

Pembelian Ternak dan Kelembaban Tinggi Merupakan Faktor Risiko Leptospirosis pada Sapi di Girimulyo, Kulon Progo, Jogjakarta

*(PURCHASE OF CATTLE AND HIGH HUMIDITY WERE
RISK FACTORS OF BOVINE LEPTOSPIROSIS
IN GIRIMULYO, KULON PROGO DISTRICT)*

Guntari Titik Mulyani¹, Bambang Sumiarto², Yuriati³

¹Bagian Ilmu Penyakit Dalam, ²Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
Jln Fauna No 2, Karang Malang, Jogjakarta
Email : guntarititkulyani@yahoo.com, telp 08122721264

³ Pusat Kesehatan Hewan, Kecamatan Girimulyo, Kabupaten Kulonprogo, Jogjakarta

ABSTRAK

Leptospirosis adalah penyakit infeksi akut yang dapat menyerang manusia dan hewan. Angka kematian pada manusia di Indonesia mencapai 2,5–16,5%. Leptospirosis pada tahun 2011 telah menyerang 274 warga Kabupaten Kulon Progo, yang menewaskan 18 orang dan Kulon Progo ditetapkan sebagai daerah Kejadian Luar Biasa (KLB). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui faktor-faktor yang berpengaruh terhadap kejadian leptospirosis pada sapi di daerah KLB. Dalam penelitian ini digunakan 132 sampel darah sapi. Metode pemeriksaan dengan *Micro Agglutination Test* (MAT) yang dilakukan di Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor. Uji MAT dilakukan dengan membuat enceran serum dengan *Phosphate Buffer Saline* secara bertingkat kemudian ditambahkan antigen yang berupa kultur leptospira dari berbagai serovar. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 28-30°C selama dua jam, dan dilakukan pembacaan hasil di bawah mikroskop medan gelap/fase kontras. Titik akhir pembacaan adalah 50% aglutinasi, enceran akhir tertinggi serum dalam campuran serum-antigen yang menunjukkan 50% aglutinasi disebut titer. Serum dengan titer 1:100 atau lebih terhadap salah satu serovar atau lebih dinyatakan positif. Hasil uji MAT merupakan variabel dependen (Y), sedangkan variabel independen (X) adalah faktor peternak, faktor ternak, faktor kandang, dan faktor pakan. Analisis univariat dilakukan untuk melihat secara deskriptif masing-masing variabel yang diteliti. Analisis bivariat dengan *Chi Square* dilakukan untuk melihat asosiasi kejadian leptospirosis dengan faktor penyebab. Analisis multivariat *Logistic Regression* digunakan untuk membangun model penyakit leptospirosis untuk menyidik faktor risiko penyebab leptospirosis. Variabel yang berpengaruh terhadap kejadian leptospirosis, diukur besar risikonya dengan *Odds Ratio* (OR). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kejadian leptospirosis pada sapi di Kecamatan Girimulyo, Kabupaten Kulon Progo sebesar 7,6%. Faktor risiko kejadian leptospirosis diketahui dipengaruhi oleh faktor ternak yang dibeli dengan OR 5,5 dan faktor kelembaban yang tinggi dengan OR 1,7. Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa infeksi leptospirosis pada sapi cukup tinggi (7,6%) pada daerah *human leptospirosis*, walaupun kemungkinan sapi sebagai sumber infeksi pada manusia masih memerlukan penelitian lanjutan.

Kata-kata kunci : leptospirosis, Girimulyo, Kulon Progo, MAT, faktor risiko

ABSTRACT

Leptospirosis is an acute infectious disease could to attack humans and animals such as dogs, cats, cows, pigs, and wild animals such as rats, weasels and squirrels. The death rate of human leptospirosis in Indonesia reached 2.5 to 16.5%. Leptospirosis attacked approximately 274 residents, 18 fatalities at Kulonprogo disctrict, and designated as Extraordinary Events in 2011. The purpose of this reasearch is to determine risk factors affecting the prevalence of leptospirosis in cattle in the area of human leptospirosis in Girimulyo, Kulon Progo. This study used 132 samples of cattle blood. Methods of examination with *Micro Agglutination Test* (MAT) conducted at the Center for Veterinary Research, Bogor. *Micro Agglutination Test* is done by creating a serum dilution with PBS in stages then added antigen in the form of various

cultures leptospira serovar. Subsequently incubated at 28-30 ° C for 2 hours, and was reading the results under a microscope dark field / phase contrast. Endpoint reading was 50% agglutination, highest final serum dilution in serum-antigen mixtures that showed 50% agglutination is called the titer. Serum with a titer of 1:100 or more against one or more tested positive for serovar. Micro Agglutination Test result was the dependent variable (Y), while the independent variables (X) were factors of farmers, animal factors, enclosure factors, and feed factors. Univariate analysis was done to see descriptively each variable studied. Association between the prevalence of leptospirosis and risk factors was analyzed by Chi Square. Multivariate Logistic Regression Analysis was used to build models of leptospirosis disease to investigate the risk factors associated with leptospirosis. Variables that influence the prevalence of leptospirosis were measured magnitude of association by Odd Ratio. The results of study that the prevalence of bovine leptospirosis in Girimulyo subdistrict, Kulonprogo district was 7.6%. Risk factors for the prevalence of leptospirosis in cattle in Girimulyo subdistrict, Kulonprogo district were livestock purchased factor (OR 5.49) and a high humidity factor (OR 1.65). These results can be concluded that leptospirosis infection in cattle is high (7.6%) in the area of human leptospirosis. The possibility cattle as a source of infection in humans still needs further research.

Keywords : leptospirosis, Girimulyo, Kulon Progo, MAT, risk factors

PENDAHULUAN

Leptospirosis adalah penyakit infeksi akut yang dapat menyerang manusia maupun hewan (zoonosis). Penyakit ini sangat penting dan ditemukan hampir di seluruh dunia terutama di belahan bumi beriklim tropis dan subtropis. Leptospirosis disebabkan oleh genus *Leptospira*, famili *Leptospiraceae*, ordo *Spirochaetales* (Yersin *et al.*, 1999).

Kejadian leptospirosis dijumpai sepanjang tahun di negara tropis yang memiliki udara hangat, tanah lembab, dan pH alkalis. Kejadian leptospirosis di negara beriklim tropis lebih banyak 1000 kali dengan risiko penyakit lebih berat dan angka insidensi di negara tropik basah 5-20/100.000 penduduk per tahun.

Selama tahun 2011, leptospirosis telah menyerang sekitar 274 warga Kabupaten Kulon Progo, dan 18 orang di antaranya meninggal dunia. *Leptospira* telah menyerang 40 orang penduduk di Kecamatan Girimulyo dan satu di antaranya meninggal dunia.

Leptospirosis pertama kali ditemukan menginfeksi pada hewan dan manusia. Rodensia merupakan karier utama dari leptospira dan menjadi sumber penularan bagi manusia, sedangkan beberapa insekta, karnivora, dan ruminansia dapat terjangkit leptospirosis dan menjadi sumber infeksi bagi manusia (Levett, 2001). *Leptospira* hidup di ginjal dan air kemih hewan reservoir. Manusia dapat terinfeksi bakteri leptospira karena kontak dengan air atau tanah yang terkontaminasi oleh urin atau cairan tubuh lainnya dari hewan yang menderita leptospirosis. *Leptospira* masuk melewati kulit yang terluka atau membran mukosa. *Leptospira* yang masuk tubuh akan

bermultiplikasi dan menyebar melalui aliran darah, selanjutnya akan merusak dinding pembuluh darah kecil sehingga menimbulkan ekstrasvasasi sel dan perdarahan. (Bharadwaj *et al.*, 2002).

Kasus leptospirosis pada sapi terbanyak disebabkan oleh infeksi leptospira sub tipe *hardjo* dan *pomona*. Sapi mengalami demam, anoreksia, *dispnoea* karena kongesti paru, ikterus, hemoglobinuria, dan anemia hemolitik. Morbiditas dan mortalitas pada pedet jauh lebih tinggi dari pada sapi dewasa (Bolin, 2001). Penularan penyakit dapat langsung maupun tidak langsung. Hewan yang menjadi sumber penularan leptospira adalah tikus, babi, sapi, kambing, domba, kuda, anjing, kucing, serangga, burung, dan isekta. Penularan tidak langsung melalui kulit pada area yang terkontaminasi dengan urin penderita. Penularan dengan cara tidak langsung biasanya terjadi pada para petani, pekerja selokan, tentara yang sering berhubungan dengan lingkungan yang basah (WHO, 2003).

Kondisi iklim di Indonesia dengan intensitas hujan yang cukup tinggi memiliki potensi terjadinya penularan leptospirosis. Lingkungan optimal untuk hidup dan berkembangbiakan leptospira ialah pada suasana lembab, suhu sekitar 25°C, serta pH mendekati netral (pH sekitar 7). Kondisi yang demikian merupakan keadaan yang selalu dijumpai di negeri-negeri tropik sepanjang tahun. *Leptospira* pada situasi tersebut dapat tahan hidup sampai berminggu-minggu (Vijayachari *et al.*, 2008).

Ada berbagai teknik laboratorium yang dapat digunakan untuk mendiagnosis penyakit leptospirosis, salah satunya adalah *Micro Agglutination Test* (MAT). Uji MAT merupakan

uji leptospirosis terbaik dan dipakai di dunia secara luas pada saat ini karena memiliki kepekaan dan akurasi yang tinggi, namun demikian uji MAT membutuhkan sejumlah antigen yang mewakili semua serogroup yang diketahui ada di daerah yang bersangkutan (Ellis *et al.*, 1986). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui faktor risiko leptospirosis pada sapi di daerah *human leptospirosis* di Kecamatan Girimulyo, Kabupaten Kulon Progo, Jogjakarta.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan sapi potong sebagai objek penelitian, dan beberapa serovar leptospira untuk uji *Micro Agglutination Test*. Penelitian dilakukan pada bulan November 2011. Jumlah sampel yang digunakan dihitung dengan rumus $n=4PQ/L^2$ (Martin *et al.*, 1989) dengan asumsi prevalensi sebesar 0,1. Sampel dikoleksi dari semua sapi di empat dusun terpilih di Kecamatan Girimulyo.

Sebanyak 5 mL sampel darah dari 132 ekor sapi di Dusun Krikil, Kel. Pendoworejo, Kec. Girimulyo diambil menggunakan tabung *venoject* tanpa antikoagulan dan dipisahkan untuk diambil serumnya. Prosedur pemeriksaan MAT diawali dengan mengisi 96 sumuran pada *microtiter plate* dengan 0,05 mL enceran serum dengan PBS dengan perbandingan 1:25, 1:50, 1:100, 1:400, 1:1600, kemudian ditambahkan 0,05 mL antigen yang berupa kultur leptospira dari berbagai serovar yaitu serovar *Ichtenohaemorrhagiae*, *Javanica*, *Celledoni*, *Ballum*, *Pyogenes*, *Cynopeteri*, *Rachmati*, *Australis*, *Pomona*, *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Bataviae*, *Hardjo*, *Tarrasovi* dengan kepadatan $1-2 \times 10^8$ per mL. Selanjutnya *microtiter plate* diinkubasi pada suhu 28-30°C selama dua jam. Pembacaan hasil dilakukan di bawah mikroskop medan gelap/fase kontras. Titik akhir pembacaan adalah 50% aglutinasi atau 50% leptospira yang tidak teraglutinasi. Pembacaan akhir tertinggi serum, dalam campuran serum-antigen yang menunjukkan 50% aglutinasi disebut titer. Serum dengan titer 1:100 atau lebih terhadap salah satu serovar atau lebih dinyatakan positif (BBPV, 2012).

Data faktor risiko diambil dengan wawancara, pengamatan dan pemeriksaan sampel peternak, ternak, pakan, dan kandang. Data dependen adalah hasil pemeriksaan MAT. Data independen meliputi : (a) Data peternak yaitu : pekerjaan, pendidikan, pengetahuan

tentang leptospirosis; (b) Data ternak yaitu : umur, seks, ras, kondisi ternak, asal, *Body Condition Score* (BCS), digembalakan, dipekerjakan, dimandikan di telaga/sungai; (c) Data pakan yaitu: jenis pakan, adanya tikus di sawah dan gudang, tempat pemberian pakan dan sumber air minum; dan (d) Data kandang meliputi : bentuk kandang, adanya umbaran, lantai kandang, kebersihan kandang, kelembaban, suhu kandang, adanya ternak lain dalam kandang, jarak kandang dan tempat pembuangan limbah, adanya drainase, adanya pengolahan limbah, dan adanya tikus dalam kandang.

Analisis univariat digunakan untuk mengetahui deskripsi variabel peternak, ternak, pakan dan kandang. Analisis bivariat dengan uji *Chi-Square* dilakukan untuk mengetahui asosiasi antara penyakit dengan faktor penyebab. Analisis multivariat *Logistik Regression* digunakan untuk membangun model penyakit leptospirosis untuk menyidik faktor risiko penyebab leptospirosis. Semua data dianalisis dengan menggunakan program *SX Statistix 4,0* (Siegel, 1992). Variabel yang berpengaruh terhadap kejadian leptospirosis, diukur besarnya risiko dengan *Odd Ratio*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan klinis terhadap 132 sapi sampel, menunjukkan hewan 100% dalam kondisi sehat. Dari MAT yang telah dilakukan terhadap sapi di Dusun Krikil, Desa Pendoworejo, Kecamatan Girimulyo, diperoleh hasil seperti disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Prevalensi kejadian leptospirosis di tingkat ternak dan peternak di Kecamatan Girimulyo, Kabupaten Kulon Progo.

	Jumlah sampel	Prevalensi
Ternak	132	7,6%
Peternak	64	14,1%

Hasil analisis univariat (Tabel 2) terhadap variabel peternak, ternak, pakan, dan kandang sapi potong di Girimulyo, Kabupaten Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta yang diduga menjadi faktor risiko kejadian leptospirosis menunjukkan bahwa sebagian besar sapi potong yang diambil sampelnya adalah sapi umur

dewasa (49,2%), jenis kelamin betina (97,7%), kondisi tubuh sedang (90,2%) dan merupakan sapi silangan (44,7%) antara sapi limosin dan peranakan ongole (Limpo) ataupun silangan sapi simental dengan peranakan ongole (Simp). Sebagian besar sapi bukan anakan sendiri/membeli (59,1%), tidak digembalakan (97,9%), dan tidak dimandikan di sungai (82,6%). Sebagian besar sapi potong di Pendoworejo, Girimulyo diberikan pakan konsentrat, jerami, dan rumput (65,9%), air minum dari sumur (51,5%), dan makan pada tempat pakan permanen (89,4%). Sebagian besar kandang berlantai permanen (91,1%), bersih (66,9%), memiliki drainase (82,6%), kelembaban 50-56% (68,1%) dan suhu di atas 30°C (78,1%) serta terdapat tikus 1-5 ekor (57,6%). Jarak kandang dengan pembuangan limbah kurang dari 5 meter (55,3%), dan sebagian besar kotoran tidak diolah (68,2%).

Hasil analisis univariat memberikan gambaran bahwa peternakan di Girimulyo merupakan peternakan rakyat yang masih perlu dikembangkan. Hal ini tergambar dari latar belakang peternak (pendidikan dan

pengetahuannya kurang), dan manajemen peternakan yang masih tradisional (belum adanya upaya untuk meningkatkan kualitas pakan, maupun pencegahan penyakit).

Analisis bivariat dengan *Chi-Square* dilakukan untuk semua variabel independen terhadap variabel dependen guna mengetahui ada tidaknya asosiasi antar keduanya. Hasil analisis ini diperoleh variabel independen yang menunjukkan adanya asosiasi dengan variabel dependen pada tingkat signifikansi 90% ($p < 0,1$), yaitu variabel ternak dibeli ($p = 0,0679$), hewan yang berumur di atas 5 tahun ($p = 0,0825$), peternak berpendidikan SD (0,0628) dan kelembaban ($p = 0,0607$). Dari hasil penelitian ini tampak bahwa terdapat hubungan antara kejadian leptospirosis dan faktor umur sapi yang lebih dari 5 tahun. Hal ini berbeda dengan Miller *et al.*, (1991) yang menjelaskan bahwa sapi muda lebih peka terhadap leptospirosis dari pada sapi dewasa. Kemungkinan hal ini terjadi karena memang populasi pedet di Girimulyo sangat sedikit (dua ekor sebagai sampel), sedangkan kondisi sapi yang lebih tua memiliki kekebalan tubuh yang telah menurun.

Tabel 2. Frekuensi distribusi variabel peternak, ternak, pakan, dan kandang sapi potong di Girimulyo, Kabupaten Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta.

No	Nama Variabel	Keterangan	Hasil
1	Pekerjaan	Pekerjaan pemilik ternak	Petani = 93,9%
2	Pendidikan	Pendidikan pemilik ternak	Sekolah Dasar = 41,7%
3	Tahu lepto	Pengetahuan tentang leptospirosis	Tahu = 42,9%
4	Ras	Ras sapi	Silangan = 44,7%
5	Seks	Jenis kelamin sapi	Betina = 97,7%
6	Umur	2-5th = dewasa, dan	Dewasa = 49,2%
7	<i>Body condition score</i>	Kondisi tubuh	Sedang = 90,2%
8	Asal	Asal sapi	Beli = 59,1%
9	Kerja	Sapi dipekerjakan	Tidak = 97,9%
10	Gembala	Sapi digembalakan	Tidak = 97,9%
11	Mandi	Sapi mandi di sungai	Tidak = 82,6%
12	Pakan	Jenis pakan yang diberikan	Konsentrat, Rumut, Jerami = 65,9%
13	Minum	Sumber air minum	Sumur = 51,5%
14	Tempat pakan	Tempat pakan tersedia	Permanen = 87,2%
15	Lantai	Lantai kandang	Permanen = 84,1%
16	Kebersihan	Kebersihan kandang	Bersih = 66,9%
17	Drainase	Adanya drainase	Ada = 54,2%
18	Kelembaban	Kelembaban kandang	>50% = 68,1%
19	Suhu	Suhu kandang	> 30°C = 78,1%
20	Tikus kandang	Jumlah tikus di kandang	1-5 ekor = 56,4%
21	Jarak	Jarak dengan pembuangan limbah	<5 meter = 55,3%
22	Olah feses	Pengolahan limbah	Tidak ada = 52,3%

Leptospirosis adalah penyakit terkait air atau *water-related diseases*. Kondisi lingkungan dengan kelembaban tinggi, terlebih dengan intensitas hujan yang cukup tinggi memiliki potensi terjadinya penularan leptospirosis (WHO, 2003).

Faktor variabel independen yang berasosiasi dengan faktor dependen, dilakukan analisis *Logistic Regression* pada $p < 0,05$. Hasil akhir analisis regresi memberikan hasil model : $\ln \{p/(1-p)\} = -30,3265 + 1,70331 \text{ beli} + 0,49941 \text{ lembab}$.

Dari model yang diperoleh menunjukkan bahwa kemungkinan pengaruh terbesar leptospirosis pada sapi potong secara berurutan adalah sapi yang dibeli atau bukan anakan sendiri (1,70331) dan kelembaban udara yang tinggi (0,49941). Menurut Sasaki *et al.*, (1993) peranan hewan dalam penyebaran leptospirosis sangat potensial. Leptospirosis yang agak ringan biasanya berasal dari sapi yang terinfeksi serovar *hardjo*. Diarmita *et al.*, (2006) melaporkan bahwa 33% sapi bali yang diangkut dari Pulau Lombok ke Kalimantan positif terjangkit leptospirosis.

Sumber penularan utama leptospira adalah ekskresi dari tubulus ginjal yang keluar bersama urin hewan (WHO, 2003). Penularan dapat langsung maupun tidak langsung. Penularan secara langsung terjadi ketika leptospira dari jaringan, cairan tubuh dan urin masuk ke dalam tubuh inang baru dan menginisiasi infeksi. Penularan tidak langsung melalui kulit pada area yang terkontaminasi dengan urin penderita. Hewan yang menjadi sumber penularan leptospira adalah tikus, babi, sapi, kambing, domba, kuda, anjing, kucing, serangga, burung, dan isekta. Transmisi leptospira dapat dicegah dengan mencegah kontak dengan urin hewan, hewan terinfeksi, maupun lingkungan terinfeksi (WHO, 2003).

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) mengategorikan leptospirosis sebagai penyakit terkait air. Kondisi iklim di Indonesia dengan intensitas hujan yang cukup tinggi memiliki potensi terjadinya penularan leptospirosis. Leptospira mampu bertahan hidup berbulan-bulan dalam lingkungan yang lembab, apalagi dalam udara agak panas (22-32°C) dengan pH netral (6,2-8,0). Menurut Vijayachari *et al.*, (2008) lingkungan optimal untuk hidup dan berkembangbiaknya leptospira ialah pada suasana lembab, suhu sekitar 25°C, serta pH mendekati neutral (pH sekitar 7). Kondisi yang demikian merupakan keadaan yang selalu

dijumpai di negeri-negeri tropis sepanjang tahun. Kasus leptospirosis jauh lebih banyak ditemukan di daerah beriklim tropis dengan risiko penyakit yang lebih berat (Levett, 2001).

Dari analisis *logistic regression* didapatkan *Odd Ratio* dari variabel yang berpengaruh. Hasil *Odd Ratio* memberikan gambaran bahwa risiko terjadinya leptospirosis pada sapi yang dibeli (bukan anakan sendiri) 5,49 kali. Hal ini berarti bahwa jika peternak memelihara sapi dengan membeli, maka peluang terkena leptospirosis lebih besar 5,49 kali dibanding sapi anakan sendiri (baik melalui kawin alami ataupun kawin suntik/inseminasi buatan). Scott-Orr *et al.*, (1980) melaporkan bahwa 37% sapi perah di Jawa Barat, Jawa Timur, Kalimantan Selatan, dan Sulawesi Utara positif leptospirosis. Kusmiyati *et al.*, (2005) melaporkan prevalensi leptospirosis tahun 2002 sebesar 24,65%, tahun 2003 sebesar 7,41%, dan tahun 2004 sebesar 17,38%. Sapi yang menderita leptospirosis merupakan reservoir yang menjadi sumber penularan. Pindahan sapi sebagai reservoir dalam proses jual beli akan meningkatkan penularan leptospirosis.

Kandang lembab memungkinkan sapi terkena leptospirosis 1,65 kali dari pada kandang yang tidak lembab. Leptospira dapat hidup dalam air dan alam terbuka seperti ladang dan sawah yang panas dan lembab. Kelembaban udara berkisar antara 76-90% merupakan kondisi paling disukai leptospira (WHO, 2003).

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa : prevalensi leptospirosis pada sapi di Kecamatan Girimulyo, Kabupaten Kulon Progo sebesar 7,6%. Faktor risiko kejadian leptospirosis pada sapi di kecamatan tersebut adalah asal sapi yang dibeli dan kondisi kandang yang lembab.

SARAN

Risiko kejadian leptospirosis pada sapi di Kecamatan Girimulyo, Kabupaten Kulon Progo dapat dikurangi dengan melakukan pengawasan ketat terhadap pemasukan sapi dari daerah lain dan menurunkan kelembaban kandang dengan peningkatan manajemen kandang. Kemungkinan sapi sebagai sumber infeksi pada manusia perlu penelitian lanjutan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara berkat dukungan drh. Rr. Endang Purwaningrum, Kepala Dinas Kelautan, Perikanan dan Peternakan Kabupaten Kulon Progo dan dr. Baning, Dinas Kesehatan Kabupaten Kulon Progo. Untuk itu diucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Balai Besar Penelitian Veteriner. 2012. Pemeriksaan Leptospirosis secara Laboratoris. Laboratorium Leptospira Balai Penelitian Veteriner, Bogor : 1-6.
- Bharadwaj L, Bal AM, Joshi SA, Kagal A. 2002. Leptospirosis in Human. *India Jpn J Imect Dis* 55 : 194-196
- Bolin CA, Alt DP. 2001. Use of Monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shadding in cattle exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo. *Am J Vet Res* 62(7) : 995-1000.
- Diarmita IK, Wasito HR, Indarjulianto S. 2006. Prepalensi Leptospirosis pada Sapi Bibit di Pulau Lombok. *Agrosain* 19 (3) : 259-269.
- Ellis WA, Obrein JJ, Nell SO, Bryson DG. 1986. Bovine leptospirosis: experimental serovar hardjo infection. *Vet Microbiol* 11 : 293-299.
- Kusmiyati, Susan MN, Supar. 2005. Leptospirosis pada Hewan dan Manusia di Indonesia. *Wartazoa* 15 (4) :213-220.
- Levett NP. 2001. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 14(2) : 296-326.
- Martin SW, AH Meek, P Willeberg. 1987. *Veterinary Epidemiology. Principles and Methods*. 1st ed. Ames. Iowa State University Press. P32
- Miller DA, Wilson MA, Beran GW. 1991. Relationships between prevalence of *Leptospira interrogans* in cattle, and regional, climatic, and seasonal factors. *Am J Vet Res* 52 : 1766-1768.
- Sasaki DM, Pang L, Minette HP, Wakida CK, Fujimoto WJ, Manea SJ, Kunioka R, Middleton CR. 1993. Active Suveillance and Risk Factor for Leptospirosis in Hawaii. *Am J Trop Med Hyg* 48(1) : 35-43.
- Scott-Orr H, Darodjat M, Acidijati J. 1980. Kejadian Leptospirosis dan Brucellosis pada temak di Indonesia. Risalah (Proc.) Seminar Penyakit reproduksi dan unggas . Tugu, Bogor, 13-15 Maret 1980. LPP:II-Puslitbangnak, Deptan : 31-57.
- Siegel. 1992. Statistix Analytical Software Version 4.0 User's Manual.
- Vijayachari P, Sugunan AP, Shriram AN. 2008. Leptospirosis : An Emerging Global Public Health Problems. *J Biosci* 33(4) : 557-569
- WHO ILS. 2003. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, surveillance and control. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, Malta. 51.
- Yersin C, Bovet P, Merien F, Wong T, Panawsky J, Perolat P. 1999. Human leptospirosis in Seychelles (Indiana Ocean) a population-based study. *Am J Trop Med Htg* 59 : 933-940.