Brazil positif mengandung Spirochaeta berdasarkan pemeriksaan PCR.⁶ Hasil penelitian lain yang dilaporkan di Chilli juga menunjukkan nilai persentase yang lebih kecil yaitu sebesar 3,9% untuk sampel air yang diambil dari sungai dan saluran irigasi.² Demikian juga dengan hasil

penelitian di China yang hanya menemukan 2,14% sampel air positif *Leptospira*.⁷ Namun demikian, nilai persentase air positif *Leptospira* pada penelitian ini jauh lebih kecil bila dibandingkan hasil yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan di USA tahun 1973 oleh Tripathy and Hanson dalam Wojcik-Fatla *et al*, menyebutkan 64,3% sampel air mengandung *Leptospira* berdasarkan pemeriksaan kultur dan inokulasi hewan coba.⁸ Keberadaan *Leptospira* di air dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya adalah kondisi pH air, dan naungan di sekitar badan air. Selain itu, temperatur merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap daya tahan *Leptospira* di lingkungan. Meskipun temperatur optimal untuk pertumbuhan bakteri ini berkisar antara 28-30⁰C, namun beberapa sampel ditemukan positif *Leptospira* pada kondisi suhu 9,5⁰C. Kondisi naungan pada badan air juga merupakan faktor yang memengaruhi kesesuaian lingkungan terhadap kehidupan *Leptospira*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Thailand, bakteri ini ditemukan di area persawahan di Provinsi Nakhornratchasima, Thailand di mana pada lokasi tersebut terdapat genangan air dengan kedalaman 5-10 cm, rerata pH 7,6 dan rerata suhu 34,5⁰C.⁹ *Leptospira* patogen dapat bertahan hidup di tanah yang lembab dan air tawar dalam waktu yang lama, khususnya pada kondisi basa. Dalam lingkungan laboratorium, *Leptospira* serovar Javanica dapat bertahan hidup dalam akuades (pH 7,8) selama 152 hari.¹¹

Penelitian yang dilakukan oleh Trueba *et al*¹¹ menunjukkan bahwa viskositas dan konsentrasi garam juga berperan penting terhadap daya tahan *Leptospira* di lingkungan. Diduga, kondisi perairan dengan viskositas yang tinggi akan menimbulkan matriks yang memudahkan terjadinya agregasi sel dan motilitas translasional pada bakteri tersebut. *Leptospira*, sebagaimana *spirochaeta* yang lain, sangat beradaptasi pada badan air yang memiliki viskositas tinggi. *Leptospira* yang ditempatkan pada medium dengan viskositas yang tinggi waktu hidupnya akan meningkat tiga kali lipat dibandingkan *Leptospira* yang ditempatkan dalam akuades.¹⁰ Keterbatasan penelitian ini adalah tidak

dilakukannya pengukuran faktor fisik kimia di badan air yang diambil sampelnya, sehingga tidak dapat dikaji lebih jauh mengenai faktor abiotik yang memengaruhi keberadaan *Leptospira* di air di wilayah Kabupaten Demak.

Sebagian besar sampel air positif DNA *Leptospira* patogenik ditemukan di Kecamatan Mranggen sebesar 20%. Data kasus leptospirosis yang dihimpun di Dinas Kesehatan Kabupaten Demak juga menunjukkan bahwa Kecamatan Mranggen merupakan salah satu kecamatan endemis leptospirosis di Kabupaten Demak dengan rerata kasus per tahun paling tinggi diantara kecamatan endemis yang lain. Hal ini selaras dengan pernyataan Barcellos dan Sabrosa¹² bahwa individu yang tinggal di sekitar lokasi badan air yang terkontaminasi *Leptospira* memiliki resiko tinggi untuk terpapar bakteri tersebut. Dengan demikian prevalensi leptospirosis di daerah dengan badan air yang terkontaminasi *Leptospira* akan cenderung lebih tinggi.¹¹

Penularan leptospirosis melalui air atau lingkungan merupakan tipe penularan secara tidak langsung. Beberapa mekanisme yang diyakini menjadi *mode of entry* *Leptospira* ke tubuh manusia diantaranya adalah mengkonsumsi air yang terkontaminasi atau kontak langsung antara kulit dengan air yang terkontaminasi. Organisme ini biasanya masuk ke tubuh melalui membran mukosa atau kulit yang luka.¹²

Rerata kasus leptospirosis di Kecamatan Mijen per tahun tergolong rendah, namun persentase air yang positif mengandung DNA *Leptospira* patogenik cukup besar. Sebaliknya Kecamatan Demak, rerata kasus leptospirosis per tahun lebih tinggi dari Kecamatan Mijen namun tidak ditemukan air yang positif mengandung DNA *Leptospira* patogenik. Hal ini dapat disebabkan karena faktor peluang. Dalam penelitian ini, jumlah sampel air yang diambil tiap lokasi penelitian tidak sama, karena metode penentuan sampel terbatas pada jenis sumber air yang digunakan oleh penderita atau di sekitar penderita. Jika sumber air yang digunakan sama, maka hanya diambil satu sampel saja untuk diperiksa. Selain itu, dalam penelitian ini, pengambilan sampel air terbatas

hanya pada tempat tinggal penderita, tidak dilakukan pengambilan sampel di tempat bekerja atau tempat lain yang menjadi tempat aktivitas penderita sehari-hari sebelum sakit. Banyak faktor yang memengaruhi daya tahan *Leptospira* di lingkungan.⁹ Faktor-faktor lingkungan bersifat dinamis atau mudah dan cepat berubah. *Leptospira* bertahan hidup beberapa minggu saja dalam air tawar.¹⁴ Oleh karena itu, sebaiknya pengambilan dan pemeriksaan sampel air di lingkungan tidak dilakukan satu kali saja, tetapi beberapa kali dan tidak dilakukan di satu titik saja. Selain itu, semakin cepat pengambilan sampel dilakukan setelah dilaporkannya kasus leptospirosis baru, dapat meningkatkan peluang ditemukannya bakteri di lingkungan.

Pola epidemiologi leptospirosis dapat berbeda dari satu daerah dengan daerah lainnya. Berbagai lokasi penelitian di Kabupaten Demak diduga memiliki pola epidemiologi yang berbeda-beda. Ada yang memiliki pola penularan kontak langsung, di tempat peternakan, dan ada pula yang memiliki pola penularan langsung melalui kontak dengan rodensia, terutama di area perkotaan yang kumuh. Dengan demikian, tidak semua air di lingkungan penderita memiliki kontribusi yang dominan terhadap penularan leptospirosis. Namun demikian, dengan ditemukannya 46% sampel air positif *Leptospira* patogen di badan air, berkaitan erat dengan kasus leptospirosis di wilayah Kabupaten Demak.

Deteksi *Leptospira* patogenik pada penelitian ini dilakukan dengan metode PCR dengan target gen LipL32 dengan protokol yang dikembangkan oleh Levett.⁵ Berdasarkan protokol ini, *Leptospira* patogenik akan menghasilkan produk PCR sebesar 432 bp, adapun pada *Leptospira* non-patogenik atau bakteri dan jamur patogenik selain *Leptospira* tidak akan mengalami amplifikasi. Sekuen yang terdeteksi menggunakan protokol ini terletak kromosom I dari *Leptospira interrogans*. Protein LipL32 kemungkinan merupakan salah satu faktor virulensi dan hanya ditemukan pada spesies *Leptospira* patogenik.⁵ Dengan demikian, dapat diketahui bahwa DNA *Leptospira* yang ditemukan di sampel air di Kabupaten Demak berasal dari jenis

Leptospira patogenik. Hal ini perlu diwaspadai mengingat besarnya resiko penularan leptospirosis melalui air ke manusia.

KESIMPULAN

Leptospirosis merupakan masalah kesehatan yang perlu diperhatikan di Kabupaten Demak. Tujuh dari 15 sampel air (46,7%) yang diambil dari sembilan desa di Kabupaten Demak yang terdistribusi di enam kecamatan, dideteksi positif *Leptospira* patogen.

SARAN

Perlu dilakukan pengendalian leptospirosis melalui implementasi desinfektan atau purifikasi menggunakan klorin pada sumber air konsumsi di lingkungan pemukiman. Pekerja yang berada di lingkungan yang berair disarankan untuk mengenakan alat pelindung diri yang dapat menghindarkan kontak antara kulit dan air, dan apabila terdapat luka di kulit, sebaiknya ditutup dengan penutup luka yang kedap air.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Demak beserta seluruh stafnya khususnya Bidang Pengendalian Penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abela-Ridder B, Sikkema R, Hartskeerl RA. Estimating the burden of human leptospirosis. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;36:S5–S7.
2. Munoz-Zanzi C, Mason MR, Encina C, Astroza A, Romero A. *Leptospira* contamination of household and environmental water in rural communities in southern Chile. *Int J Environ Res Public Health*. 2014;11(7):6666–80.
3. Schreiber P, Martin V, Najbar W, Sanquer A, Gueguen S, Lebreux B. Prevention of renal infection and urinary shedding in dogs by a *Leptospira* vaccination. *Vet Microbiol*. 2005; 108:113–8.

4. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev. 2001;14:296–326.
5. Levett PN, Roger E, Morey, Renee L, Galloway, Danielle E, et al. Detection of pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. Journal of Medical Microbiology. 2005;54:45–9.
6. Vital-Brazil JM, Teruszkin BI, Sutter de Oliveira F, Dias de Souza Costa A, Hillen L, Pereira MM. Multiplex PCR-based detection of *Leptospira* in environmental water samples obtained from a slum settlement. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2010;105(3):353–5.
7. Yang W, Pang J, Li C. An investigation on the distribution of leptospirae interrogans in water and soil in southwest of Yunnan Province. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 1994;15(5): 289–91.
8. Wojcik-Fatla A, Zając V, Wasiński B, Sroka J, Cisak E, Sawczyn A, et al. Occurrence of *Leptospira* DNA in water and soil samples collected in eastern Poland. Ann Agric Environ Med. 2014;21(4):730–2.
9. Ridzlan FR, Bahaman AR, Khairani-Bejo S, Mutalib AR. Detection of pathogenic *Leptospira* from selected environment in Kelantan and Terengganu, Malaysia. Tropical Biomedicine. 2010;27(3):632–8.
10. Tangkanakul W, Tharmaphornpil P, Plikaytis BD, Bragg S, Poonsuksombat D, Choomkasien P, et al. Risk factors associated with leptospirosis in Northeastern Thailand, 1998. Am J Trop Med Hyg. 2000;63(3,4):204–8.
11. Trueba G, Zapata S, Madrid K, Cullen P, Haake D. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. International Microbiology. 2004;7:35–40.
12. Barcellos C and Sabroza PC. The place behind the case: leptospirosis risks and associated environmental conditions in a flood-related outbreak in Rio de Janeiro. Cad Saude Publica. Rio de Janeiro. 2001;17(Suplemento):59-67.
13. Zhang Y, Lou XL, Yang HL, Guo XK, Zhang XY, He P, et al. Establishment of a leptospirosis model in guinea pigs using an epicutaneous inoculations route. BMC Infectious Diseases. 2012;12:20.
14. Widoyono. Penyakit tropis epidemiologi, penularan, pencegahan dan pemberantasannya. Jakarta: Penerbit Erlangga; 2008.

