

## **Leptospirosis pada Tikus Endemis Sulawesi (Rodentia: Muridae) dan Potensi Penularannya Antar Tikus dari Provinsi Sulawesi Selatan**

### ***Leptospirosis in Endemic Rats of Sulawesi (Rodentia: Muridae) and Its Potential Transmission Among Rats from South Sulawesi Province***

Aryo Ardanto<sup>1\*</sup>, Bernadus Yuliadi<sup>1</sup>, Ika Martiningsih<sup>1</sup>, Dimas Bagus Wicaksono Putro<sup>1</sup>, Arum Sih Joharina<sup>1</sup>, Anis Nurwidayati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit  
Jl. Hasanudin No.123 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia

<sup>2</sup>Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Donggala  
Jl. Masitudju No. 58 Desa Labuan Panimba, Kecamatan Labuan, Kabupaten Donggala,  
Sulawesi Tengah, Indonesia

\*E\_mail: aryo.ardanto@gmail.com

*Received date: 01-08-2018, Revised date: 27-11-2018, Accepted date: 29-11-2018*

#### **ABSTRAK**

Leptospirosis merupakan penyakit zoonosis disebabkan bakteri *Leptospira* patogenik dan berpotensi menyebabkan kematian pada manusia. Tikus sebagai reservoir utama *Leptospira* kebanyakan diteliti di kawasan perkotaan atau pedesaan di sekitar permukiman. Sebaliknya, penelitian leptospirosis pada tikus endemis jumlahnya sedikit. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis tikus endemis Sulawesi sebagai reservoir *Leptospira* di Kabupaten Bulukumba, Pangkep dan Luwu Timur. Penelitian ini merupakan bagian dari Rikhus Vektora tahun 2017 dengan menggunakan perangkap hidup untuk menangkap tikus di enam ekosistem berbeda pada tiap kabupaten. Seluruh tikus tertangkap diidentifikasi secara morfologis yang selanjutnya diuji *Microscopic Agglutination Test* (MAT) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasilnya diperoleh berbagai tikus endemis seperti *Rattus marmosurus*, *Rattus hoffmanni*, *Bunomys chrysocomus*, *Bunomys andrewsi* dan *Bunomys coelestis* terinfeksi leptospirosis. Hasil penelitian menunjukkan catatan baru beberapa jenis tikus endemis Sulawesi terinfeksi leptospirosis. Kondisi ini perlu diwaspadai karena terdapat potensi penularan leptospirosis di habitat hutan dari tikus endemis tersebut.

**Kata kunci:** leptospirosis, tikus endemis, Sulawesi, *microscopic agglutination test*, *polymerase chain reaction*

#### **ABSTRACT**

*Leptospirosis is zoonotic disease which caused by pathogenic Leptospira bacteria and potentially causing death in human. Rat, as main reservoir of Leptospira, had been most studied in urban or rural areas around the settlement of community. In contrast, leptospirosis studies in endemic rat were still limited. This study was aimed to identify endemic rat species of Sulawesi as reservoir of Leptospira in some regencies of South Sulawesi Province namely Bulukumba, Pangkep and East Luwu. This study was a part of Rikhus Vektora in 2017 by using live traps to catch rats in six various ecosystem types each regency. All caught rats were identified morphologically and followed by examinations using Microscopic Agglutination Test and Polymerase Chain Reaction. The result showed various endemic rats such as Rattus marmosurus, Rattus hoffmanni, Bunomys chrysocomus, Bunomys andrewsi and Bunomys coelestis were infected with leptospirosis. This study also showed new record of some endemic rat species were infected with leptospirosis. It is important to rise awareness of leptospirosis transmission in the forest habitat by the endemic rats.*

**Keywords:** leptospirosis, endemic rat, Sulawesi, *microscopic agglutination test*, *polymerase chain reaction*

#### **PENDAHULUAN**

Sulawesi merupakan pulau terbesar dan mungkin tertua di zona Wallacea, terletak pada pertemuan dari tiga lempeng utama. Akibat evolusi tektonik, topografi dan kondisi alam di area tersebut mempengaruhi keanekaragaman

fauna di dalamnya sehingga Sulawesi dihuni kombinasi elemen fauna dari tiga area berbeda, yaitu Sahul (Australia dan New Guinea), Sunda (Kalimantan, Jawa dan Sumatra) dan mungkin Filipina.<sup>1-4</sup> Hal tersebut berdampak besar pada tingkat biodiversitas dan

endemisitas mamalia non terbang yang terdistribusi di pulau ini, sehingga menjadi salah satu lokasi dengan tingkat endemisitas tertinggi di dunia hingga lebih dari 90%, mayoritas jenis berasal dari suku Muridae (tikus).<sup>5-7</sup>

Suku Muridae meliputi lebih dari 30% jenis mamalia di Sulawesi.<sup>3</sup> Paling tidak terdapat 53 jenis tikus endemis di Sulawesi.<sup>8,9</sup> Jumlah jenis tikus endemis tersebut berpotensi terus bertambah disebabkan belum sepenuhnya alam Sulawesi dieksplorasi dan ditemukannya jenis tikus baru di Sulawesi melalui ekspedisi penelitian teraktual dan analisis lanjut spesimen tikus tersimpan.<sup>3,8-11</sup>

Sulawesi, seperti wilayah lain di Asia Tenggara mengalami deforestasi yang terus meningkat akibat perubahan tata guna lahan.<sup>6</sup> Hal tersebut mengakibatkan kerusakan ekosistem dan habitat fauna terutama tikus, berdampak pada respon berbeda tiap jenis tikus terhadap perubahan struktur habitat dan berujung pada perubahan distribusi tikus serta peningkatan risiko penularan penyakit yang dibawanya.<sup>12-14</sup> Diantara banyak penyakit yang dibawa oleh tikus, salah satu terpenting adalah leptospirosis.<sup>15,16</sup>

Leptospirosis merupakan penyakit zoonosis dengan manifestasi klinis yang beragam pada manusia dan dapat menyebabkan kematian. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri patogen dari marga *Leptospira*.<sup>16-18</sup> Selain pada tikus, bakteri *Leptospira* juga ditemukan pada hampir seluruh mamalia dan bertindak sebagai hewan karier bakteri ini dengan cara berkoloni di ginjal hewan karier dan dikeluarkan melalui urin yang selanjutnya mencemari lingkungan.<sup>17-19</sup> Tikus sendiri merupakan reservoir utama yang menularkan leptospirosis pada manusia karena mengekskresikan bakteri *Leptospira* dalam waktu lama dan konsentrasi tinggi di urinnya tanpa mengalami gejala klinis.<sup>16-18,20</sup> Penularan leptospirosis melalui tikus perlu diwaspadai karena tikus dapat beradaptasi di berbagai tipe iklim dan kondisi ekstrim serta ruang gerak yang luas, meliputi lingkungan perumahan, pasar, daerah

berawa, padang alang-alang, kebun dan pinggiran hutan.<sup>21</sup>

Menurut laporan Kementerian Kesehatan RI Sulawesi Selatan merupakan salah satu Provinsi di Indonesia yang pernah mengalami kejadian leptospirosis pada manusia di tahun 2005, 2006, 2007 dan 2010, namun belum ada laporan lagi pada tahun berikutnya.<sup>22,23</sup> Kabupaten dan kota di Provinsi Sulawesi Selatan yang mengalami kejadian leptospirosis adalah Kota Makassar, Kabupaten Maros, Gowa dan Pinrang,<sup>24,25</sup> akan tetapi belum ada laporan kejadian dari kabupaten dan kota lain di Provinsi Sulawesi Selatan.

Laporan temuan infeksi leptospirosis pada tikus di Pulau Sulawesi, salah satunya adalah penelitian leptospirosis pada tikus di tiga kabupaten di Sulawesi Tengah.<sup>21</sup> Keragaman tikus di Sulawesi yang tinggi dan belum dieksplorasinya Sulawesi secara keseluruhan mengakibatkan distribusi tikus di Sulawesi sebagai reservoir *Leptospira* belum sepenuhnya diketahui. Penelitian leptospirosis tikus selama ini masih fokus pada tikus di daerah urban dan rural yang dekat dengan permukiman manusia.<sup>26</sup> Terdapat kemungkinan tikus selain tikus sinantropik, terutama tikus endemis yang menjadi reservoir *Leptospira*. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis-jenis tikus endemis Sulawesi yang berpotensi sebagai reservoir *Leptospira* di berbagai ekosistem di Kabupaten Bulukumba, Pangkep dan Luwu Timur di Provinsi Sulawesi Selatan dan mengidentifikasi pola penyebaran leptospirosis antar tikus.

## METODE

Penelitian ini merupakan bagian dari Riset Khusus Vektor dan Reservoir Penyakit (Rikhus Vektora) tahun 2017 dengan jenis penelitian observasional deskriptif menggunakan rancangan studi potong lintang. Penelitian dilakukan pada bulan Mei-Juni 2017 di tiga kabupaten di Provinsi Sulawesi Selatan, yaitu Bulukumba, Pangkep (Pangkajene dan Kepulauan) dan Luwu Timur. Penangkapan tikus di tiap kabupaten dilakukan pada enam

ekosistem berbeda, yaitu hutan dekat permukiman (HDP), hutan jauh permukiman (HJP), non hutan dekat permukiman (NHDP), non hutan jauh permukiman (NHJP), pantai dekat permukiman (PDP) dan pantai jauh permukiman (PJP).

Penangkapan tikus di tiap ekosistem menggunakan *single live trap* ukuran 12 x 12 x 28 cm sebanyak 100 buah. Lokasi pemasangan perangkap dicatat koordinatnya dengan menggunakan alat *Global Positioning System* (GPS) merk *Garmin Monterra*<sup>®</sup>. Pemasangan perangkap dilakukan mulai pukul 14.00-17.00. Pengambilan tikus dalam perangkap dilakukan mulai pukul 06.00 keesokan harinya. Tikus tertangkap dimasukkan dalam kantung belacu dan dibawa ke laboratorium lapangan untuk dilakukan pengolahan sampel dan identifikasi. Pemasangan perangkap dilakukan selama dua malam di tiap ekosistem.

Pengolahan sampel tikus di lapangan meliputi pengambilan darah melalui jantung. Setelah itu dilakukan sentrifuge pada darah untuk mendapatkan serum yang selanjutnya digunakan untuk pemeriksaan serologis. Organ ginjal diambil dua buah tiap ekor yang selanjutnya digunakan untuk pemeriksaan molekular. Seluruh langkah-langkah di lapangan mengacu pada buku panduan pengumpulan data tikus Rikhus Vektora.<sup>27</sup>

Tikus diidentifikasi di lapangan dengan melihat karakteristik morfologi dan morfometrinya. Karakter morfologi meliputi warna dan jenis rambut, warna ekor, sisik dan rambut pada ekor. Karakter morfometri meliputi berat badan, Panjang total, Panjang ekor, Panjang telapak kaki belakang, Panjang telinga, Panjang tengkorak dan jumlah puting susu pada tikus betina. Hasil pengukuran dan pengamatan dicocokkan dengan kunci identifikasi tikus pada suplemen reservoir.<sup>28</sup> Selanjutnya hasil identifikasi tikus di lapangan dilakukan konfirmasi ulang dan identifikasi kembali jenis tikus di Laboratorium Referensi Reservoir, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) dengan kunci identifikasi tikus Sulawesi dari berbagai referensi.<sup>9,29-31</sup>

Pemeriksaan serologis dan biomolekular dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, B2P2VRP. Pemeriksaan serologis menggunakan metode *Microscopic Agglutination Test* (MAT)<sup>32</sup> dengan 15 serovar (*Bangkinang, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Hardjo, Hebdomadis, Pomona, Djasiman, Robinsoni, Bataviae, Mini, Sarmin, Manhao* dan *Rama*). Hasil pemeriksaan serum tikus dianggap positif bila titer  $\geq 1:20$ .<sup>33</sup>

Pemeriksaan dengan pendekatan molekular menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) terhadap organ ginjal. Ginjal dipotong kecil dengan berat  $\pm 25$  mg dan dilakukan isolasi DNA sesuai prosedur *PureLink Genomic DNA Mini Kit* dari Invitrogen (Cat. No. K182001). Hasil isolasi DNA dilakukan pemeriksaan PCR dengan reagen *Go Taq<sup>®</sup> Green Master Mix* (Promega, Cat. # M7122) dengan primer LipL32 (*forward: 5'-ATCTCCGTTGCACTCTTTGC-3'*; *reverse: 5'-ACCATCATCATCATCGTCCA-3'*). Mesin *thermal cycler* dijalankan dengan program temperatur denaturasi 95°C selama 5 menit, amplifikasi sebanyak 35 siklus pada suhu 94°C selama 30 detik, 58°C selama 30 detik (*annealing*), dan 72°C selama 1 menit (*ekstensi*), kemudian *final extension* pada suhu 72°C selama 7 menit. Produk PCR dilihat pada gel agarose 2%. Gen *LipL32* akan membentuk pita DNA berukuran 474 bp.<sup>34</sup>

Pemetaan sebaran tikus endemis yang positif *Leptospira* dan pola penularan leptospirosis antar tikus menggunakan metode Sistem Informasi Geografis (GIS). Titik koordinat tertangkapnya tikus positif *Leptospira* yang telah ditentukan dengan alat GPS selanjutnya ditampilkan dalam peta citra dari LAPAN dengan menggunakan aplikasi *Arc GIS 10.3<sup>®</sup>* dengan menambahkan *layer buffer* daya jelajah tikus dengan radius 30 meter.<sup>35</sup>

## HASIL

Total tikus tertangkap dari tiga kabupaten adalah 260 individu, dengan jumlah tertinggi

dari ekosistem PDP dan terendah dari ekosistem HJP. Jumlah tikus tertangkap dan positif uji MAT paling banyak berasal dari Kabupaten Bulukumba. Tikus positif *Leptospira* dengan uji PCR terbanyak di Kabupaten Pangkep (Tabel 1). Seluruh tikus tertangkap di tiga kabupaten terdiri dari 3 marga (*Bunomys*, *Maxomys* dan *Rattus*) dengan 17 spesies (Tabel 2-4).

Hasil uji MAT terhadap serum tikus di Kabupaten Bulukumba menunjukkan *R. marmosurus* terinfeksi *Leptospira* serovar *Icterohaemorrhagiae* dan *Djasiman* dalam satu individu di HDP, *B. chrysocomus* dan *R. hoffmanni* terinfeksi serovar *Grippotyphosa* di NHJP, dan *R. tanezumi* terinfeksi serovar *Icterohaemorrhagiae* di PDP. Berdasarkan hasil uji PCR, jenis tikus positif *Leptospira* di Kabupaten Bulukumba adalah *B. andrewsi* di NHJP, *R. argentiventer* di PDP dan *R. hoffmanni* di HDP dan HJP (Tabel 2).

Jenis tikus yang positif dengan uji MAT di Kabupaten Pangkep adalah *R. tanezumi* di PDP dengan serovar *Icterohaemorrhagiae* dan *Djasiman* pada dua individu berbeda. Sedangkan uji positif PCR terdapat pada jenis *R. norvegicus* di NHDP dan *R. tanezumi* di ekosistem HDP, NHDP dan PDP (Tabel 3).

Pada Kabupaten Luwu Timur terdapat satu individu tikus yang terdeteksi positif MAT yaitu *B. coelestis* pada ekosistem HDP dengan serovar *Djasiman*. Hasil positif PCR antara lain pada jenis *R. exulans* dan *R. tanezumi* di ekosistem HDP dan *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* di ekosistem PDP (Tabel 4).

Jenis tikus endemis Sulawesi yang tertangkap di daerah penelitian antara lain *B. andrewsi*, *B. coelestis*, *B. chrysocomus*, *B. fratrorum*, *B. penitus*, *M. musschenbroekii*, *M. wattsi*, *R. dammermani*, *R. hoffmanni*, *R. koopmani* dan *R. marmosurus*. Dari berbagai jenis tikus endemis tersebut, tikus positif dengan uji MAT maupun PCR adalah *R. marmosurus* (HDP Bulukumba), *R. hoffmanni* (HDP, HJP dan NHJP Bulukumba), *B. chrysocomus* (NHJP Bulukumba), *B. andrewsi* (NHJP Bulukumba) dan *B. coelestis* (HDP Luwu Timur).

Ekosistem HDP Bulukumba diperoleh dua individu tikus terinfeksi leptospirosis dengan jenis yang berbeda yaitu *R. marmosurus* (Rm-01) positif MAT dengan serovar *Icterohaemorrhagiae* dan *Djasiman* dan *R. hoffmanni* (Rh-01) positif uji PCR. Keduanya tertangkap pada habitat hutan sekunder. Jarak lokasi tertangkapnya antara kedua individu tersebut 72 m, sehingga *buffer* area jelajah tikus tersebut tidak tumpang tindih (Gambar 1).

Pada ekosistem NHJP Bulukumba tertangkap 3 spesies tikus positif *Leptospira*, yaitu *B. chrysocomus*, *B. andrewsi* dan *R. hoffmanni*. Seluruhnya tertangkap di habitat kebun dengan tanaman cengkih dan kopi. Dua individu tikus *B. chrysocomus* (Bch-01 dan Bch-02) a positif uji MAT dengan serovar *Grippotyphosa* tertangkap berdekatan (10 m). Sedangkan *B. andrewsi* (Ba-01) positif *Leptospira* dengan metode PCR tertangkap dengan jarak 21 m arah timur dari lokasi tertangkapnya tikus Bch-01 dan Bch-02. Sedangkan *R. hoffmanni* (Rh-02) tertangkap dengan jarak 52 m arah tenggara dari lokasi tertangkapnya tikus Ba-01. Tikus Bch-01 dan Bch-02 tertangkap berdekatan dan *buffer* area jelajah keduanya tumpang tindih dengan infeksi serovar yang sama. Jarak antara Ba-01 positif PCR dengan tikus seropositif di sekitarnya (Bsc-01, Bsc-02 dan Rh-02) berdekatan dan *buffer* area jelajahnya tumpang tindih (Gambar 2).

Ekosistem HDP Luwu Timur merupakan lokasi tertangkapnya *B. coelestis* yang terdeteksi seropositif serovar *Djasiman* bersamaan dengan jenis tikus sinantropik yang positif *Leptospira* dengan metode PCR, seperti *R. exulans* dan *R. tanezumi*. Tikus *B. coelestis* (Bco-01) dan *R. tanezumi* (Rt-01) tertangkap pada habitat yang sama yaitu hutan campuran dengan jarak keduanya 95 m. Terdapat dua individu tikus *R. tanezumi* (Rt-02 dan Rt-03) yang tertangkap berdekatan (25 m) dengan jarak 80 m timur tikus Rt-01. Tikus Rt-02 tertangkap di habitat kebun lada, sedangkan tikus Rt-03 tertangkap di pekarangan. Tikus *R. exulans* (Re-01) tertangkap dalam rumah

dengan jarak 70 m utara tikus Rt-01. Data serovar *Leptospira* yang menginfeksi tikus sinantropik positif PCR tidak tersedia. Selain itu *buffer* area jelajah tikus Bco-01 tidak

tumpang tindih dengan area jelajah tikus sinantropik di sekitarnya (Gambar 3).

Tabel 1. Jumlah Tikus Tertangkap dan Hasil Uji MAT dan PCR per Kabupaten

Kabupaten	Jumlah Positif Uji MAT dan PCR (nMAT-nPCR/N)*						Jumlah
	HDP	HJP	NHDP	HNJP	PDP	PJP	
Bulukumba	1-1/15	0-1/7	0-0/17	3-1/12	1-0/31	0-2/27	5-5/109
Pangkep	0-2/15	0-0/3	0-6/26	0-0/3	2-2/27	0-0/10	2-10/85
Luwu Timur	1-4/16	0-0/5	0-0/21	0-0/3	0-5/15	1-0/6	2-9/66
Jumlah	2-7/46	0-1/15	0-6/64	3-1/18	3-7/73	1-2/43	9-24/260

Keterangan =\* Jumlah positif MAT- jumlah positif PCR/jumlah tikus tertangkap

Tabel 2. Hasil Uji MAT dan PCR Per Jenis Tikus di Kabupaten Bulukumba

Jenis tikus	Jumlah Positif Uji MAT dan PCR (nMAT-nPCR/N)*						Jumlah
	HDP	HJP	NHDP	HNJP	PDP	PJP	
<i>B. andrewsi</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-1/3	0-0/0	0-0/0	0-1/3
<i>B. chrysocomus</i>	0-0/4	0-0/1	0-0/0	2-0/6	0-0/0	0-0/0	2-0/11
<i>B. fratorum</i>	0-0/0	0-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/1
<i>M. musschenbroekii</i>	0-0/1	0-0/2	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/3
<i>M. watzsi</i>	0-0/0	0-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/1
<i>Rattus</i> sp.	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/1	0-0/1
<i>R. argentiventer</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-2/10	0-2/10
<i>R. dammermani</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/2	0-0/2
<i>R. exulans</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/2	0-0/0	1-0/9	0-0/7	0-0/18
<i>R. hoffmanni</i>	0-1/2	0-1/2	0-0/0	1-0/2	0-0/0	0-0/0	1-2/6
<i>R. koopmani</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/2	0-0/0	0-0/0	0-0/3	0-0/5
<i>R. marmosurus</i>	1-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	1-0/1
<i>R. tanezumi</i>	0-0/7	0-0/0	0-0/13	0-0/1	1-0/22	0-0/4	1-0/47
Jumlah	1-1/15	0-1/7	0-0/17	3-1/12	1-0/31	0-2/27	5-5/109

Keterangan =\* Jumlah positif MAT -jumlah positif PCR/jumlah tikus tertangkap

Tabel 3. Hasil uji MAT dan PCR Per Jenis Tikus di Kabupaten Pangkep

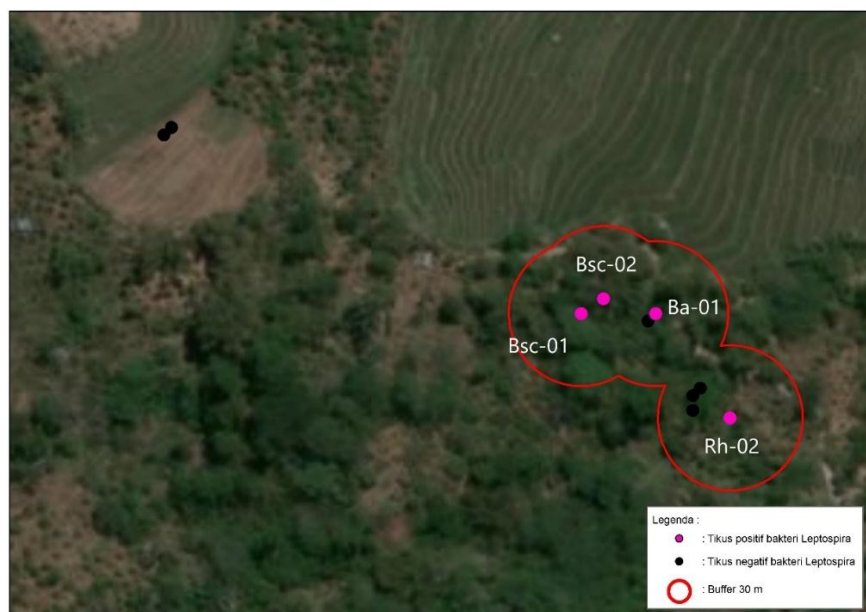
Jenis tikus	Jumlah Positif Uji MAT dan PCR (nMAT-nPCR/N)*						Jumlah
	HDP	HJP	NHDP	HNJP	PDP	PJP	
<i>B. fratorum</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/1
<i>Maxomys</i> sp.	0-0/0	0-0/1	0-0/0	0-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/2
<i>R. argentiventer</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/1	0-0/0	0-0/2	0-0/8	0-0/11
<i>R. exulans</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/3	0-0/1	0-0/1	0-0/1	0-0/6
<i>R. hoffmanni</i>	0-0/2	0-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/3
<i>R. koopmani</i>	0-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/1
<i>R. norvegicus</i>	0-0/0	0-0/0	0-5/7	0-0/0	0-0/4	0-0/0	0-5/11
<i>R. tanezumi</i>	0-2/13	0-0/1	0-1/15	0-0/0	2-2/20	0-0/1	2-5/50
Jumlah	0-2/16	0-0/3	0-6/26	0-0/3	2-2/27	0-0/10	2-10/85

Keterangan =\* Jumlah positif MAT-jumlah positif PCR/jumlah tikus tertangkap

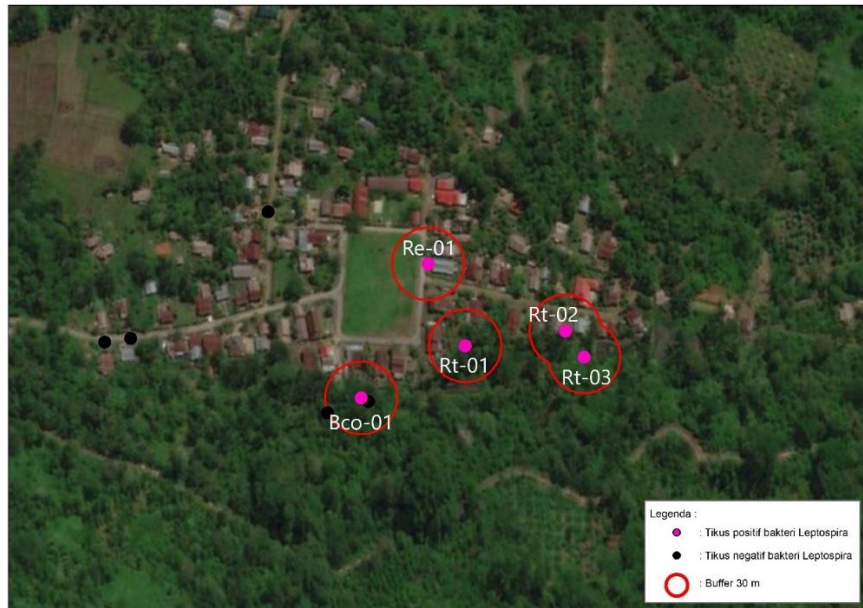
Tabel 4. Hasil Uji MAT dan PCR Per Jenis Tikus di Kabupaten Luwu Timur

Jenis tikus	Jumlah Positif Uji MAT dan PCR (nMAT-nPCR/N)*						Jumlah
	HDP	HJP	NHDP	HNJP	PDP	PJP	
<i>B. coelestis</i>	1-0/2	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	1-0/2
<i>B. chrysocomus</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/1	0-0/1
<i>B. fratorum</i>	0-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/1
<i>B. penitus</i>	0-0/0	0-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/1
<i>R. exulans</i>	0-1/1	0-0/0	0-0/2	0-0/1	0-0/2	0-0/0	0-1/6
<i>R. hoffmanni</i>	0-0/0	0-0/1	0-0/1	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/2
<i>R. koopmani</i>	0-0/3	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/3
<i>R. norvegicus</i>	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-0/0	0-2/2	0-0/1	0-2/3
<i>R. tanezumi</i>	0-3/9	0-0/3	0-0/18	0-0/2	0-3/11	1-0/4	1-6/47
Jumlah	1-4/16	0-0/5	0-0/21	0-0/3	0-5/15	1-0/6	2-9/66

Keterangan =\* Jumlah positif MAT-jumlah positif PCR/jumlah tikus tertangkap

Gambar 1. Peta Sebaran Tikus Positif *Leptospira* di Ekosistem HDP Kabupaten BulukumbaGambar 2. Peta Sebaran Tikus Positif *Leptospira* di Ekosistem NHJP Kabupaten Bulukumba





Gambar 3. Peta Sebaran Tikus Positif *Leptospira* di Ekosistem HDP Kabupaten Luwu Timur

## PEMBAHASAN

Penemuan infeksi leptospirosis pada *R. marmosurus*, *B. chrysocomus*, *B. andrewsi* dan *B. coelestis* sebelumnya belum pernah dilaporkan di dunia. Hasil penelitian ini merupakan laporan pertama kalinya infeksi leptospirosis pada tikus endemis tersebut. Sebelumnya tikus endemis Sulawesi yang pernah dilaporkan terinfeksi leptospirosis adalah *Bunomys* sp., *B. penitus*, *M. musschenbroekii* dan *R. hoffmanni* pada tiga kabupaten di Provinsi Sulawesi Tengah.<sup>21</sup>

Tikus *R. marmosurus*, *B. chrysocomus*, *B. andrewsi* dan *B. coelestis* merupakan tikus yang umum ditemukan di ekosistem hutan yang jauh dari aktivitas manusia.<sup>9,36-39</sup> *Rattus hoffmanni* selain ditemukan di hutan juga dapat ditemukan di habitat yang dekat dengan aktivitas manusia seperti semak dan perkebunan kopi.<sup>40</sup> Berdasarkan kemampuan penyebarannya tersebut *R. hoffmanni* terinfeksi berpotensi lebih besar menularkan leptospirosis pada manusia karena dapat hidup di habitat yang dekat aktivitas manusia dibandingkan tikus endemis terinfeksi yang lain.

Walaupun kebanyakan temuan leptospirosis pada tikus berada di kawasan

urban atau rural di sekitar permukiman manusia,<sup>25,41</sup> namun manusia dapat terinfeksi leptospirosis di kawasan lain yang lembab seperti ekosistem hutan. Penelitian di Thailand, Laos dan Kamboja menunjukkan leptospirosis di tikus juga terdapat pada tikus tertangkap di lokasi yang jauh dari permukiman manusia, diantaranya adalah hutan.<sup>26</sup>

Laporan penularan leptospirosis pada manusia di hutan salah satunya telah dilaporkan di hutan tropis Kepulauan Karibia.<sup>42</sup> Aktivitas manusia di hutan seperti mengumpulkan kayu, berburu dan kegiatan ekowisata meningkatkan risiko penularan leptospirosis ke manusia.<sup>26,42,43</sup> Manusia terinfeksi melalui kontak dengan air yang tercemar urin hewan terinfeksi atau kontak langsung dengan hewan reservoir.<sup>42,44,45</sup> Dalam kasus penularan di hutan, kemungkinan manusia tertular leptospirosis melalui genangan air atau sungai yang tercemar di hutan atau kontak langsung dengan hewan terinfeksi terutama saat berburu tikus. Tikus endemis merupakan sasaran perburuan dan perdagangan di Sulawesi.<sup>26,46</sup> Kontak langsung dengan tikus termasuk penyiapan tikus sebelum dikonsumsi dapat menjadi jalur penularan yang perlu diperhitungkan.<sup>26</sup>

Hasil pemeriksaan yang berbeda antara uji MAT dengan uji PCR pada masing-masing individu tikus diduga disebabkan karakteristik uji MAT dan PCR yang berbeda. Uji MAT merupakan uji serologik spesifik dengan menggunakan koleksi kultur hidup bakteri *Leptospira* dari strain tertentu sebagai antigen untuk mendeteksi antibodi dalam serum darah,<sup>47</sup> sehingga metode ini memiliki keunggulan dalam mendeteksi secara spesifik antibodi terhadap *Leptospira* hingga tingkat serovar.<sup>17</sup> Namun kemampuan deteksinya terbatas pada koleksi kultur bakteri yang tersedia, sehingga terdapat kemungkinan negatif palsu disebabkan tidak terdeteksinya strain dari kultur hidup yang tersedia.

Hasil negatif pada uji MAT serum tikus yang terdeteksi positif di uji PCR kemungkinan seropositif dengan selain 15 serovar yang tersedia. Terdapat juga kemungkinan tikus terinfeksi dengan serovar *Leptospira* endemis yang belum ditemukan hingga saat ini namun memiliki gen *LipL32* yang dapat ditemukan pada bakteri *Leptospira* patogenik. Thayaparan *et al.*<sup>48</sup> berhasil mendeteksi tikus seropositif terhadap serovar *Leptospira* endemis di Serawak, Malaysia. Selain itu hewan yang telah terinfeksi *Leptospira* tetap mengekskresikan bakteri lewat urin walaupun hasil pemeriksaan serologis negatif.<sup>49</sup>

Hasil negatif pada uji PCR serum tikus yang seropositif di uji MAT kemungkinan masih terdeteksi infeksi lama sehingga bakteri *Leptospira* telah tereliminasi dari ginjal tikus, namun antibodi terhadap bakteri tersebut masih tersisa di tubuh tikus. Hal ini serupa dengan penelitian pada tikus di Filipina yang masih mendeteksi suatu serovar melalui uji MAT tetapi tidak menemukan deteksi *Leptospira* yang sesuai dengan serovar tersebut melalui uji molekular.<sup>33</sup>

Penggunaan uji PCR dalam deteksi *Leptospira* lebih akurat dalam mendeteksi keberadaan DNA *Leptospira*.<sup>17</sup> Penggunaan gen *LipL32* sebagai primer dalam uji PCR mampu mendeteksi bakteri *Leptospira* yang bersifat patogenik.<sup>50</sup> Namun metode ini belum

mampu mendeteksi hingga tingkat serovar,<sup>45</sup> sehingga uji PCR tidak dapat berdiri sendiri untuk deteksi leptospirosis secara komprehensif.

Lokasi tikus Bch-01 dan Bch-02 di NHJP Bulukumba yang berdekatan dan terinfeksi dengan serovar yang sama mengindikasikan penularan antar tikus endemis sejenis. Sedangkan kemungkinan penularan leptospirosis antar jenis tikus endemis yang berbeda diindikasikan oleh tumpang tindihnya *buffer* area jelajah tikus endemis positif uji PCR Ba-01 dengan tikus endemis seropositif di sekitarnya (Bsc-01, Bsc-02 dan Rh-02) pada NHJP Bulukumba. Tidak tersedia data serovar yang menginfeksi tikus Ba-01, walaupun tikus di sekitarnya terinfeksi dengan serovar *Gryppytyphosa*, tidak menutup kemungkinan tikus Ba-01 terinfeksi serovar lainnya seperti *Ichterohaemorrhagiae* yang juga menginfeksi tikus Rh-02 di dekatnya.

Penularan langsung leptospirosis antar tikus terjadi melalui berbagai rute penularan. Tikus terpapar bakteri *Leptospira* melalui penularan vertikal dari induknya atau terpapar bakteri dalam sarang sebelum masa sapih. Tikus akan keluar sarang setelah masa sapih, kemudian terpapar lingkungan yang tercemar dan kontak langsung dengan tikus lainnya. Setelah dewasa kelamin, tikus memiliki risiko tambahan tertular leptospirosis melalui kontak seksual.<sup>51</sup>

Jauhnya jarak antar tikus terinfeksi leptospira dan tidak tersedianya data serovar yang menginfeksi pada tikus positif dengan uji PCR mengakibatkan tidak diketahui jalur penularan antar tikus endemis seperti pada tikus endemis seropositif Rm-01 dengan tikus endemis positif uji PCR Rh-01 pada HDP Bulukumba. Demikian pula yang terjadi pada tikus endemis seropositif Bco-01 dengan tikus sinantropik positif uji PCR di sekitarnya (Re-01, Rt-01, Rt-02 dan Rt-03) pada HDP Luwu Timur. Data kultur bakteri *Leptospira* yang berasal dari tanah dan air di sekitar tikus terinfeksi menjadi fragmen penting yang melengkapi data jalur penularan antar jenis tikus, terutama di ekosistem HDP Bulukumba



dan HDP Luwu Timur yang datanya tidak lengkap. Penularan leptospirosis dapat terjadi secara tidak langsung melalui urin hewan terinfeksi yang mencemari lingkungan.<sup>17</sup> Bakteri *Leptospira* mampu bertahan hidup hingga beberapa bulan di genangan air,<sup>52</sup> sedangkan pada tanah lembab bakteri ini dapat bertahan sedikitnya tiga pekan.<sup>44</sup>

Potensi tikus endemis tertular leptospirosis dari hewan selain tikus dapat terjadi, terutama yang habitatnya dekat dengan habitat tikus, seperti kelelawar.<sup>53-55</sup> Dugaan penularan antara kelelawar dengan tikus terjadi karena temuan *Leptospira interrogans* dan *Leptospira borgpetersenii* yang umum beredar pada tikus, juga ditemukan pada kelelawar.<sup>54,56</sup> Dari laporan tersebut terdapat kemungkinan tikus endemis Sulawesi juga dapat tertular leptospirosis dari urin kelelawar terinfeksi yang bersarang di dekat habitatnya, namun sampai saat ini belum pernah dilakukan penelitian sejenis pada kelelawar di dekat habitat tikus endemis Sulawesi.

## KESIMPULAN

Lima tikus endemis Sulawesi tertangkap di daerah penelitian terinfeksi leptospirosis dengan uji MAT maupun PCR. Kelima jenis tikus itu adalah *R. marmosurus*, *R. hoffmanni*, *B. chrysocomus*, *B. andrewsi* dan *B. coelestis*. Dari lima jenis tikus tersebut *R. marmosurus*, *B. chrysocomus*, *B. andrewsi* dan *B. coelestis* pertama kali terkonfirmasi positif *Leptospira*. Penularan langsung antar tikus endemis sejenis terjadi pada *B. chrysocomus* di NHJP Bulukumba, sedangkan kemungkinan penularan antar tikus endemis jenis berbeda terjadi pada *B. andrewsi* dengan *B. chrysocomus* dan *R. hoffmanni* di NHJP Bulukumba.

## SARAN

Analisis lanjut berupa kultur bakteri *Leptospira* di tanah dan permukaan air diperlukan untuk membuktikan pencemaran urin tikus yang terinfeksi leptospirosis di lingkungan ditemukannya tikus endemis Sulawesi yang terinfeksi. Perlunya surveilans

pada manusia yang beraktivitas di hutan dan masyarakat sekitarnya tempat tikus endemis terdeteksi leptospirosis. Perlunya edukasi kepada masyarakat, terutama pekerja di hutan dan seluruh pihak yang terlibat dalam perdagangan tikus sebagai bahan konsumsi untuk menggunakan alat pelindung diri ketika bekerja untuk menghindari penularan leptospirosis melalui kontak langsung dengan tikus maupun lingkungan yang tercemar urin hewan yang terinfeksi. Analisis penularan leptospirosis dari kelelawar ke tikus endemis yang habitatnya di sekitar sarang kelelawar diperlukan untuk mengetahui rute penularan dari kelelawar ke tikus endemis di daerah penelitian.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Badan Litbangkes atas pendanaan penelitian. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan, Dinas Kesehatan di Kabupaten Bulukumba, Pangkep dan Luwu Timur, kepada koordinator lapangan Muh. Fauzan, SKM, MPH, penanggung jawab teknis Hayani Anastasia, SKM, MPH dan tim pengumpul data reservoir ditiga kabupaten tersebut atas semua bantuannya sehingga penelitian dapat berjalan dengan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Moss SJ, Wilson MEJ. Biogeographic implications of the tertiary palaeogeographic evolution of Sulawesi and Borneo. *Biogeogr Geol Evol SE Asia*. 1998;(April):133-63.
2. Stelbrink B, Albrecht C, Hall R, von Rintelen T. The biogeography of Sulawesi revisited: Is there evidence for a vicariant origin of taxa on Wallace's "anomalous island"? *2012;66(7):2252-71*. doi: 10.1111/j.1558-5646.2012.01588.x.
3. Rowe KC, Achmadi AS, Esselstyn JA. Convergent evolution of aquatic foraging in a new genus and species (Rodentia: Muridae) from Sulawesi Island, Indonesia. *Zootaxa*. 2014;3815(4):541-64. doi: 10.11646/zootaxa.3815.4.5.

4. Eldridge RA, Achmadi AS, Giarla TC, Rowe KC, Esselstyn JA. Geographic isolation and elevational gradients promote diversification in an endemic shrew on Sulawesi. *Mol Phylogenet Evol* [Internet]. Elsevier; 2018;118(August 2017):306–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2017.09.018>.
5. Groves CP. Mammals in Sulawesi: Where did they come from and when, and what happened to them when they got there? In: Metcalfe I, Smith JMB, Morwood M, Davidson I, editors. *Faunal and Floral Migrations in SE Asia-Australasia*. Lisse, Abingdon, Exton, Tokyo: A.A. Balkema Publishers; 2001. p. 333–42.
6. Clough Y, Abrahamczyk S, Adams M, Ariyanti N, Betz L, Buchori D, et al. Biodiversity pattern and trophic interactions in human-dominated tropical landscapes in Sulawesi (Indonesia): plants, arthropods and vertebrates. In: Tschardt T, Leuschner C, Veldkamp E, Faust H, editors. *Tropical Rainforests and Agroforests under Global Change: Ecological and Socio-economic Valuations* [Internet]. Springer; 2010. p. 15–71. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-00493-3>.
7. Lohman DJ, de Bruyn M, Page T, von Rintelen K, Hall R, Ng PKL, et al. Biogeography of the Indo-Australian Archipelago. *Annu Rev Ecol Evol Syst* [Internet]. 2011;42(1):205–26. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145001>.
8. Mortelliti A, Castiglia R, Amori G, Maryanto I, Musser GG. A new species of *Margaretamys* (Rodentia: Muridae: Murinae: Rattini) from Pegunungan Mekongga, Southeastern Sulawesi, Indonesia. *Trop Zool*. 2012;25(2):74–107. doi: 10.1080/03946975.2012.696439.
9. Musser GG. A systematic review of Sulawesi *Bunomys* (Muridae, Murinae) with the description of two new species. *Bull Am Museum Nat Hist*. 2014;392(1):1–313. doi: 10.1206/863.1
10. Esselstyn JA, Achmadi AS, Rowe KC. Evolutionary novelty in a rat with no molars. *Biol Lett* [Internet]. 2012;8(6):990–3. Available from: <http://rsbl.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rsbl.2012.0574>.
11. Esselstyn JA, Achmadi AS, Handika H, Rowe KC. A hog-nosed shrew rat (Rodentia: Muridae) from Sulawesi Island, Indonesia. *J Mammal*. 2015;96(5):895–907. doi: 10.1093/jmammal/gyv093.
12. Suzán G, Armién A, Mills JN, Marcé E, Ceballos G, Ávila M, et al. Epidemiological considerations of rodent community composition in fragmented landscapes in Panama. *J Mammal* [Internet]. 2008;89(3):684–90. Available from: <https://academic.oup.com/jmammal/article-lookup/doi/10.1644/07-MAMM-A-015R1.1>
13. Lambin EF, Tran A, Vanwambeke SO, Linard C, Soti V. Pathogenic landscapes: interactions between land, people, disease vectors, and their animal hosts. *Int J Health Geogr*. 2010;9(5):1–13. doi: 10.1186/1476-072X-9-54.
14. Morand S, Bordes F, Blasdel K, Pilosof S, Cornu JF, Chaisiri K, et al. Assessing the distribution of disease-bearing rodents in human-modified tropical landscapes. *Journal of Applied Ecology*. 2015;52:784–94. doi: 10.1111/1365-2664.12414.
15. Athanzio DA, Silva EF, Santos CS, Rocha GM, Vannier-Santos MA, McBride AJA, et al. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. *Acta Trop*. 2008;105(2):176–80. doi: 10.1016/j.actatropica.2007.10.012.
16. Loan HK, Van Cuong N, Takhampunya R, Kiet BT, Campbell J, Them LN, et al. How important are rats as vectors of leptospirosis in the Mekong Delta of Vietnam? *Vector-Borne Zoonotic Dis* [Internet]. 2015;15(1):56–64. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/vbz.2014.1613>
17. Adler B, de la Pena Moctezuma A. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet Microbiol*. 2010;140(3):287–96. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.03.012.
18. Evangelista K, Coburn J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Futur Microbiol*. 2010;5(9):1413–25. doi: 10.2217/fmb.10.102.
19. Petrakovsky J, Bianchi A, Fisun H, Nájera-Aguilar P, Pereira MM. Animal leptospirosis

- in Latin America and the Caribbean countries: Reported outbreaks and literature review (2002–2014). *Int J Environ Res Public Health*. 2014;11(10):10770–89. doi: 10.3390/ijerph111010770.
20. Rahim A, Yudhastuti R. Pemetaan dan Analisis faktor risiko lingkungan kejadian leptospirosis berbasis sistem informasi geografis (SIG) di Kabupaten Sampang. *J Kesehat Lingkung*. 2015;8(1):48–56.
  21. Widjajanti W, Anastasia H, Rosmini, Veridiana NN, Yuana WT. Kewaspadaan dini kasus leptospirosis di Provinsi Sulawesi Tengah. *Vektora*. 2017;9(2):59–68.
  22. Kementerian Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia 2010. Jakarta; 2011.
  23. Kementerian Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2011. Jakarta; 2012.
  24. Ningsih DS, Rahmawati, Dewi DI. Kewaspadaan dini kejadian leptospirosis di Desa Selandaka Kecamatan Sumpiuh Kabupaten Banyumas tahun 2013. *BALABA*. 2014;10(01):15–20.
  25. Ningsih DP, Sholichah Z. Kajian reservoir *Leptospira* di daerah sporadis leptospirosis Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah. *J MKMI [Internet]*. 2018;14(1):61–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.30597/mkmi.v14i1.3716>.
  26. Cosson JF, Picardeau M, Mielcarek M, Tataru C, Chaval Y, Suputtamongkol Y, et al. Epidemiology of *Leptospira* transmitted by rodents in Southeast Asia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(6). doi: 10.1371/journal.pntd.0002902.
  27. B2P2VRP. Riset Khusus Vektor dan Reservoir Penyakit: pedoman pengumpulan data reservoir (tikus) di lapangan [Internet]. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2015. 122 p. Available from: <http://www.b2p2vrp.litbang.kemkes.go.id/publikasi/download/61>
  28. B2P2VRP. Suplemen Reservoir: Tikus dan Kelelawar Indonesia. 2nd ed. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan kesehatan; 2017. 126 p.
  29. Corbet GB, Hill JE. The Mammals of the Indomalayan Region: A systematic Review. Vol. 9, Oxford University. Oxford: Oxford University; 1992. 488 p.
  30. Musser GG, Durden LA. Morphological and geographic definitions of the Sulawesi shrew rats *Echiothrix leucura* and *E. centrosa* (Muridae, Murinae), and description of a new species of sucking louse (Phthiraptera: Anoplura). *Bull Am Museum Nat Hist*. 2014;871(1):1–87. Available from: <https://doi.org/10.1206/871.1>.
  31. Aplin KP, Brown PR, Jacob J, Krebs CJ, Singleton GR. Field methods for rodent studies in Asia and the Indo-Pacific. Field methods for rodent studies in Asia and the Indo-Pacific. Canberra: Australian Centre for International Research; 2003. 213 p.
  32. Vijayachari P, Sharma S, Natarajaseenivasan K. Laboratory Diagnosis. In: Vijayachari P, editor. *Leptospirosis: Laboratory Manual*. Port Blair: World Health Organization; 2007. p. 27–45.
  33. Villanueva SYAM, Ezoë H, Baterna RA, Yanagihara Y, Muto M, Koizumi N, et al. Serologic and molecular studies of *Leptospira* and leptospirosis among rats in the Philippines. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;82(5):889–98. doi: 10.4269/ajtmh.2010.09-0711.
  34. Ahmed N, Manjulata Devi S, de los Á Valverde M, Vijayachari P, Machang'u RS, Ellis WA, et al. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2006;5(28):1–10. doi: 10.1186/1476-0711-5-28.
  35. Sholichah Z, Rahmawati. Sebaran infeksi *Leptospira* patogenik pada tikus dan ceurut di daerah pasca banjir Kabupaten Pati dan Endemis Boyolali. *BALABA*. 2017;13(2):173–82.
  36. Ruedas L, Lunde D, Musser G. *Bunomys coelestis* [Internet]. Vol. e.T3329A97, The IUCN Red List of Threatened Species. 2008 [cited 2018 Jun 20]. p. 1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T3329A9768365.en>.
  37. Aplin K. *Rattus marmosurus* [Internet]. Vol. e.T19345A2, The IUCN Red List of Threatened Species 2016. 2016 [cited 2018 Jun 20]. p. 1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T19345A22442822.en>.

38. Cassola F. *Bunomys chrysocomus* [Internet]. Vol. e.T3328A22, The IUCN Red List of Threatened Species 2016. 2016 [cited 2018 Jun 20]. p. 1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T3328A22451795.en>.
39. Cassola F. *Bunomys andrewsi* [Internet]. Vol. e.T3327A22, The IUCN Red List of Threatened Species. 2016 [cited 2018 Jun 20]. p. 1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T3327A22451886.en>.
40. Cassola F. *Rattus hoffmanni* [Internet]. Vol. e.T19335A2, The IUCN Red List of Threatened Species 2016. 2016 [cited 2018 Jun 20]. p. 1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T19335A22441732.en>.
41. de Faria MT, Calderwood MS, Athanzio DA, McBride AJA, Hartskeerl RA, Pereira MM, et al. Carriage of *Leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. *Acta Trop*. 2008;108(1):1-5. doi: 10.1016/j.actatropica.2008.07.005.
42. Hochedez P, Rosine J, Théodose R, Abel S, Bourhy P, Picardeau M, et al. Outbreak of leptospirosis after a race in the tropical forest of martinique. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;84(4):621–6. doi: 10.4269/ajtmh.2011.10-0502.
43. Kawaguchi L, Sengkeopraseuth B, Tsuyuoka R, Koizumi N, Akashi H. Seroprevalence of leptospirosis and risk factor analysis in flood-prone rural areas in Lao PDR. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;78(6):957–61.
44. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(2):296–326.
45. Haake DA, Levett PN. Leptospirosis in humans. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015;387:65–97. doi: 10.1007/978-3-662-45059-8\_5.
46. Lee RJ, Gorog AJ, Dwiyahreni A, Siwu S, Riley J, Alexander H, et al. Wildlife trade and implications for law enforcement in Indonesia : a case study from North Sulawesi. *Biol Conserv*. 2005;123(4):477–88.
47. Cerqueira GM, Picardeau M. A century of *Leptospira* strain typing. *Infect Genet Evol*. 2009;9(5):760–8.
48. Thayaparan S, Robertson IAN, Amraan F, Su'ut L, Abdullah MT. Serological prevalence of leptospiral infection in wildlife in Sarawak, Malaysia. *Borneo J Resour Sci Technol*. 2013;2:71–4.
49. Cox TE, Smythe LD, Leung LK-P. Flying foxes as carriers of pathogenic *Leptospira* species. *J Wildl Dis*. 2005;41(4):753–7.
50. Levett PN, Morey RE, Galloway RL, Turner DE, Steigerwalt AG, Mayer LW. Detection of pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. *J Med Microbiol*. 2005;54(1):45–9.
51. Minter A, Diggle PJ, Costa F, Childs J, Ko AI, Begon M. Evidence of multiple intraspecific transmission routes for *Leptospira* acquisition in Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Epidemiol Infect*. 2017;145(16):3438–48. doi: 10.1017/S0950268817002539.
52. Rejeki DSS, Nurlaela S, Octaviana D. Pemetaan dan Analisis Faktor Risiko Leptospirosis. *J Kesehat Masy Nas*. 2013;8(4):179–86.
53. Smythe LD, Field HE, Barnett LJ, Smith CS, Dohnt MF, Symonds ML, et al. Leptospiral antibodies in flying foxes in Australia. *J Wildl Dis*. 2002;38(1):182–6. doi: 10.7589/0090-3558-38.1.182
54. Matthias MA, Díaz MM, Campos KJ, Calderon M, Willig MR, Pacheco V, et al. Diversity of bat-associated *Leptospira* in the Peruvian Amazon inferred by bayesian phylogenetic analysis of 16S ribosomal DNA sequences. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;73(5):964–74.
55. Tulsiani SM, Cobbold RN, Graham GC, Dohnt MF, Burns M, Leung LK-P, et al. The role of fruit bats in the transmission of pathogenic leptospires in Australia. *Ann Trop Med Parasitol*. 2011;105(1):71–84.
56. Lagadec E, Gomard Y, Guernier V, Dietrich M, Pascalis H, Temmam S, et al. Pathogenic *Leptospira* spp. in bats, Madagascar and union of the comoros. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(10):1696–8. doi: 10.3201/eid1810.111898.