

PENGENDALIAN PENYAKIT ANTRAKS: DIAGNOSIS, VAKSINASI DAN INVESTIGASI

RAHMAT SETYA ADJI dan LILY NATALIA

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata No. 30, Bogor 16114

ABSTRAK

Antraks adalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis* yang menyerang hewan dan manusia (zoonosis). Penyakit ini umumnya menyerang hewan domestik, seperti domba, kambing dan sapi, tetapi manusia juga dapat terinfeksi karena terpapar atau mengkonsumsi hewan yang terinfeksi. Program pengendalian antraks pada hewan dan manusia meliputi pengembangan metode diagnostik untuk deteksi *B. anthracis* dan uji konfirmasi penyakit antraks, pencegahan penyakit dengan vaksinasi dan investigasi penyakit. Teknologi diagnosis antraks yang cepat dan lebih akurat harus dikembangkan untuk menggantikan metode konvensional yang sekarang masih digunakan di Indonesia. Penggunaan vaksin cukup efektif untuk pencegahan penyakit antraks. Vaksin antraks yang masih digunakan di Indonesia adalah suspensi spora *B. anthracis* galur Sterne 34F2, tidak berkapsul dan toksigenik. Penggunaan vaksin ini terkadang menimbulkan rasa sakit dan nekrosis di tempat suntikan, oedema subkutan dan kematian hewan pascavaksinasi. Beberapa vaksin telah dikembangkan, antara lain vaksin subunit, *anthrax vaccine absorbed* (AVA), yang mengandung komponen antigen protektif (PA) yang merupakan komponen utama toksin antraks yang bersifat imunogenik dan sering digunakan sebagai vaksin pada manusia. Di daerah endemik antraks, hampir setiap tahun masih terjadi letupan wabah penyakit ini. Pemantauan perubahan dalam gambaran pola epidemiologi penyakit perlu dilakukan dengan melakukan investigasi lapangan.

Kata kunci: Antraks, *Bacillus anthracis*, penyakit zoonosis, pengendalian penyakit

ABSTRACT

THE CONTROL OF ANTHRAX DISEASE: DIAGNOSIS, VACCINATION AND INVESTIGATION

Anthrax is a bacterial disease caused by *Bacillus anthracis* attacking both animal and human (zoonosis). The disease is normally associated with domestic livestock such as sheep, goats, and cattle, but humans are also infected due to exposure or consuming infected animals. The control of anthrax in humans and animals involves developing a diagnostic method for *B. anthracis* detection and confirmation of anthrax, prevention by vaccines, and disease investigation. Rapid and more accurate diagnosis techniques for anthrax should be developed for improving the conventional method used in Indonesia. Vaccines are effective against anthrax. Current anthrax vaccine used in Indonesia is spores vaccine produced from a non-encapsulated, toxigenic, Sterne strain 34F2 of *B. anthracis*. The use of this vaccine occasionally causes local pain, necroses at the inoculation site, subcutaneous oedema and occasionally death of the animal. Several vaccines have been developed recently such as sub unit vaccine, anthrax vaccine absorbed (AVA), that contains a protective antigen (PA) component of the anthrax toxin as the major protective immunogen and is usually used in humans. In endemic areas of anthrax, outbreaks still routinely occur almost yearly. Monitoring of the epidemiological patterns of the disease has to be carried out by field investigation.

Key words: Anthrax, *Bacillus anthracis*, zoonotic disease, disease control

PENDAHULUAN

Antraks adalah penyakit yang disebabkan *Bacillus anthracis*. Penyakit ini dapat menyerang hewan domestik maupun liar, terutama hewan herbivora, seperti sapi, domba, kambing, beberapa spesies unggas dan dapat menyerang manusia (zoonosis) (OIE, 2000; TODAR, 2002). Antraks merupakan penyakit zoonosis penting dan strategis sehingga perlu ditangani dengan baik. Tingkat kematian karena antraks sangat tinggi terutama pada hewan herbivora, mengakibatkan kerugian ekonomi dan mengancam keselamatan manusia (WHO, 1998).

Untuk mewaspadai penyakit antraks di Indonesia, perlu dikembangkan cara pengendalian penyakit yang efektif yang perlu didukung dengan metode diagnosis cepat dan akurat sehingga penanganan kasus penyakit dapat dilaksanakan dengan segera. Metode diagnosis yang digunakan di BBalitvet adalah identifikasi agen, uji serologi dan Ascoli, sedangkan teknik lain yang lebih cepat dan akurat dan direkomendasikan oleh OIE/WHO (1998; 2000) antara lain: *lysis gamma phage*, *immunochromatographic assay*, *Direct Fluorescence Assay* (DFA) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Penyempurnaan metode diagnosis dirasakan sangat mendesak karena sampai saat ini cara

diagnosis yang digunakan di Indonesia pada umumnya masih konvensional.

Pencegahan penyakit sangat penting dilakukan di daerah endemik penyakit antraks, seperti Jawa Barat dan D.I. Yogyakarta. Program vaksinasi masih sering mengalami hambatan karena adanya efek samping dari vaksin spora hidup yang saat ini digunakan di Indonesia (HARDJOUTOMO *et al.*, 1993). Pengembangan atau perbaikan dalam pembuatan vaksin antraks perlu dilakukan sehingga dapat diperoleh vaksin yang efektif tetapi aman digunakan dan tidak mempunyai efek samping yang sering dikeluhkan peternak di Indonesia.

Investigasi merupakan salah satu langkah dalam cara pengendalian penyakit antraks, khususnya di daerah endemik untuk menekan kejadian penyakit itu berulang kembali. Untuk memprediksi kejadian penyakit, kita harus mengetahui sejarah dan daerah-daerah endemik antraks serta mengetahui kapan saja kasus antraks muncul. Tindakan yang perlu dilakukan adalah dengan cara memonitoring tingkat kejadian dan tingkat cemaran spora di daerah tersebut (WHO *et al.*, 1998).

DIAGNOSIS PENYAKIT

Diagnosis antraks umumnya dapat dilakukan berdasarkan gejala klinis dan pemeriksaan di laboratorium untuk mengisolasi agen penyebab, uji serologis dan molekuler.

Gejala penyakit pada hewan

Hewan dapat tertular antraks melalui pakan (rumput) atau minum yang terkontaminasi spora. Spora yang masuk ke dalam tubuh melalui oral dan akan mengalami germinasi, multiplikasi di sistem limfe dan limpa, menghasilkan toksin sehingga menyebabkan kematian (biasanya mengandung $\pm 10^9$ kuman/ml darah) (OIE, 2000). Antraks pada hewan dapat ditemukan dalam bentuk perakut, akut, subakut sampai dengan kronis. Untuk ruminansia biasanya berbentuk perakut dan akut; kuda biasanya berbentuk akut; sedangkan anjing, kucing dan babi biasanya berbentuk subakut sampai dengan kronis. Gejala penyakit pada bentuk perakut berupa demam tinggi (42°C), gemetar, susah bernafas, kongesti mukosa, konvulsi, kolaps dan mati. Darah yang keluar dari lubang kumlah (anus, hidung, mulut atau vulva) berwarna gelap dan sukar membeku. Bentuk akut biasanya menunjukkan gejala depresi, anoreksia, demam, nafas cepat, peningkatan denyut nadi, kongesti membran mukosa. Pada kuda terjadi enteritis, kolik, demam tinggi, depresi dan kematian terjadi dalam waktu 48 – 96 jam. Sedangkan pada bentuk subakut sampai dengan kronis, terlihat adanya pembengkakan pada *lymphoglandula*

pharyngeal karena kuman antraks terlokalisasi di daerah itu (OIE, 2000). Di Indonesia, kejadian antraks biasanya perakut, yaitu: demam tinggi, gemetar, kejang-kejang, konvulsi, kolaps dan mati.

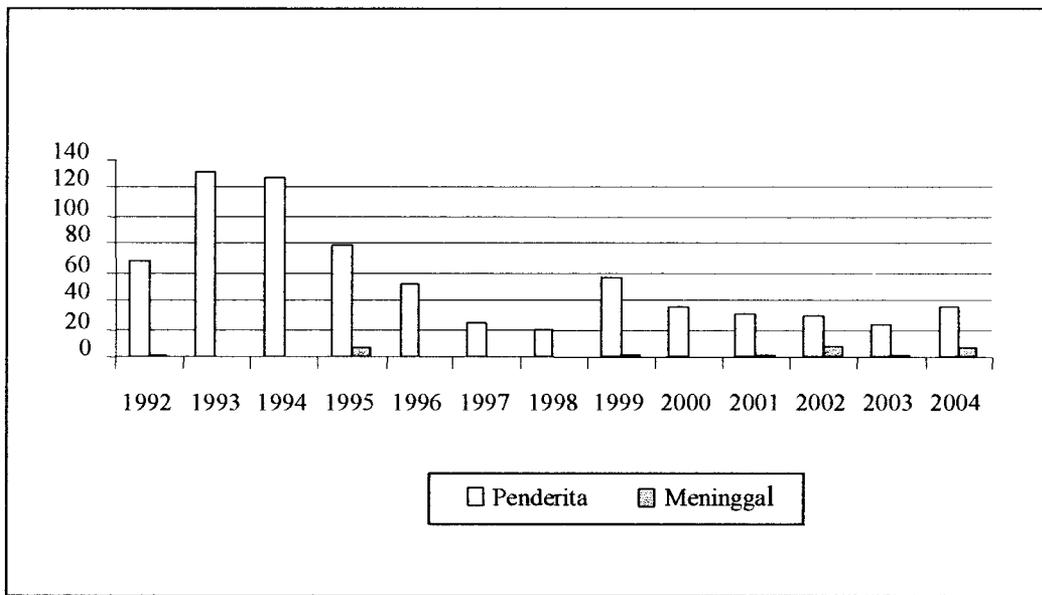
Gejala klinis pada manusia

Antraks pada manusia dibedakan menjadi tipe kulit, tipe pencernaan, tipe pulmonal dan tipe meningitis. Pada tipe kulit, *B. anthracis* masuk melalui kulit yang lecet, abrasi, luka atau melalui gigitan serangga dengan masa inkubasi 2 sampai 7 hari. Gejala klinis yang terlihat adalah demam tinggi, sakit kepala, *ulcus* dengan jaringan nekrotik warna hitam di tengah dan dikelilingi oleh vesikel-vesikel dan oedema. Jika tidak diobati tingkat kematian dapat mencapai 10 – 20% dan jika diobati kurang dari 1% (DEPARTEMEN KESEHATAN, 2003; WHO, 1998; APIC, 2005). Pada tipe pencernaan (*gastrointestinal anthrax*), *B. anthracis* dapat masuk melalui makanan terkontaminasi, dan masa inkubasinya 2 sampai 5 hari. Mortalitas tipe ini dapat mencapai 25 – 60% dan dibedakan menjadi antraks intestinal dan antraks oropharingeal. Pada antraks intestinal, gejala utama adalah demam tinggi, sakit perut, diare berdarah, asites, dan toksemia. Antraks oropharingeal, gejala utamanya demam tinggi, sakit tenggorokan, pembesaran limfoglandula regional, dan toksemia (DEPARTEMEN KESEHATAN, 2003; WHO, 1998; APIC, 2005). Tipe pernafasan (*Pulmonary anthrax*) terjadi karena terhirupnya spora *B. anthracis* dengan masa inkubasi 2 – 6 hari. Jalannya penyakit perakut sulit bernafas, sianosis, koma dan mati. Tingkat kematian bisa mencapai 86% dalam waktu 24 jam (DEPARTEMEN KESEHATAN, 2003; WHO, 1998; APIC, 2005). Tipe meningitis, merupakan komplikasi gejala demam tinggi, sakit kepala, sakit otot, batuk, susah bernafas atau lanjutan dari ke-3 bentuk antraks yang telah disebutkan di atas. Tingkat kematian dapat mencapai 100% dengan gejala klinik pendarahan otak (WHO, 1998).

Gambar 1 menggambarkan jumlah kejadian antraks pada manusia baik yang meninggal maupun tidak. Kejadian antraks pada manusia di Indonesia paling banyak adalah tipe kulit dan beberapa tipe pencernaan (penyebab kematian).

Agen penyebab

Penyakit ini disebabkan oleh *B. anthracis*, bakteri berbentuk batang, gram positif, ukuran (1 – 1,5) μm X (3 – 5) μm , non motil, non hemolitik, membentuk spora, dapat membentuk kapsul dan menghasilkan toksin (OIE, 2000). Spora akan terbentuk jika terekspos oksigen (O_2), spora ini relatif tahan terhadap panas, dingin, pH, radiasi dan desinfektan sehingga sangat



Gambar 1. Kejadian antraks pada manusia

Sumber: DEPARTEMEN KESEHATAN (2003)

sulit untuk dihilangkan jika terjadi kontaminasi. Spora mungkin akan germinasi, multiplikasi dan resporulasi kembali di luar tubuh hewan jika kondisinya memungkinkan, yaitu: suhu 8 – 45°C, pH antara 5 – 9, kelembaban di atas 95% dan adanya zat makanan yang cukup (WHO *et al.*, 1998; POBOJEWSKI, 2004).

Secara parenteral, Lethal Dose₅₀ (LD₅₀) antraks untuk tiap hewan berbeda-beda, yaitu: marmot (< 10 spora), primata (3 x 10³ spora), tikus (10⁶ spora), mencit (5 spora), babi (10 spora) dan anjing (5 x 10¹⁰ spora), sedangkan LD₅₀ untuk Antraks pernafasan pada manusia kira-kira 8.000 – 10.000 spora.

Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan atau pengujian spesimen di laboratorium adalah untuk meneguhkan diagnosa yang dibuat berdasarkan gejala klinis. Pengujian yang dilakukan pada dasarnya merupakan deteksi agen penyakit dan deteksi antibodi.

Pengiriman spesimen dari suatu tempat ke laboratorium pemeriksaan juga perlu diperhatikan karena dapat mempunyai resiko penyebaran agen penyakit. Untuk itu, WHO (1998) juga telah merekomendasikan tentang cara pengiriman, pengemasan, pelabelan dan dokumentasi sehubungan dengan pengiriman barang-barang infeksius.

Metode isolasi dan identifikasi dilakukan untuk menentukan agen penyebab telah direkomendasikan WHO (1998) dan *Central for Disease Control and Prevention* (CDC, 2002). Metode ini dilakukan dengan berbagai teknik tergantung jenis spesimen, yaitu: (1)

spesimen yang masih baru dari hewan atau manusia tanpa pengawet, (2) spesimen yang masih baru dari hewan atau manusia dengan pengawet, dan (3) spesimen yang sudah lama, karkas yang sudah membusuk, material yang sudah diproses atau dari lingkungan (termasuk tanah).

Untuk sampel yang masih baru, hal yang biasa dilakukan adalah dengan melihat adanya kapsul maupun bentuk kuman dengan pewarnaan *polychrome methylene blue* (*M'fahdeyan's reaction*). Bakteri berbentuk batang berantai dengan ujung siku berwarna biru dengan kapsul berwarna merah muda. *B. anthracis* yang virulen dapat diinduksi untuk memproduksi kapsul dengan menumbuhkan kuman tersebut pada media agar bikarbonat 0,7%, diinkubasi 37°C dengan kandungan CO₂ 5 – 20%. *B. anthracis* dapat tumbuh pada media agar darah setelah diinkubasikan 37°C selama 16 – 24 jam. Koloni *B. anthracis* berwarna putih keabu-abuan, tepi tidak rata dan beraturan (*medusa head*), kasar, suram, non hemolitik, non motil dan konsistensi liat. Pada media *broth*, koloni *B. anthracis* seperti kapas, dengan media tampak bening. Uji lisis *gamma phage* maupun kepekaan terhadap *penicillin* dapat dijadikan sebagai uji konfirmasi dalam identifikasi (OIE, 2000).

Untuk sampel yang sudah lama, sudah busuk, yang sudah diproses atau sampel tanah, sampel terlebih dahulu harus dipanaskan pada 65°C selama 15 menit untuk kemudian ditanam pada media agar darah atau agar yang mengandung *polymyxin*, *lysozyme*, *EDTA*, *thallous acetat* (PLET), dan diinkubasikan 37°C selama 16 – 48 jam (OIE, 2000; WHO, 1998).

Uji Ascoli digunakan untuk mendeteksi adanya antigen yang terdapat dalam sampel. Prinsip teknik ini reaksi antara antibodi (serum Ascoli) dengan antigen, di mana hasil positif akan terbentuk cincin warna putih di antara serum dan ekstrak sampel. Uji ini hanya baik digunakan untuk sampel dari hewan yang tersangka antraks dan tidak baik digunakan untuk sampel lingkungan, sebab terjadi reaksi silang dengan *Bacillus* lain.

Anthraxin merupakan antigen antraks yang diinaktivasi dan dimurnikan dan banyak digunakan dalam mengevaluasi vaksinasi dan studi retrospektif pada hewan dan manusia. Teknik ini diaplikasikan dengan cara menyuntikkan 0,1 ml *Anthraxin* secara intradermal dan diamati dalam waktu 48 jam. Adanya pembengkakan dan kemerahan kulit menunjukkan reaksi positif (OIE, 2000).

Teknik PCR mulai digunakan secara luas untuk mendeteksi adanya gen faktor virulensi (kapsul dan toksin PA). Jadi dalam hal ini dapat dipastikan suatu isolat adalah virulen atau tidak. Metode ini relatif cepat dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi (OIE, 2000; WHO, 1998).

Teknik DFA juga dilaporkan mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Uji ini dapat

mendeteksi *B. anthracis* dalam waktu beberapa jam saja dan dapat membedakan *B. anthracis* dari *Bacillus* spp. lainnya. Uji ini mendeteksi 2 komponen dari *B. anthracis*, yaitu kapsul dan dindingnya. Uji ini menggunakan antibodi yang dilabel dengan *Fluorescence Isothiocyanate* (FITC). Teknik DFA yang mampu mendeteksi 2 komponen *B. anthracis* ini dilaporkan sensitif, spesifik dan merupakan uji konfirmatif yang cepat dan sangat berguna untuk mendeteksi *B. anthracis* secara langsung dari spesimen lapangan (DE *et al.*, 2002; OIE, 2000; WHO, 1998).

Deteksi antigen yang lebih sensitif dan spesifik adalah dengan teknik *immunochromatographic assay*. Teknik ini menggunakan antibodi monoklonal anti-PA yang dilekatkan pada membran nitroselulosa dan dapat mendeteksi adanya PA dalam sampel dengan jumlah yang sangat kecil yaitu 25 ng/ml (OIE, 2000; MULLER *et al.*, 2004).

Enzyme linked immuno-sorbent assay (ELISA) digunakan untuk mendeteksi adanya antibodi yang ada dalam sampel serum dan banyak digunakan untuk evaluasi vaksinasi, studi epidemiologi pada manusia, hewan ternak maupun hewan liar. Jika uji ini digunakan untuk diagnosa harus juga dilakukan pemeriksaan laboratorium yang lain (OIE, 2000; WHO, 1998).

Tabel 1. Prosedur pengujian untuk diagnosis antraks di laboratorium

Prosedur pemeriksaan	Keterangan
Isolasi dan identifikasi	<i>B. anthracis</i> mempunyai bentuk batang berantai warna biru dengan ujung siku-siku dengan kapsul berwarna merah muda
Mikroskopik	
<i>Polychrom methylene blue</i>	
Visualisasi kapsul	<i>B. anthracis</i> mempunyai bentuk koloni kasar, liat, warna abu-abu, non hemolisis, non motil dan membentuk spora
Kultur	
Morfologi koloni	
Hemolisis	
Motilitas	
Sporulasi	
Lisis <i>gamma-phage</i>	Koloni <i>B. Anthracis</i> akan lisis jika ditetesi <i>gamma-phage</i> , pada umumnya <i>B. anthracis</i> sensitif terhadap penisilin
Sensitifitas terhadap penisilin	
Deteksi antibodi	
Uji Serologi: ELISA antibodi	Uji ELISA untuk deteksi antibodi anti-PA yang ada dalam sampel serum. Jarang digunakan untuk diagnosis
Deteksi antigen	
Uji ascoli	Untuk deteksi antigen <i>B. anthracis</i> . Pada uji ascoli terbentuk cincin putih diantara serum dan ekstrak sampel. Uji DFA untuk deteksi dinding sel dan kapsul (berwarna hijau jika dilihat di bawah mikroskop <i>fluorescence</i>). Pada uji <i>immunochromatografic assay</i> akan ada dua garis coklat pada kertas nitroselulosa
<i>Direct Fluorescence Assay</i> (DFA)	
<i>Immunochromatographic assay</i>	
<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	Untuk konfirmasi virulensi, adanya dua pita yaitu PA (pXO1) dan kapsul (pXO2)
<i>Hipersensitivity test</i> (<i>Anthraxin</i>)	Suntikan intradermal 0,1 ml <i>Anthraxin</i> , diamati 48 jam pasca suntikan, adanya pembengkakan dan kemerahan pada kulit menunjukkan positif

Sumber: OIE (2000)

Metode diagnosis di atas berdasarkan target yang dideteksi. Diagnosis antraks dengan cepat dan akurat dapat mengurangi resiko kematian dan melakukan langkah dalam pengendalian antraks, baik dekontaminasi daerah terkena, vaksinasi dan penutupan wilayah serta pengawasan lalu lintas ternak. Diagnosis yang lambat memberikan resiko penyebaran dan kontaminasi daerah lebih luas serta penanganan hewan dan manusia yang terkena juga akan mengalami keterlambatan sehingga dapat menyebabkan kematian.

INVESTIGASI

Investigasi merupakan salah satu langkah dalam cara pengendalian antraks, khususnya di daerah endemik untuk menekan kejadian penyakit itu berulang kembali. Untuk memprediksi kejadian penyakit, harus diketahui sejarah dan daerah-daerah endemik antraks serta diketahui kapan saja kasus antraks pernah muncul. Tindakan yang perlu dilakukan dalam investigasi adalah melakukan monitoring tingkat kekebalan ternak hasil vaksinasi, tingkat kejadian dan tingkat cemaran spora pada tanah dan pakan di daerah tersebut (OIE, 2000).

Kejadian antraks seringkali dipengaruhi musim, iklim, suhu dan curah hujan yang tinggi (WHO, 1998). Kasus antraks seringkali muncul pada awal musim hujan di mana rumput sedang tumbuh, hal ini yang menyebabkan terjadinya kontak dengan spora yang ada di tanah. Belum pernah ada laporan bahwa antraks dapat menular dari hewan ke hewan atau dari manusia ke manusia (WHO, 1998). Spora akan terbentuk jika terekspos oksigen (O₂), spora ini relatif tahan terhadap panas, dingin, pH.

Penyakit ini tetap *enzootic* di hampir semua negara Afrika dan Asia, beberapa negara di Eropa (Inggris, Jerman dan Italia), beberapa negara bagian Amerika Serikat (South Dakota, Nebraska, Louisiana, Arkansas, Texas, Mississippi dan California) dan beberapa daerah di Australia (Victoria dan New South Wales) (WHO, 1998; TODAR, 2002). Sampai saat ini, masih banyak daerah endemik antraks di Indonesia seperti di Provinsi Sumatera Barat, Jambi, Jawa Barat, Jawa Tengah, D.I. Yogyakarta, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara, NTT, NTB dan Papua. Di Jawa Barat (Kabupaten Bogor), Nusa Tenggara Barat (Bima dan Sumbawa Besar) dan Nusa Tenggara Timur hampir setiap tahun dilaporkan adanya kejadian antraks (SIREGAR, 2002; DEPARTEMEN KESEHATAN, 2003). Pada akhir tahun 2004 antraks kembali menyerang kambing di daerah Citaringgul Babakan Madang Kabupaten Bogor dan menyebabkan 6 orang meninggal dunia (laporan kasus). Tahun 2005, Makassar juga terserang antraks dan menyebabkan ± 28 ekor sapi dan kerbau mati (laporan kasus). Pada Hari Raya Idul Fitri tahun 2006, Depok juga terserang

antraks yang menyebabkan 3 ekor sapi mati dan 7 orang terinfeksi (1 orang meninggal dunia) (laporan kasus).

Untuk mengantisipasi timbulnya kembali kasus antraks di daerah endemik, hal yang perlu dikerjakan adalah dengan pengambilan sampel di lingkungan tersebut, hal ini bertujuan untuk mengidentifikasi sumber kontaminasi spora *B. anthracis* sehingga dapat menyebabkan hewan/manusia terinfeksi, menelusuri rute infeksi/paparan, memperoleh galur *B. anthracis* dari daerah tertentu, membuat prosedur dan petunjuk aktivitas pembersihan suatu daerah terhadap *B. anthracis*, mengantisipasi letupan antraks di daerah endemik, dan membuat prosedur pengamanan (*biosafety*) di laboratorium yang menangani antraks (CDC, 2002).

Untuk koleksi sampel, harus diketahui peta daerah endemik, situasi geografik, kondisi tanah dan vegetasi suatu daerah dan juga diketahui suhu serta iklimnya. Ketinggian permukaan tanah, pH dan komposisi tanah kemungkinan juga mempunyai pengaruh yang cukup berarti bagi daya hidup spora *B. anthracis* di suatu daerah. Beberapa hal yang perlu dicatat adalah tipe padang gembalaan, kondisi pengairan, keluar masuknya ternak, kebiasaan merumput, sumber air, kontrol serangga dan sebagainya (PARKINSON *et al.*, 2003). Koleksi sampel untuk tindakan ini adalah dengan pengambilan tanah di tempat kejadian antraks dan daerah sekitarnya, tempat pengambilan rumput atau padang penggembalaan ternak, tempat bekas kuburan hewan yang mati karena antraks, sumber air dan daerah rendah yang mempunyai hubungan dengan daerah kasus antraks.

VAKSINASI

Pencegahan dan pengendalian antraks di daerah endemik dilakukan dengan cara vaksinasi. Vaksin antraks yang digunakan di Indonesia sampai saat ini adalah vaksin aktif. Daya proteksi vaksin antraks pada ternak ditentukan oleh respon imun terhadap *protective antigen* (PA), sedangkan 2 komponen toksin lainnya yaitu LF dan EF hanya berperan kecil dalam memberikan proteksi. Antigen lainnya (kapsul dan dinding sel) belum diidentifikasi berperan dalam proteksi (WHO, 1998). Vaksin antraks masa mendatang harus dapat menstimulasi imun respon seluler dan imun respon humoral (WHO, 1998).

Vaksinasi pada ternak di Indonesia pada umumnya masih menggunakan vaksin spora hidup atau *live spora vaccine*, yang mengandung *B. anthracis* galur 34F2, bersifat toksigenik, dan tidak berkapsul. Vaksin ini mengandung kira-kira 10 juta spora per mili liter yang disuspensikan dalam larutan 50% gliserin-NaCl fisiologis mengandung 0,5% saponin. Vaksin ini dibuat sesuai dengan *Requirements for anthrax spore*

vaccine (live-for Veterinary use); requirements for biological substance no. 13 (WHO, 1967), yang menunjukkan dapat terjadinya berbagai perbedaan kualitas di antara vaksin antraks yang ada. Gliserin dan saponin yang digunakan sebagai pelarut dan adjuvan dalam vaksin ini, juga dapat mempengaruhi kinerja dari vaksin. Bibit vaksin harus dipelihara secara hati-hati agar supaya varian *B. anthracis* yang tidak berkapsul dapat kehilangan kemampuan imunogeniknya pada subkultur (STERNE, 1959). Namun demikian, galur bibit vaksin tersebut juga dapat mempertahankan virulensinya pada ternak seperti kambing, domba dan *lama* sehingga dapat menyebabkan efek *shock* anafilaktik karena masih dapat menghasilkan toksin. Penggunaan vaksin pada hewan tersebut perlu perhatian dan kehati-hatian, karena dapat menyebabkan *shock* anafilaktik (WHO, 1998).

Efikasi vaksin hidup lebih baik dibandingkan dengan vaksin mati, tetapi ada juga hal yang kurang baik dari vaksin hidup, karena *B. anthracis* galur 34F2 masih dapat mempertahankan virulensinya dan dapat memberikan efek samping yang buruk pada hewan yang divaksin. Sehubungan rentang waktu tanggap kebal sangat terbatas, yaitu antara 6 – 12 bulan dan pada hewan di daerah endemik harus divaksinasi tiap tahun dengan aplikasi vaksin harus diberikan secara parenteral (disuntik). Jika terjadi kesalahan kecil saat memproduksinya, maka dapat terjadi efek samping yang merugikan (WHO, 1998). Di Indonesia vaksin yang digunakan adalah vaksin spora yang diberikan dengan suntikan/parenteral dan memberikan durasi kekebalan selama \pm 6 – 12 bulan sehingga vaksinasi ulang harus dilakukan dengan interval 6 – 12 bulan. Pembuatan vaksin dengan kandungan spora yang terlalu tinggi ataupun penggunaan *seed* vaksin yang tidak benar dapat menyebabkan efek proteolitik dan toksin yang dihasilkan tidak dapat dinetralisasi oleh tubuh sehingga dapat menyebabkan reaksi anafilaksis dan *shock*.

Penggunaan vaksin antraks pada manusia pada saat ini masih dilaporkan beresiko tinggi. Di Cina dan Rusia, vaksinasi pada manusia menggunakan *live spora vaccine* dari *B. anthracis* galur A16R (Cina) dan galur STI (Rusia). Vaksin ini diaplikasikan dengan cara digoreskan pada kulit dengan dosis 20 μ l. Pemberiannya adalah 2 kali dengan interval 21 hari setelah vaksinasi pertama (WHO, 1998). Di Amerika Serikat, *anthrax vaccine absorbed* (AVA) dibuat dari filtrat kultur *B. anthracis* galur V770, toksigenik, tidak berkapsul, tidak proteolitik yang diberi formaldehida dengan konsentrasi akhir 0,02% dan diabsorpsi dengan aluminium hidroksida. Aplikasi secara subkutan, dosis 0,5 ml, diberikan pada 0, 2 dan 4 minggu dan 6, 12, 18 bulan dengan ulangan tiap tahun. Sedangkan di Inggris vaksin filtrat dibuat dari kultur *B. anthracis* galur 34F2 yang diberi formalin dengan konsentrasi akhir 0,02%

dan dipresipitasi dengan menggunakan kalium aluminium sulfat. Aplikasi vaksin secara subkutan, dosis 0,5 ml, diberikan pada 0, 3 dan 6 minggu dan 6, 12, 18 dan 24 bulan dengan ulangan tiap tahun (WHO, 1998). Vaksin inaktif tersebut dapat melindungi hewan percobaan di laboratorium dan sapi yang ditantang dengan *B. anthracis* baik melalui kulit maupun pernafasan (LEPPLA *et al.*, 2002).

Meskipun aman dan protektif, AVA mempunyai keterbatasan, antara lain: standarisasi vaksin yang didasarkan pada proses pembuatan dan uji potensi yang dilakukan dengan hewan marmot yang ditantang secara intrakutan dengan spora *B. anthracis*, kandungan PA dalam vaksin tidak pernah diukur dan tidak ada standarisasi uji antibodi anti PA pada hewan atau manusia yang divaksinasi dengan vaksin tersebut. Vaksin AVA dapat mengandung elemen seluler yang mungkin menyebabkan reaksi sistemik atau reaksi lokal. Selain itu, jadwal pemberian vaksin yang berulang dengan interval waktu yang pendek, mungkin belum optimal untuk memberikan proteksi (LEPPLA *et al.*, 2002).

Pengembangan vaksin antraks untuk masa mendatang harus dapat meminimalisasi efek samping. Vaksin juga harus efektif dan mempunyai daya proteksi yang baik, aman dan tidak ada efek samping untuk semua spesies, dapat memberikan daya perlindungan yang lama, dan mudah dalam aplikasinya. Pengembangan vaksin antraks yang dapat diberikan secara oral pada hewan ternak dan hewan liar yang beresiko tinggi perlu dilakukan. Disamping itu, vaksin antraks tersebut diharapkan murah harganya dan ramah lingkungan atau tidak menimbulkan pencemaran lingkungan (WHO, 1998).

Vaksin antraks yang direkomendasikan WHO (1998) untuk masa depan, antara lain adalah vaksin subunit, vaksin rekombinan, *deleted mutants*, dan vaksin DNA. Vaksin subunit merupakan vaksin inaktif yang hanya mengandung PA. PA rekombinan pada *B. subtilis* perlu dikembangkan untuk meminimalisasi kontaminasi toksin lain yang dihasilkan oleh *B. anthracis* dan menghindari bahaya yang disebabkan oleh bakteri tersebut. Aplikasi vaksin ini dapat secara aerosol atau parenteral dengan pemilihan adjuvan yang baik, seperti aluminium hidroksida 0,3% (WHO, 1998; BROSSIER *et al.*, 2002; FLICK-SMITH *et al.*, 2002). Vaksinasi secara aerosol dengan rekombinan antigen protektif (rPA) dapat menginduksi kekebalan mukosal, kekebalan ini tidak didapatkan jika diberikan secara parenteral. Kekebalan mukosal ini sangat efektif melindungi jika infeksi *B. anthracis* melalui pernafasan (BOYAKA *et al.*, 2003).

Vaksin rekombinan merupakan hasil manipulasi secara genetik suatu mikroorganisme tertentu yang dapat membawa gen PA dari *B. anthracis*. Mikroorganisme yang biasanya digunakan untuk

keperluan ini adalah *B. subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *baculovirus* dan *virus vaccinia*. (IVINS *et al.*, 1990; IACONO-CONNORS *et al.*, 1991; COULSON *et al.*, 1994; SPLINO *et al.*, 2005). Di samping itu, dapat dilakukan manipulasi genetik kuman *B. anthracis* yang tidak berkapsul untuk dapat menghasilkan atau mengekspresikan gen PA dan tidak mempunyai sifat untuk memproduksi LF dan EF. *Attenuated recombinant B. anthracis* ini telah dikembangkan untuk vaksinasi secara oral dan dapat menginduksi kekebalan humoral dan kekebalan mukosal (BARNARD dan FRIEDLANDER, 1999; COHEN *et al.*, 2000; GRINSTEIN *et al.*, 2005). Spesies *Salmonella* atau *Lactobacillus* merupakan bakteri yang baik dan potensial untuk pengembangan vaksin rekombinan antraks dan dapat digunakan untuk vaksinasi secara oral (WHO, 1998).

Vaksin DNA merupakan vaksin yang mengandung plasmid DNA *B. anthracis*. Fragmen plasmid DNA *B. anthracis* ini dapat membuat sandi untuk mensintesis PA, gen tersebut masuk pada tubuh hewan dan dapat menginduksi dan menstimulasi respon imun humoral dan respon imun seluler, sehingga dapat memberikan proteksi (GU *et al.*, 1999; BREY, 2005).

Dewasa ini, BBAlitvet sedang mengembangkan untuk membuat vaksin subunit (PA). BBAlitvet telah melakukan purifikasi PA dari *B. anthracis* sebagai kandidat vaksin. Selanjutnya PA yang murni ini akan dibuat sebagai bahan pembuatan vaksin subunit dan akan diuji coba penggunaannya pada hewan percobaan di laboratorium dan lapangan.

KESIMPULAN

Program pengendalian antraks pada hewan dan manusia harus diawali dengan penggunaan teknik diagnosis cepat dan akurat, vaksinasi dan investigasi dan surveilans. Pengembangan teknik diagnosis cepat dan lebih akurat dimaksudkan untuk melengkapi metode diagnosis yang sekarang masih digunakan sehingga dapat lebih cepat dalam diagnosis, penanganan dan pengendalian antraks di Indonesia. Untuk lebih meningkatkan hasil vaksinasi antraks, dibutuhkan pengembangan vaksin antraks yang lebih aman, mudah diaplikasikan dan protektif.

DAFTAR PUSTAKA

ASSOCIATION FOR PROFESSIONALS IN INFECTION CONTROL and EPIDEMIOLOGY (APIC). 2005. Anthrax: Current, Comprehensive Information on Pathogenesis, Microbiology, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prophylaxis, Center for Infectious Disease Research and Policy, University of Minnesota, USA.

- BARNARD, J.P. and A.M. FRIEDLANDER. 1999. Vaccination against anthrax with attenuated recombinant strains of *Bacillus anthracis* that produce protective antigen. *Infect. Immunol.* --: 562 – 567.
- BOYAKA, P.N., A. TAFARO, R. FISCHER, S.H. LEPPLA, K. FUJIIHASHI and J.R. MC GEE. 2003. Effective mucosal immunity to anthrax neutralizing antibodies and the cell response following nasal immunization with protective antigen. *J. Immunol.* 176: 5636 – 5643.
- BREY, R.N. 2005. Molecular basic for improved anthrax vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57(9): 1266 – 1269.
- BROSSIER, F., M. LEVY and M. MOCK. 2002. Anthrax spores make an essential contribution to vaccine efficacy. *Infect Immun.* 70(2): 661 – 664.
- COHEN, S., I. MENDELSON, Z. ALTHOUM, D. KOHLER, E. ETHANANY, T. BINO, M. LEITNER, I. INBAR, H. ROSENBERG, Y. GOZES, R. BARAK, M. FISHER, C. KRONMAN, B. VELAN and A. SHAFFERMAN. 2000. Attenuated nontoxigenic and nonencapsulated recombinant *Bacillus anthracis* spore vaccines protect against anthrax. *Infect. Immunol.* 68: 4549 – 4558.
- CONTAGIOUS DISEASE CENTER (CDC). 2002. Comprehensive Procedure for Collecting Environmental Samples for Culturing *Bacillus anthracis*, Emergency Preparedness & Response, Atlanta, GA, USA.
- COULSON, N.M., M. FULOP and R.W. TITBALL. 1994. *Bacillus anthracis* protective antigen, expressed in *Salmonella typhimurium* SL 3261, affords protections against anthrax spore challenge. *Vaccine* 12: 1395 – 1401.
- DE, B.K., S.L. BRAGG, G.N. SANDEN, K.E. WILSON, L.A. DIEM, C.K. MARSTON, A.R. HOFFMASTER, G.A. BARNETT, R.S. WEYANT, T.G. ABSHIRE, J.W. EZZELL and T. POPOVIC. 2002. Two component direct fluorescent antibody assay for rapid identification of *B. anthracis*. *Emerg. Infect. Dis.* 8(10): 1060 – 1065.
- DEPARTEMEN KESEHATAN. 2003. Pedoman Tata Laksana Kasus dan Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Antraks di Rumah Sakit. Dirjen Pemberantasan Penyakit Menular dan Pencegahan Lingkungan. Departemen Kesehatan RI.
- FLICK-SMITH, H.C., E.J. EYLES, R. HEBDON, E.L. WATERS, R.J. BEEDHAM, T.J. STAGG, J. MILLER, H.O. ALPAR, L.W.J. BAILLIE and E.D. WILLIAMSON. 2002. Mucosal or parenteral administration on microsphere associated *Bacillus anthracis* protective antigen protects against anthrax infection in mice. *Infect. Immun.* 70(4): 2022 – 2028.
- GRINSTEIN, A.R., O. GAT, Z. ALTHOUM, B. VELAN, S. COHEN and A. SHAFFERMAN. 2005. Oral spora vaccine based on live attenuated nontoxigenic *Bacillus anthracis* expression recombinant mutant protective antigen. *Infect. Immunol.* 73(7): 4043 – 4053.
- GU, M.L., S.H. LEPPLA and D.M. KLINMAN. 2004. Protection against anthrax toxin by vaccination with a DNA plasmid encoding anthrax protective antigen. *Vaccine* 17: 340 – 344.

- HARDJOUTOMO, S., M.B. POERWADIKARTA, B.E. PATTEN and K. BARKAH. 1993. The application of ELISA to monitor the vaccinal response of anthrax vaccinated ruminants. *Penyakit Hewan Ed. Khusus* 46A. 25: 7 – 10.
- IACONO-CONNORS, L.C., S.L. WELKOS, B.E. IVINS and J.M. DALRYMPLE. 1991. Protection against anthrax with recombinant virus-expressed protective antigen in experimental animals. *Infect. Immunol.* 59: 1961 – 1965.
- IVINS, B.E., S.L. WELKOS, G.B. KNUDSON and S.F. LITTLE. 1990. Immunization against anthrax with aromatic compound-dependent (aro) mutants of *Bacillus anthracis* and with recombinant strains of *Bacillus subtilis* that produce anthrax protective antigen. *Infect. Immunol.* 58: 303 – 308.
- LEPPLA, S.H., J.B. ROBBINS, R. SCHNEERSON and J. SHILOACH. 2002. Development of an improved vaccine for anthrax. *J. Clin. Invest.* 110(2): 141 – 144.
- MULLER, J.D., C.R. WILKS, K.J. O'RILEY, R.J. CONDRON, R. BULL and A. MATECZUN. 2004. Specificity of an immunochromatographic test for anthrax. *Aust. Vet. J.* 82(4): 220 – 222.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE). 2000. Anthrax. *In: Manual of Standards Diagnostic and Vaccines*, World Health Organization. pp. 235 – 239.
- PARKINSON, R., A. RAJIC and C. JENSON. 2003. Investigation of a anthrax outbreak in Alberta in 1999 using geographic information system. *Can. Vet. J.* 44(4): 315 – 318.
- POBOJEWSKI, S. 2004. Anthrax Spore can Germinate, Grow and Reproduce in Soil. University of Michigan.
- SIREGAR, E.A. 2002. Antraks: Sejarah masa lalu, situasi pada saat ini, sejarah diagnosa dan kecenderungan perkembangan ilmu di masa depan. Simposium Sehari Penyakit Antraks: Antraks di Indonesia, Masa Lalu, Masa Kini dan Masa Depan. Bogor, 17 Juli 2002. Balitvet, Bogor.
- SPLINO, M., J. PATOCKA, R. PRYMULA and R. CHLIBEK. 2005. Anthrax vaccine. *Ann Saudi Med.* 25(2): 143 – 149.
- STERNE, M. 1959. Diseases due to bacteria. *In: Infectious Diseases of Animals Vol. 1.* STABLEFORTH, A.W. and I.A. GALLOWAY (Eds.). Butterworths, London. UK.
- TODAR, K. 2002. *Bacillus anthracis* and Anthrax, Departement of Bacteriology, University of Wisconsin, Madison, USA.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 1998. Guidelines for the surveillance and control of anthrax in humans and animals, 3rd Ed. Departement of Communicable Disease Surveillance and Response. TURNBULL, P.C.B., R. BOHM, O. COSIVI, M. DOGANAY, M.E. HUGH JONES, D.D. JOSHI, M.K. LALITHA and V. DE VOS. (Eds.). World Health Organization.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 1967. Requirements for Anthrax Spore Vaccine (Live – for Veterinary Use) (Requirements for Biological Substances no. 13). World Health Organization Technical Report Series 1967 No. 361.