



Profil Isolat *Corynebacterium diphtheriae* Toksigenik di Jawa Timur Tahun 2012-2017

Sugi Deny Pranoto Soegianto,* Adi Pramono Hendrata,** Eveline Irawan,**
Ismoedijanto,* Dominicus Husada*

*Departemen/Sekolah Menengah Farmasi Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/
Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo, Surabaya

**Balai Besar Laboratorium Kesehatan Daerah (BBLK), Surabaya

Abstrak

Pendahuluan: Penyakit difteri telah ditetapkan menjadi kejadian luar biasa di berbagai wilayah di Indonesia, sebagian besar kasus berasal dari Jawa Timur.

Tujuan: Mengetahui profil isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik di Jawa Timur.

Metode. Penelitian deskriptif, dilakukan 20 Agustus sampai 30 November 2018. Isolat yang diteliti dipilih secara **cluster random sampling** kemudian dilakukan uji viabilitas dan toksigenisitas di BBLK Surabaya. Isolat yang viabel dan toksigenik dilakukan analisis karakteristik.

Hasil: Penelitian ini melibatkan 114 isolat, 6 tidak viabel, 108 viabel dan toksigenik. Jenis kelamin pejamu ialah 58,3% laki-laki, 41,7% perempuan. Usia median 6,5 tahun (termuda 1 tahun, tertua 14 tahun). Mayoritas pada kelompok usia 1-5 tahun (50%) disusul 6-10 tahun (30,6%) dan 11-15 tahun (19,4%). Wilayah asal isolat didominasi dari Madura (47,2%) dan Jawa Timur tapal kuda (32,4%), sedangkan Jawa Timur bukan tapal kuda hanya 20,4%. Lokasi pengambilan sampel 74,1% dari usap tenggorok dan 25,4% dari usap hidung. Varian mitis mendominasi sejumlah 76,9%, sedangkan varian gravis hanya 23,1%.

Kesimpulan: Isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik terbanyak didapatkan pada pejamu kelompok usia 1-5 tahun, mayoritas berdomisili di Madura dan Jawa Timur tapal kuda. Isolat terutama didapat dari usap tenggorok pasien. Varian mitis mendominasi dalam penelitian ini.

Kata kunci: *Corynebacterium diphtheriae*, toksigenik, profil, Jawa Timur

Profile of Toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* Isolate in East Java, 2012-2017

Sugi Deny Pranoto Soegianto,* Adi Pramono Hendrata,**
Eveline Irawan,** Ismoedijanto,* Dominicus Husada¹

*Department of Child Health, Faculty of Medicine Universitas Airlangga/
Dr. Soetomo General Hospital, Surabaya

¹Balai Besar Laboratorium Kesehatan Daerah (BBLK), Surabaya

Abstract

Introduction: Diphtheria has been reported as an outbreak in some regions in Indonesia, most of the cases are from East Java.

Objective: To describe the profile of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* isolates in East Java.

Methods. An descriptive study from August 20th-November 30th, 2018. Isolates was selected by cluster random sampling. The viability and toxigenicity test were done in BBLK Surabaya. Viable and toxigenic isolates were done for characteristic analysis.

Result: A total of 114 isolates, 6 were non-viable, 108 were viable and toxigenic. The majority of the hosts were male (58,3%), median age 6,5-year-old (minimum 1, maximum 14-year-old), 50% from the 1-5-year-old age group. Highest origin of isolates from patients (78,7%) rather than carriers (21,3%). The most isolates from Madura (47,2%) and horseshoe area (20,4%). Most of them (74.1%) were taken from a pharyngeal swab rather than a nasal swab (25,4%). Mitis was 76,9% and gravis was 23,1%.

Conclusion: In this study, the majority of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* were found in the 1-5-year-old age group and most of them domicile in Madura and horseshoe area. Most of the isolates were taken from a pharyngeal swab of patients. Mitis was the major variant.

Keywords: *Corynebacterium diphtheriae*, toxigenic, profile, east java

Pendahuluan

Penyakit difteri telah ditetapkan menjadi kejadian luar biasa di berbagai wilayah di Indonesia saat ini. Jumlah kasus nasional telah mencapai 942 kasus pada tahun 2017 dan 460 kasus diantaranya berasal dari Jawa Timur, 37 kasus terkonfirmasi dengan hasil kultur *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik yang positif dan 16 kasus dilaporkan meninggal dunia.¹ Data WHO menunjukkan 4500 sampai 5500 kasus dilaporkan setiap tahun diseluruh dunia pada tahun 2011 sampai 2013. Mayoritas kasus terjadi di India dan Indonesia.²

BBLK Surabaya telah melakukan penyimpanan isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik yang didapat dari pasien maupun karier penyakit difteri dengan menggunakan media kultur untuk periode waktu yang lama. Isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik tersebut disimpan di satu atau lebih biakan untuk menjamin agar kondisinya yang tidak berubah

sesuai karakteristik asalnya. Tujuan penyimpanan isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik tersebut agar peneliti dapat menggunakannya sebagai bahan penelitian dikemudian hari. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik di Jawa Timur yang didapat dalam kurun waktu tahun 2012-2017.

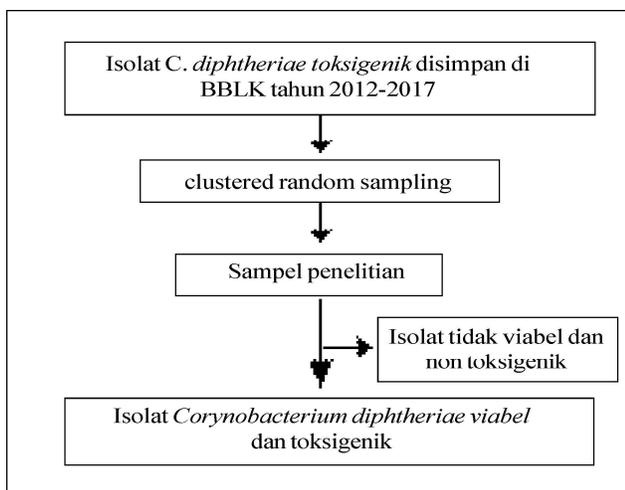
Metode

Rancangan penelitian ini adalah deskriptif untuk mengetahui profil isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik. Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 20 Agustus 2018 sampai 30 November 2018. Penelitian dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Daerah (BBLK) Surabaya. Populasi pada penelitian ini adalah seluruh isolat *Corynebacterium diphtheriae* yang terdapat pada Balai Besar Laboratorium

Kesehatan (BBLK) Surabaya, Jawa Timur, yang terkumpul mulai periode tahun 2012 hingga 2017. Besar sampel minimum yang digunakan dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus Krejcie dan Morgan karena populasi terbatas. Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *clustered random sampling* dengan pembentukan kluster daerah asal isolat secara proporsi untuk mewakili tiap kelompok. Pada tiap anggota populasi dibagi beberapa kluster sesuai daerah asal, kemudian peneliti akan mengambil sampel berdasarkan undian sederhana pada tiap kluster secara proporsional terhadap jumlah sampel maksimal yang dapat diperiksa. Kriteria inklusi adalah Isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik yang didapat dari pemeriksaan usap tenggorok dan hidung pada pasien dan karier yang dicurigai terpapar *Corynebacterium diphtheriae* selama periode 2012 – 2017 di wilayah Jawa Timur. Kriteria eksklusi adalah isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik tersebut tidak dapat tumbuh pada saat dilakukan uji viabilitas. Alur penelitian pada Gambar 1. Penelitian ini telah mendapat sertifikat kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya No. 241/EC/KEPK/FKUA/2018. Data dikumpulkan oleh peneliti dan dimasukkan dalam lembar pengumpulan data khusus, kemudian dilakukan analisis data secara deskriptif menggunakan SPSS, v.20 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) kemudian data hasil penelitian disajikan dalam bentuk tulisan dan tabel.

Hasil

Subyek penelitian didapatkan 108 isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik (besar sampel minimum dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus Krejcie dan Morgan = 104 sampel) yang



Gambar 1. Alur Penelitian

memenuhi kriteria inklusi dari 114 isolat yang dilakukan uji viabilitas dan uji toksigenitas. Enam isolat dieklusi karena tidak viabel saat dilakukan uji viabilitas. Karakteristik dan asal isolat dibedakan menurut karakteristik pejamu yang terdiri dari jenis kelamin, usia dan status sebagai penderita atau karier dari pejamu serta karakteristik isolat yang terdiri dari tahun pengambilan, wilayah asal, lokasi pengambilan dan varian dari isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik yang ikut dalam penelitian ini. Karakteristik dan asal isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik dilihat dalam Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Karakteristik Isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik

Karakteristik pejamu	n	%
Jenis kelamin		
Laki-laki	63	45
Perempuan	58,3	41,7
Usia, median (min-maks)	6,5 (1-14) tahun	
Kelompok usia		
1-5 tahun	54	50
6-10 tahun	33	30,6
11-15 tahun	21	19,4
Status pejamu		
Penderita	85	78,7
Karier	23	21,3
Karakteristik isolat		
Tahun pengambilan isolat		
Tahun 2012	7	6,5
Tahun 2013	38	35,2
Tahun 2014	7	6,5
Tahun 2015	15	13,9
Tahun 2016	6	5,6
Tahun 2017	35	32,4
Wilayah asal isolat		
Madura	31	47,2
Jawa Timur tapal kuda	35	32,4
Jawa Timur bukan tapal kuda	22	20,4
Lokasi pengambilan isolat		
Usap tenggorok	80	74,1
Usap hidung	28	25,9
Varian <i>Corynebacterium diphtheriae</i>		
Gravis	25	23,1
Mitis	83	76,9

Diskusi

World Health Organization (WHO) menerbitkan *position paper* mengenai laporan epidemiologi kasus difteri pada Agustus tahun 2017. India dilaporkan memiliki laporan kasus dengan jumlah terbanyak tiap tahunnya dengan total kasus 18.350 dalam 5 tahun, diikuti Indonesia dan Madagaskar 3203 dan 1633 kasus secara berurutan pada periode 2011-2015. Wilayah Asia Tenggara merupakan sumber dari 55-99% dari keseluruhan kasus yang dilaporkan tiap tahun pada periode tersebut.³ Provinsi Jawa Timur adalah daerah yang terkena dampak paling parah dari kejadian luar

biasa difteri di Indonesia. Provinsi ini berkontribusi sekitar 80% dari jumlah kasus secara keseluruhan di Indonesia

Karakteristik subjek penelitian ini berdasarkan jenis kelamin menunjukkan bahwa laki-laki (58,3%) berjumlah sedikit lebih banyak dibandingkan perempuan (41,7%). Surveilans kejadian luar biasa difteri selama 6 tahun, sejak tahun 2011 sampai 2016, di Provinsi Jawa Timur menunjukkan insiden difteri secara keseluruhan sedikit lebih banyak pada laki-laki (53,4%) dibandingkan dengan perempuan. Perbedaan insiden berdasarkan jenis kelamin tidak didapatkan pada era pra-vaksinasi, namun insiden yang lebih tinggi pada perempuan dilaporkan saat terjadi beberapa kejadian luar biasa di kelompok usia dewasa pada tahun 1940 an, dan predominasi oleh perempuan juga dilaporkan saat terjadi kejadian luar biasa di Federasi Rusia dan negara-negara lain yang sebelumnya merupakan bagian dari Uni Soviet di tahun 1990-an. Ketimpangan insiden menurut jenis kelamin ini dikarenakan akibat dari rendahnya kerentanan diantara laki-laki yang telah divaksinasi saat wajib militer, dan/atau tingginya jumlah laki-laki yang cidera dan kemudian mendapatkan vaksinasi kombinasi difteri tetanus.³

Difteri terutama menyerang anak kelompok usia 1 sampai 5 tahun, namun karena cakupan vaksinasi yang baik diseluruh dunia, saat ini telah terjadi pergeseran terhadap insiden usia dimana lebih banyak laporan kasus pada kelompok usia prasekolah dan usia sekolah (5-15 tahun).⁴ Mayoritas isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik pada sampel yang diikutsertakan dalam penelitian ini, paling banyak didapatkan pada pejamu yang berada di rentang kelompok usia 1-5 tahun (50%), disusul kelompok usia 6-10 tahun (30,6%) dan 11-15 tahun (19,4%) berturut-turut, dengan usia termuda 1 tahun dan tertua 14 tahun. *National Centre for Disease Control* (NCDC) India melakukan penelitian untuk identifikasi primer *Corynebacterium diphtheriae* dan aktivitas produksi toksinnya dari kasus terduga difteri di Delhi dan sekitarnya dari 941 sampel yang diterima, didapatkan 218 kultur positif. Distribusi kelompok usia pada sampel masih didominasi pada kelompok usia >1-5 tahun (56%) diikuti kelompok usia >5-10 tahun (26,6%), kelompok usia >10 tahun (15,1%), dan kelompok usia 0-1 tahun (2,3%).⁴ Jumlah kasus difteri yang tinggi pada anak kelompok usia dibawah 5 tahun mencerminkan rendahnya cakupan primer vaksinasi difteri. Keadaan ini serupa dengan era pra vaksinasi global dan tahun 80-an di India, dimana proporsi kasus difteri tertinggi pada anak kelompok usia dibawah 5 tahun. Peningkatan usia median dari kasus difteri pada kebanyakan penelitian di India mengindikasikan

kerentanan anak usia sekolah dan remaja terhadap difteri yang diakibatkan rendahnya cakupan vaksinasi difteri maupun penurunan kekebalan tubuh yang didapat dari vaksinasi maupun alamiah.⁵

Isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik terutama diperoleh dari pasien (78,7%) yang dirawat saat terjadinya kejadian luar biasa antara 2012-2017. Dua puluh satu koma tiga persen Isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik didapat dari karier yang memiliki riwayat kontak dengan pasien yang dirawat karena infeksi difteri. Prevalensi karier pada kejadian luar biasa difteri tahun 2011 sampai 2015 di Provinsi Jawa Timur dilaporkan oleh Kartina dkk. sebanyak 34 dari 3000 kasus difteri. Tiga puluh empat karier tersebut positif ditemukan *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik. Karier difteri dalam penelitian tersebut terutama ditemukan pada perempuan yang tinggal di pulau madura dan daerah tapal kuda. Usia karier 3-9 tahun (41,2%) dengan status nutrisi baik (44,1%) dan riwayat imunisasi lengkap (47,1%).⁶

Asal wilayah isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik yang didapat hampir separuhnya didominasi dari Pulau Madura (47,2%) dan wilayah tapal kuda di Pulau Jawa (32,4%). Wilayah lain di Provinsi Jawa Timur hanya menyumbang 20,4%. Fokus terjadinya kejadian luar biasa difteri Provinsi Jawa Timur adalah Pulau Madura, sebuah pulau yang berlokasi di timur laut dari daratan utama Pulau Jawa. Populasi dari pulau Madura secara budaya sangat berbeda dari daratan utama dan memiliki tingkat deprivasi yang lebih tinggi daripada rerata jika dibandingkan dengan provinsi lain secara keseluruhan.⁷

Pulau Madura memiliki jarak geografis yang sangat dekat dengan Surabaya, yang merupakan ibukota Provinsi Jawa Timur. Perbedaan budaya dan bahasa menjadi penghalang yang memisahkan wilayah madura dari pulau Jawa. Indeks kemiskinan, Indeks gabungan yang mengukur deprivasi pada 3 dimensi (umur, pengetahuan dan standar hidup) didapatkan nilai yang lebih tinggi di Madura (33,7) dibandingkan provinsi Jawa Timur (21,7) dan Indonesia (22,7).⁸ Izza dan Soenamatalina melakukan analisis penyakit difteri dengan menggunakan data spasial di Provinsi Jawa Timur. Hasil pemetaan penyakit difteri menunjukkan pola penyebaran kasus yang lebih dominan terjadi di wilayah Jawa Timur bagian tengah hingga ujung Jawa Timur, wilayah ini dikenal dengan sebutan tapal kuda, dan kepulauan Madura. Hasil analisis spasial menunjukkan wilayah dengan jumlah kasus penyakit difteri sangat tinggi mempunyai persentase penduduk pendidikan rendah yang tergolong tinggi, wilayah tersebut adalah kawasan tapal kuda dan Madura.⁹

Tujuh puluh empat koma satu persen isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik yang didapat

berasal dari hapusan usap tenggorok. Isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik yang berasal dari usap hidung hanya sejumlah 25,9%. Langkah awal dalam penegakan diagnosis laboratoris kasus difteri adalah pengambilan spesimen klinis yang tepat terhadap pasien. Pendekatan terkini oleh Efstratiou dkk. menyatakan bahwa semua kasus yang dicurigai difteri saluran nafas harus dilakukan pengambilan sampel pada tenggorok atau nasofaring (atau keduanya). WHO dalam standar surveilans difteri yang diperbaharui tahun 2018 menyatakan pengambilan sampel wajib dilakukan pada kedua lokasi (usap tenggorok dan hidung) pada setiap kasus yang dicurigai saat kontak pertama kali.¹⁰ Sebuah penelitian retrospektif di India yang menganalisis 101 kasus difteri yang dirawat di rumah sakit dalam rentang waktu 5 tahun, menunjukkan kasus difteri tenggorok mendominasi kasus (90%). Difteri laring dan hidung masing-masing hanya ditemukan 5% dari total keseluruhan kasus.¹¹

Varian mitis (76,9%) merupakan mayoritas isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik, disusul dengan varian gravis sebanyak 23,1%. Varian Intermedius dan belfanti tidak ada dalam sampel penelitian ini. Varian mitis merupakan jenis terbanyak diantara semua serotipe pada 6 tahun terakhir kejadian luar biasa difteri di Provinsi Jawa Timur. Varian gravis merupakan varian kedua terbanyak setelah mitis. Surveilans 6 tahun tersebut melaporkan hanya berhasil menemukan 1 kasus varian intermedius dari 3.353 kasus. Varian belfanti umumnya tidak bersifat toksigenik. Kejadian luar biasa di Brasil dan Eropa timur umumnya terjadi karena penyebaran dari *Corynebacterium diphtheriae* varian mitis dan gravis. Kejadian luar biasa di Maranhao Brasil pada tahun 2010 menunjukkan perbedaan, dimana pada kejadian luar biasa tersebut disebabkan karena varian intermedius.¹² *Corynebacterium diphtheriae* varian mitis adalah biotipe yang mampu memfermentasi sukrose. Biotipe jenis ini sangat jarang ditemukan di kebanyakan negara industrial. Jenis ini sangat memiliki hubungan dengan terjadinya kejadian luar biasa pada berbagai wilayah di Brasil.¹³

Kesimpulan

Pada penelitian ini, isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik terbanyak didapatkan pada

pejamu di kelompok usia 1-5 tahun, yang mayoritas berdomisili di Pulau Madura dan wilayah Jawa Timur tapal kuda. Isolat *Corynebacterium diphtheriae* toksigenik dalam penelitian ini terutama didapatkan dari usap tenggorok pasien difteri. Varian mitis masih mendominasi dalam periode 5 tahun penelitian ini di Jawa Timur.

Daftar Pustaka

1. Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur. Penanggulangan KLB Difteri di Provinsi Jawa Timur. Surabaya: IDAI Cabang Jawa Timur; 2018
2. Both L, White J, Mandal S, Efstratiou A, 2014. Access to diphtheria antitoxin for therapy and diagnostics. *Eurosurveillance*. 19: 1–6.
3. World Health Organization, 2017. Diphtheria vaccine: WHO position paper - August 2017. *Wkly Epidemiol Rec*. 92: 417-35.
4. Bhagat S, Grover SS, Gupta N, Roy RD, Khare S, 2015. Persistence of *Corynebacterium diphtheriae* in Delhi and National Capital Region (NCR). *Indian J Med Res*. 142: 459-61.
5. Murhekar M, 2017. Epidemiology of Diphtheria in India, 1996-2016: Implications for Prevention and Control. *Am J Trop Med Hyg*. 97: 313-8.
6. Kartina L, Primayani D, Marbun K, Puspitasari D, Husada D, Setiono P, Moedjito I, 2017. Prevalence of diphtheria carriers in East Java diphtheria outbreak. *International Congress of Tropical Pediatrics*. 2017, Yogyakarta.
7. Hughes GJ, Mikhail AFW, Husada D, Irawan E, Kafatos G, Bracebridge S, et al. Seroprevalence and Determinants of Immunity to Diphtheria for Children Living in Two Districts of Contrasting Incidence During an Outbreak in East Java, Indonesia. *Pediatr Infect Dis J* 2015; 34:1152-6.
8. Estívariz CF¹, Watkins MA, Handoko D, Rusipah R, Deshpande J, Rana BJ, et al. A Large Vaccine-Derived Poliovirus Outbreak on Madura Island-Indonesia, 2005. *J Infect Dis*. 2008;197: 347-54.
9. Izza N, Soenarnatalina. Analisis Data Spasial Penyakit Difteri di Provinsi Jawa Timur Tahun 2010 dan 2011. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*; 2015
10. World Health Organization. Diphtheriae. In: Patel MK, Cohen AL dan Feiken D (eds), *Vaccine-Preventable Diseases Surveillance Standards*. Geneva: World Health Organization; 2018. p. 3-15.
11. Nandi R, De M, Browning S, Purkayastha P, Bhattacharjee AK. Diphtheria: the patch remains. *J Laryngol Otol*. 2003; 117: 807-10.
12. Santos LS, Santanna LO, Ramos JN. Diphtheria outbreak in Maranhao, Brazil: microbiological, clinical and epidemiological aspects. *Epidemiol Infect*. 2015;143:791-8.
13. Mattos-Guaraldi AL, Moreira LO, Damasco PV, Junior RH. Diphtheria Remains a Threat to Health in the Developing World - An Overview. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98: 987–93.

