

IDENTIFIKASI TEMUAN KONTAK POSITIF KASUS KEJADIAN LUAR BIASA DIFTERIA DI DKI JAKARTA

IDENTIFICATION OF POSITIVE CONTACTS FINDINGS OF DIPHTHERIA OUTBREAKS IN JAKARTA

Kambang Sariadji*, Rudi HP, Sunarno, Subangkit, Sundari, Novi Amalia

Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kemenkes RI, Jl. Percetakan Negara No. 29 Jakarta, Indonesia

*Korespondensi penulis: kambang_sar@yahoo.com

Submitted : 03-05-2013; Revised : 12-11-2013; Accepted : 13-11-2013

Abstrak

Rendahnya cakupan imunisasi dasar di DKI Jakarta ini menyebabkan kekhawatiran timbulnya penyakit yang dapat dicegah dengan imunisasi (PD3I) dimana salah satunya adalah difteri. Kejadian difteri yang dilaporkan ini terjadi di daerah Kelurahan Bangka, Kecamatan Mampang Prapatan, Jakarta Selatan pada bulan Desember 2012, dilaporkan adanya kasus dengan diagnosis klinis difteri pada anak perempuan usia 4 tahun. Karena anak tersebut meninggal maka dilakukan pengambilan sampel swab tenggorok terhadap 11 orang kontak yang terdiri dari teman, anggota keluarga dan tetangga. Tujuan penelitian untuk mengidentifikasi kontak positif kasus kejadian luar biasa difteria yang terjadi di Jakarta. 11 spesimen kontak swab tenggorok dilakukan pemeriksaan secara mikroskopik dengan pewarnaan Albert. Kultur dan isolasi menggunakan medium agar darah dan telurit agar darah. Koloni tersangka dilanjutkan dengan uji biokimia menggunakan produk komersial remel Rapid CB Plus. Uji toksigenitas dilakukan dengan PCR multiplex. Dari 11 spesimen kontak, didapatkan 1 kontak dari lingkungan keluarga terinfeksi *C.diphtheriae*. Pemeriksaan mikroskopis ditemukan bentuk difteroid. Hasil kultur, isolasi dan uji biokimia menunjukkan possibility > 99,9% adalah bakteri *Corynebacterium diphtheriae*. Sementara uji toksigenitas *Corynebacterium diphtheriae* dilakukan menggunakan PCR multiplex. Hasilnya bakteri tersebut toksigenik yang ditandai dengan terbentuk produk amplifikasi dari gen *dtx* (tox) dan *dtxR* sehingga tampak garis pada 141 bp dan 184 bp. Kesimpulan yang didapat dari 11 kontak yang diambil spesimen swab tenggorok ditemukan 1 kontak dari kalangan keluarga terdekat positif terinfeksi *C.diphtheriae* tipe mitis toksigenik

Kata Kunci : *Corynebacterium diphtheriae*, Kultur dan Isolasi, Uji Biokimia

Abstract

The low coverage of basic immunization causes concern of outbreaks some immunizable prevented diseases in Jakarta. One of them is diphtheria. It was reported incidence of diphtheria suspect in Bangka, Mampang Prapatan, South Jakarta in December 2012. A suspect of 4 years old girl was reported with a clinical diagnosis of diphtheria and died. The suspect specimen can not be taken, hence the the throat swab samples were taken to 11 contact patients consisting of friends, family members and neighbors. The objective of this research is to identify positive contact of diphtheria outbreaks occurred in Jakarta. 11 specimens of throat swab are stained by albert method using microscopic. The bacteria are isolated and cultured by using blood jelly and telurit blood jelly. The suspect colonies are examined by biochemical tests using commercial products Remel Rapid CB Plus. The toxigenic test of bacteria was performed by using multiplex PCR. Direct microscopic by using a staining Albert was found 1 difteroid form of 11 throat swab samples. Further test of samples contact, one sample was positif *C.diphtheriae* originated from the family's suspect. The biochemical test results of *C.diphtheriae* with possibility > 99.9%. The result toxigenic of bacteria are characterized by amplification of the gene product formed *dtx* (tox) and *dtxR* in which appears line at 141 base pairs and 184 base pairs. Conclusion from the research only one positive contact is joined *C.diphtheriae* type mitis toxigenic out of 11 specimens were taken from throat swab.

Key words : *Corynebacterium diphtheriae*, Culture and Isolation, Biochemical test

Pendahuluan

Difteria adalah suatu penyakit infeksi bakteri akut yang disebabkan oleh *Corynebacterium diphtheria* dari biotipe *gravis*, *mitis* atau *intermedius*. Penyakit diberi nama serupa dengan bakteri penyebabnya. Bakteri ini terutama menyerang tonsil, faring, laring, hidung, adakalanya menyerang selaput lendir atau kulit serta kadang-kadang konjungtiva atau vagina. Timbulnya lesi yang khas disebabkan oleh cytotoxin spesifik yang dilepas oleh bakteri. Lesi nampak sebagai suatu membran asimetrik keabu-abuan yang dikelilingi dengan daerah inflamasi. Tenggorokan terasa sakit, sekalipun pada difteria faucial atau pada difteria faringotonsiler, diikuti dengan kelenjar limfe yang membesar dan melunak. Pada kasus-kasus yang sedang dan berat ditandai dengan pembengkakan dan oedema di leher dengan pembentukan membran pada trachea secara ekstensif dan dapat terjadi obstruksi jalan napas.^{1,2,3}

Penyakit difteri merupakan salah satu penyakit menular yang dapat dicegah dengan imunisasi (PD3I). Sebelum era vaksinasi, toksin yang dihasilkan oleh kuman ini sering menyebabkan penyakit yang serius, bahkan dapat menimbulkan kematian. Tapi sejak vaksin difteri ditemukan dan imunisasi terhadap difteri digalakkan, jumlah kasus penyakit dan kematian akibat kuman difteri menurun dengan drastis.¹

Di Indonesia berdasarkan data Kementerian Kesehatan, pada tahun 2004 frekuensi kejadian luar biasa (KLB) difteri terjadi 34 kali dengan jumlah kasus 106 di Indonesia. Tahun 2008 ada 77 kali KLB dengan 123 kasus, termasuk di Jawa Timur dengan jumlah kasus 73. Tahun 2011, terjadi KLB di Jatim dengan 330 kasus, 11 orang meninggal awal Oktober 2011. Kejadian luar biasa (KLB) penyakit menular seperti Difteri masih sering ditemukan Indonesia. Difteri di Indonesia harusnya sudah bebas mengingat program vaksinasi diptheri telah digalakkan, namun demikian adanya satu kasus kejadian diptheri maka sudah dapat dianggap suatu keadaan KLB yang harus dan masih perhatian serius pemerintah.⁴

Riset Kesehatan Dasar tahun 2010 mencatat bahwa cakupan imunisasi dasar lengkap (BCG, Polio, DPT dan Hepatitis) di Indonesia mencapai 53,8%. Dari data tersebut provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta menempati posisi pertama dengan presentase 91,1 % sedangkan DKI Jakarta berada di posisi ke-14 dengan presentase sebesar

53,2% . Hal ini menyebabkan DKI Jakarta berada 0,6% lebih rendah dari cakupan imunisasi dasar lengkap di Indonesia.⁵

Rendahnya cakupan imunisasi dasar di DKI Jakarta ini menyebabkan kekhawatiran timbulnya penyakit PD3I dimana salah satunya adalah difteri. Seperti yang terjadi di daerah di Kelurahan Bangka, Kecamatan Mampang Prapatan pada bulan Desember 2012, dilaporkan adanya kasus difteri pada anak perempuan usia 4 tahun. Awalnya anak tersebut dibawa berobat ke Puskesmas dengan gejala demam dan mual dengan diagnosa laboratorium typhoid. Namun tidak berapa lama anak tersebut dibawa ke RS Cipto Mangunkusumo karena sesak, kesulitan bernapas, muntah dan terjadi pembengkakan di leher (*Bull neck*). Di RSCM dilakukan trakeotomi, namun pasien tidak tertolong dan spesimen belum sempat dilakukan pengambilan swab tenggorok. Diagnosa klinis mengarah pada difteri, sementara menurut informasi yang didapat bahwa pasien tersebut belum pernah ada riwayat vaksinasi DPT.⁶

Investigasi penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mengidentifikasi temuan kontak positif kasus kejadian luar biasa difteri di DKI Jakarta.

Metode

Karena tersangka pada saat kejadian pelaporan telah meninggal, maka petugas surveilans Dinkes DKI Jakarta mengambil spesimen dari kontak keluarga yang terdiri dari kakak, adik dan orang tua, tetangga serta teman terdekat yang bertempat tinggal di daerah Kelurahan Bangka, Kecamatan Mampang Prapatan, Jakarta Selatan dengan jumlah sampel sebanyak 11 swab tenggorok. Sampel swab tenggorok diambil dan disimpan dalam medium transport Amies dan di bawa langsung ke Laboratorium Bakteriologi, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan. Berikut tabel data sampel swab tenggorok yang didapat saat investigasi (tabel 1).

Tabel 1. Data Sampel Swab Tenggorok

No. Sampel	umur	Jenis Kelamin	Hubungan dengan penderita
001	3 thn	P	teman
002	12 thn	L	kakak

Lanjutan Tabel 1.

No. Sampel	umur	Jenis Kelamin	Hubungan dengan penderita
003	8 thn	P	tetangga
004	4 thn	P	teman
005	2 thn	L	tetangga
006	2 thn	P	adik
007	38 thn	P	ibu
008	42 thn	L	bapak
009	14 thn	L	kakak
010	35 thn	P	tetangga
011	68 thn	P	tetangga

Pemeriksaan laboratorium meliputi pemeriksaan kultur dan mikroskopik. Koloni tersangka diperiksa dengan tes biokimia dan tes toksigenisitas. Awalnya bakteri dikultur pada medium selektif CTBA dengan komposisi *Heart Infusion Agar* (difco) 20 gr, larutan *Potassium tellurite* 0,3 % (Merk) 75 ml, *L-Cystine* (Merk) 11 mg, dan *defibrined sheep blood* (dari Mikrobiologi FKUI) 25 ml yang dilarutkan dalam 500 ml Aquadest dengan pH akhir 7,4. Adanya koloni tersangka berupa koloni berwarna hitam dengan diameter 1-1,5 mm setelah inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37 °C divalidasi dengan pemeriksaan mikroskopik. Pewarnaan menggunakan teknik Albert mengikuti prosedur yang telah dikembangkan sebelumnya⁷ dan dibaca dibawah mikroskop dengan perbesaran 1200 x menunjukkan gambaran bentuk batang dengan pembesaran (granul) pada salah satu atau kedua ujungnya, dikenal dengan bentuk difteroid seperti yang terlihat pada gambar 1b.

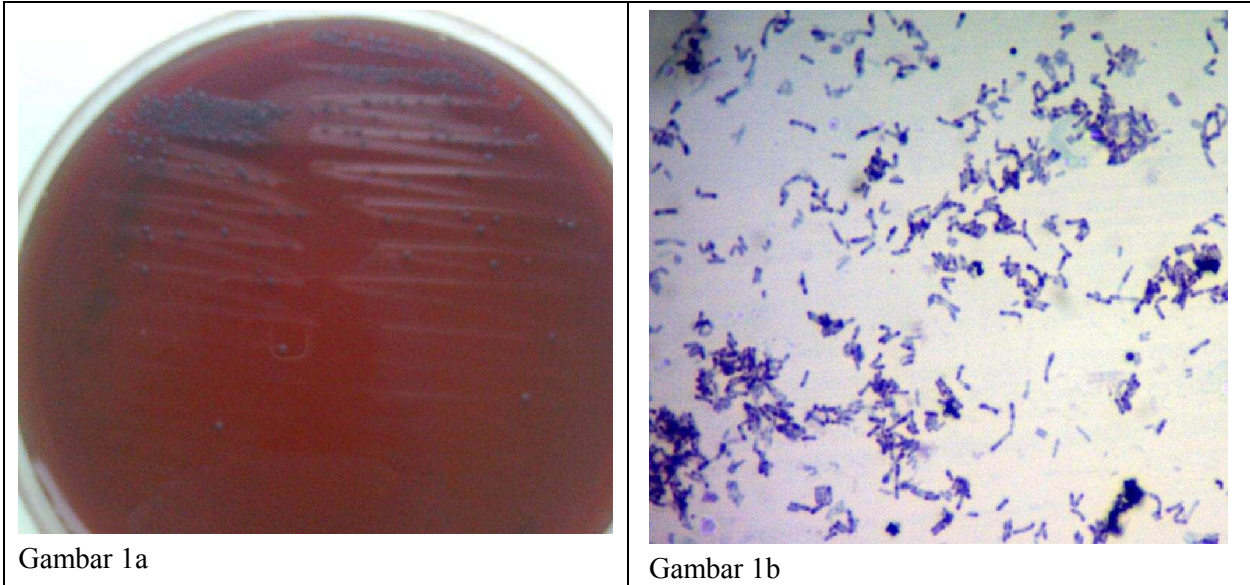
Untuk Uji Biokimia dilakukan dengan cara menginokulasikan (rekultur) koloni tersangka ke medium agar darah. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sehingga tumbuh koloni murni berwarna putih mengkilat seperti yang tampak pada gambar 2a. Uji biokimia dilakukan dengan menggunakan produk komersial *Rapid CB Plus* (remel).⁸ Hasil uji biokimia seperti yang terlihat pada gambar 2b terlihat setelah inkubasi pada suhu 37° C selama 4 jam. Hasil positif atau negatif pada masing-masing *weel* diperoleh dengan membandingkan warna setelah reaksi dengan warna standard, kemudian dicatat dan dianalisis dengan *software* ERIC. Setelah dipastikan bahwa bakteri

yang diperiksa adalah *Corynebacterium diphtheriae*, dilakukan tes toksigenisitas untuk mengetahui kemampuan bakteri mengeluarkan toksin difteri yang merupakan faktor virulensi utama bakteri tersebut.

Uji toksigenisitas dilakukan dengan pemeriksaan *Polimerase Chain Reaction* (PCR) Multipleks menggunakan 2 pasang primer (FBCO) dengan target gen *tox* (*dtx*) dan gen *dtxR*.⁹ Primer 1F: TGCCCGTATGGAGCGCGATGGACTT, 1R: TTCCAGCGGCAGGCTT CATCGT dan Primer 2F: TATGCGGCGTGGGCAGTAAACGT, 2R: GTGGT GAACGGC ACCGTCTGCAAT. Ekstraksi DNA menggunakan Qiamp DNA Mini Kit (Qiagen) mengikuti prosedur yang dikeluarkan pabrik pembuatnya. Konsentrasi dan komposisi PCR meliputi KAPA2G Fast Multiplex Mix (Kapa Biosystem) 12,5 ul, Forward primer masing-masing 0,5 ul, Reverse primer masing-masing 0,5 ul, Template DNA 3,5 ul dan Molecular Water 7 ul. Kondisi PCR adalah sebagai berikut: Initial Denaturation 95 °C selama 3 menit, Denaturation 95 °C selama 15 detik, Annealing 66 °C selama 30 detik dan Extention 72 °C selama 30 detik dengan Jumlah siklus 30 cycle menggunakan *thermal cycler* C1000 (Bioered). Produk PCR disarasi dengan elektroforesis (Bioered) pada Gel Agarose 2% yang diwarnai Gelred (Bioered) 5 ul dalam 100 ml TBE buffer (Invitrogen) 1X dengan voltase 150 volt selama 30 menit.

Hasil

Pada pemeriksaan ditemukan koloni tersangka yakni pada sampel no.002 yang berasal dari saudara/ kakak dari pasien yang meninggal karena penyakit difteria. Koloni tampak pada medium CTBA dengan karakteristik berwarna hitam, bulat, dengan diameter 1-1,5 mm. Sementara sepuluh sampel lain tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni tersangka, sehingga tidak dilakukan pemeriksaan lebih lanjut. Hasil pemeriksaan mikroskopik pada koloni tersangka sampel no.002 menemukan adanya bentuk difteroid yang merupakan ciri khas dari bakteri genus *Corynebacterium*. Hal ini diperlukan untuk memastikan bahwa bakteri yang akan diperiksa secara biokimia adalah *Corynebacterium*, bukan jenis lain. Penemuan koloni tersangka pada medium CTBA dan gambaran morfologi sel dari sampel kontak dapat dilihat pada gambar 1a dan 1b:



Gambar 1. Gambaran Morfologi Koloni Dan Morfologi Sel: Koloni Tersangka Sampel No.002 Pada Medium CTBA (1a), Bentuk Difteroid Pada Pemeriksaan Mokroskop Dengan Perbesaran 1200x (1b)

Tabel.2. Hasil Uji Biokimia Sampel No.002 Pada Masing-Masing Weel

ID Sampel	Uji Biokimia									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	GLU	SUC	RIB	MAL	aGLU	BGLU	NAG	GLY1	ONPG	PHS
002	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
	EST	PRO	TRY	PYR	LGLY	LEU	URE	NIT	CAT	
	+	+	+	-	+	+	-	+	+	

Keterangan uji biokimia :

GLU=glucosa, SUC=sucrosa, RIB=ribosa, MAL=maltosa, aGLU=p-Nitrophenyl- α Dglukosida, BGLU= p-Nitrophenyl- β D glukosida, NAG= p-Nitrophenyl-n-acetyl- β Dglukosiminide, GLY1= p-Nitrophenyl-glycoside, ONPG= o-Nitrophenyl- β D-galactoside, PHS= p-Nitrophenyl phosphate, EST=fatty acid ester, PRO=proline- β -naphtylamide, TRY= tryptophane- β -naphtylamide, PYR= pyrrolidine- β -naphtylamide, LGLY=leucyl-glycine- β -naphtylamide, LEU= leucine- β -naphtylamide, URE=urea, NIT=Potassium nitrate, CAT=catalase

Ket: - : negatif reaksi , + : positif reaksi

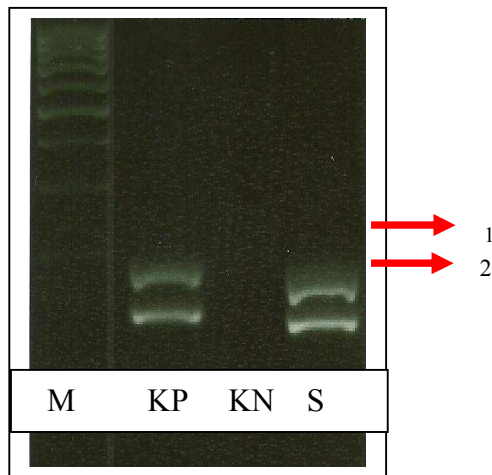
Kemudian pengujian terhadap koloni tersangka no.002 dilanjutkan dengan uji biokimia untuk mengidentifikasi spesies dari genus *Corynebacterium* yang telah teridentifikasi pada tahap sebelumnya. Pengujian biokimia ini menggunakan uji komersial *Rapid CB Plus* (remel) dengan jumlah 19 parameter pengujian seperti yang terlihat pada tabel 2. Sebelum diuji biokimia, bakteri diisolasi dan dimurnikan dengan rekultur pada agar darah. Setelah inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam tampak koloni bulat, putih kecil, dan hemolisis.

Perubahan warna akibat reaksi bakteri dengan bahan kimia yang terjadi pada masing-masing *weel* dibandingkan dengan warna standard untuk menarik kesimpulan apakah positif atau negatif seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Hasil tersebut dianalisis dengan komputer menggunakan *software* ERIC. Hasilnya, menunjukkan > 99,9 % possibility spesies *Corynebacterium diphtheriae* .

Pengujian terhadap sampel no.002 dilanjut-

kan dengan uji toksigenitas untuk menentukan toksigenitas dari bakteri *Corynebacterium diphtheriae* menggunakan PCR multipleks. Hasil pemeriksaan PCR sampel no.002 dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan :

M : Marker 1000 bp (*generuler*)

KP : Kontrol Positif

KN : Kontrol Negatif

S : Sampel no.002

1. gen *dtxR Corynebacterium diphtheriae*
Ukuran 184 bp

2. gen *dtx Corynebacterium diphtheriae*
Ukuran 141 bp

Gambar 2. Hasil Pembacaan Penggandaan Produk DNA Pada Sampel No.002 Dengan Teknik PCR

Gambar 2 menunjukkan bahwa pada sampel no.002 yang diperiksa tampak garis/pita pada 141 bp dan 184 bp, sebagaimana tampak juga pada kontrol positif. Sebaliknya pada kontrol negatif tidak satupun tampak pita. Pita pada 184 bp merupakan hasil amplifikasi gen *dtxR*, sedangkan pita 141 merupakan hasil amplifikasi gen *tox/dtx*.

Pembahasan

Pada spesimen tersangka sampel no.002 pemeriksaan mikroskopik dengan pewarnaan Albert menunjukkan gambaran *metachromatic granuls*. Pewarnaan ini dilakukan terhadap koloni tersangka yang tumbuh pada medium TCBA. Pewarnaan yang langsung dilakukan dari sampel swab tenggorok memerlukan teknik keahlian dan konsentrasi yang tinggi, karena harus membedakan juga bentuk

bakteri lainnya. Pemeriksaan mikroskopik secara langsung dari spesimen klinis tidak dianjurkan untuk menentukan diagnosis karena rawan terjadi negatif dan positif palsu. Diagnosis laboratorium tunggal secara mikroskopik tidak bisa dijadikan penentuan terhadap *Corynebacterium diphtheriae* karena ada beberapa spesies *Corynebacterium* yang bersifat flora normal mempunyai kesamaan morfologi dengan spesies *Corynebacterium* lainnya yakni bentuk difteroid. Oleh karena itu perlu dilakukan kultur, reaksi biokimia dan test toksigenitas.^{10,11,12,13,14} Hasil keseluruhan dari 11 sampel swab tenggorok, hanya satu sampel kontak keluarga yakni sampel no.002 yang menunjukkan pertumbuhan koloni tersangka, sehingga hanya sampel tersebut yang dilanjutkan dengan pemeriksaan mikroskopik, biokimia dan toksigenitas.

Setelah diisolasi pada agar darah, bakteri diidentifikasi menggunakan tes biokimia. Karakteristik biokimia dapat membedakan *C.diphtheriae* (4 sub tipe), *C.ulcerans* dan *C.pseudotuberculosis* serta *Corynebacteria* lain yang mungkin ada di tenggorok. Dalam hal ini, sediaan komersial seperti "API Coryne" dan "Rosco diagnostica" memiliki keakuratan yang tinggi,^{10,11,12} begitu juga "CB plus" yang mempunyai kelebihan karena hanya butuh waktu 4 jam untuk mendapatkan hasil, sementara yang lain perlu waktu 24 jam.⁸

Tes toksigenitas penting untuk diagnostik difteri secara mikrobiologik. Diantara semua metode yang ada untuk uji toksigenitas, PCR banyak dipilih karena cepat dan mudah diinterpretasi. Gambar 3 menunjukkan bahwa sampel yang diperiksa mempunyai gen *dtxR* sehingga tampak pita pada 184 bp. Gen *dtxR* hanya dimiliki oleh *Corynebacterium diphtheriae* sehingga bisa dijadikan penanda bakteri tersebut. Sementara itu, pita pada 141 bp menandakan bahwa sampel yang diperiksa mempunyai gen *tox/dtx*. Gen ini adalah penanda toksigenitas bakteri. Bakteri yang tidak mempunyai gen *tox* pasti tidak toksigenik dan bakteri yang mempunyai gen *tox* hampir bisa dipastikan toksigenik.^{9,15,16}

Pada kasus tersangka difteri yang meninggal ini, didapatkan laporan dari Dinas Kesehatan Jakarta bahwa status tersangka difteri ini tidak mempunyai riwayat imunisasi DPT begitu pula saudara-saudaranya, oleh karena orang tuanya beralasan adanya pengaruh yang timbul berupa panas pasca imunisasi DPT. Sementara temuan positif difteri secara laboratorium pada kontak dimana hubungan keluarganya adalah kakak dari

tersangka tidak ditemukan gejala klinis, namun keberadaan *Corynebacterium diphtheriae* yang ditemukan pada pemeriksaan laboratorium menunjukkan bukti bahwa kontak dapat menjadi karier dan dapat menjadi sumber penularan bagi anggota keluarga lainnya dan lingkungannya. Seseorang yang terinfeksi *Corynebacterium diphtheriae* dengan status adanya riwayat imunisasi DPT tidak menimbulkan gejala, atau sekalipun timbul gejala bersifat ringan.

Walaupun kasus yang positif difteri ini tidak menimbulkan gejala, akan tetapi perlu segera dilakukan pengobatan yang adekuat serta pengambilan swab tenggorok kembali 2 minggu kemudian untuk memastikan hasil pemeriksaan laboratorium negatif difteri. Perlu juga diwaspadai penularan yang terjadi ke anggota keluarga lainnya, mengingat hasil laboratorium anggota keluarga lainnya negatif difteri dimana anak-anak dari anggota keluarga tersebut tidak mempunyai riwayat vaksinasi DPT.

Melihat dari cakupan imunisasi dasar di DKI Jakarta yang masih rendah, maka perlu diwaspadai proses timbulnya serta penularan penyakit difteri dikalangan anak-anak yang belum mendapat imunisasi. Pemberian imunisasi pada seseorang hanya bersifat mencegah bukan berarti bebas dari infeksi bakteri *Corynebacterium diphtheriae*. Bakteri *Corynebacterium diphtheriae* akan tetap hidup dan akan menjadi sumber penularan bagi anak-anak yang belum pernah diimunisasi.

Kesimpulan

Kasus yang terjadi di Kelurahan Bangka, Kecamatan Mampang Prapatan, Jakarta Selatan merupakan kasus kejadian luar biasa dengan temuan kontak positif *C.diphtheriae*. Kontak ini merupakan kakak dari penderita yang meninggal karena difteria. Kontak juga tidak mempunyai riwayat Imunisasi DPT. Walaupun tidak ditemukan gejala klinis, namun keberadaan *Corynebacterium diphtheriae* ini akan berdampak menjadi karier dan dapat menjadi sumber penularan bagi anggota keluarga lainnya dan lingkungannya, sehingga perlu dilakukan pengobatan yang adekuat

Saran

Kasus ini menunjukkan pentingnya peran pemerintah untuk terus meningkatkan program cakupan imunisasi dasar yang masih rendah di DKI Jakarta, serta melakukan sosialisasi kepada

masyarakat tentang pentingnya imunisasi sejak dini. Cakupan imunisasi dasar yang tinggi juga tidak berarti menghilangkan bakteri *Corynebacterium diphtheriae*. Bakteri ini tetap masih ada dalam kondisi menunggu untuk menginfeksi anak-anak yang tanpa perlindungan antibodi dan belum mendapat imunisasi

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Drs.Ondri Dwi Sampurno, Apt,MSc. Selaku Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Kepala Surveilans Penyakit menular Dinkes DKI Jakarta dan Sudinkes Jakarta Timur. Saya juga mengucapkan terima kasih kepada kawan-kawan Laboratorium Bakteriologi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan yang telah membantu selama proses penanganan spesimen KLB difteri.

Daftar Pustaka

1. Kandun I Nyoman. Manual Pemberantasan Penyakit Menular. Dirjen P2PL Departemen Kesehatan, 2000.
2. Handayani S. Deteksi Kuman Difteri Dengan Polymerase Chain Reaction (PCR). CDK-191/ vol. 39 no. 3. 2012
3. Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran . Binarupa Aksara. 1993.
4. Ditjen PP&PL Kemenkes RI. Gambaran KLB Difteri Th 2000-2010 di Jawa Timur. 2011.
5. Balitbangkes Kemenkes RI. Riskesdas 2010
6. Sudinkes Jakarta Timur. Laporan Penyelidikan Epidemiologi Kasus KLB difteri di Kelurahan Bangka Kecamatan Mampang Prapatan. 2012
7. Albert H. Diphtheria bacillus stains with a description of A "new" one. The American Journal Of Public Health. 1919:334-337
8. Remel. Manual Inset Rapid CB Plus System.
9. Sunarno, Sariadji K, Holly Arif Wibowo. Potensi Gen *dtx* dan *dtxR* sebagai Marker dalam Metode Deteksi dan Pemeriksaan Toksigenisitas *Corynebacterium diphtheriae*. 2011.
10. Efstratiou A, George RC. Laboratory guidelines for the diagnosis of infections caused by *Corynebacterium diphtheriae* and *C. ulcerans*. Commun Dis Public Health. 1999; 2: 250-7.
11. Efstratiou A, Engler KH, Mazurova IK, Glushkevich T, Vuopio-Varkila J, and Popovic T. Current Approaches to the Laboratory Diagnosis of Diphtheria. JID. 2000;181(Suppl 1):S138-45.
12. De Zoysa A & Efstratiou A. *Corynebacterium spp*. In: Gillespie SH & Hawkey PM. Editor. Principles and Practice of Clinical bacteriology 2nd ed. 2006.

USA:John Wiley & Son, Ltd.

13. Albert H. Diphtheria bacillus stains with a description of A "new" one. The American Journal Of Public Health. 1919:334-337.
14. Elek SD. The Plate Virulence Test for Diphtheria. J. clin. Path. 1949;2:250-258.
15. Pimenta FP, Hirata R, Rosa ACP, Milagres LG and Mattos-Guaraldi AL. A multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Corynebacterium diphtheriae* and differentiation between non-toxigenic and toxigenic isolates. JMM.2008:1438-1439.
16. Efstratiou A, Engler KH, Dawes CS, and Sesardic D. Comparison of Phenotypic and Genotypic Methods for Detection of Diphtheria Toxin among Isolates of Pathogenic Corynebacteria. J.Clin.Microbiol. 1998;36(11):3173-3177.