

## Mengenal *Bacillus anthracis*

Oleh Dr. Arief B. Witarto

Pengamat iptek dengan spesialisasi pada bioteknologi (<http://www.biotek-indonesia.net>)

Nama anthrax kembali akrab di telinga kita akibat pemberitaan media yang gencar mengenai kasus teror menggunakan agen hayati (bioterrorisme) baru-baru ini di Amerika. Dalam kesempatan ini, tak ada salahnya kita mengenal lebih dalam mengenai bakteri *Bacillus anthracis*, patogen penyebab anthrax karena penyakit ini juga dikenal di Indonesia seperti kejadian di Purwakarta (Januari 2000) dan Bogor (Januari 2001) yang lalu.

### Racun

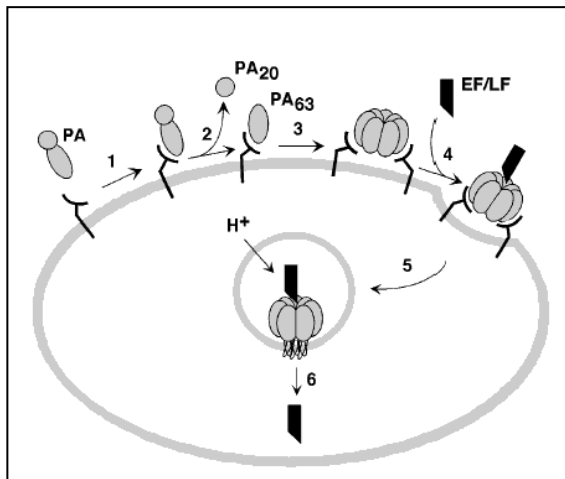
Anthrax sudah dikenal lama dalam sejarah manusia dimana catatan pertama penyakit ini ada dalam sejarah Mesir kuno. Studi sistematis *B. anthracis* dimulai akhir abad 19 oleh dua ilmuwan besar, Robert Koch (ahli ilmu bakteri/bacteriology dari Jerman) dan Louis Pasteur (ahli ilmu kekebalan tubuh/immunology dari Perancis). Koch, penerima Hadiah Nobel Kedokteran 1905, untuk pertama kalinya berhasil membiakkan kultur murni *B. anthracis* sekaligus menunjukkan bahwa bakteri ini dapat membentuk spora serta membuktikan *B. anthracis* sebagai penyebab penyakit anthrax dengan menyuntikkan pada hewan percobaan pada tahun 1877. Beberapa tahun kemudian (1881), Pasteur, "bapak imunisasi", menggunakan bakteri yang sama berhasil menunjukkan bahwa imunisasi dapat ditimbulkan melalui penyuntikan *B. anthracis* yang dilemahkan dengan percobaannya di depan umum yang terkenal di Pouilly Le Front, Perancis. Jadi, *B. anthracis* sebenarnya telah memberikan sumbangan yang besar bagi kemanusiaan dengan menjadi model awal studi bacteriology dan immunology.



**Vaksinasi pertama anthrax.** Ilustrasi suasana percobaan di Pouilly Le Front oleh Louis Pasteur.

Setelah itu, beberapa bakteri patogen lain berhasil diisolasi di lab Koch, misalnya *Clostridium tetani* yang menyebabkan tetanus oleh peneliti Jepang, Shibasaburo Kitasato (1894) dan Emil Adolf von Behring dengan penelitiannya mengenai bakteri *Corynebacterium diphtheriae*, penyebab difteri yang mengantarkannya mendapatkan Hadiah Nobel Kedokteran pertama (1901), empat tahun sebelum gurunya sendiri. Kedua bakteri tadi mengeluarkan protein toksin (racun) yang menyebabkan kematian. Protein itu dapat diisolasi dari kultur biakan sehingga memudahkan studi lebih lanjut. Akan tetapi hal serupa tidak ditemukan pada *B. anthracis* sehingga menghambat studi patogenesis bakteri ini puluhan tahun. Misalnya, saat itu diduga penyebab kematian anthrax karena penyumbatan pembuluh kapiler, kekurangan oksigen dan fenomena lain yang disebabkan oleh bakteri itu sendiri.

Sampai kemudian tahun 1950-an, Harry Smith, peneliti kimia organik bekerja sama dengan James Keppie, seorang dokter hewan, berhasil menemukan protein toksin dari darah kelinci percobaan yang terserang anthrax di Inggris. Mereka membuktikan keberadaan protein racun tersebut dengan menunjukkan bahwa bakteri sebanyak lebih dari 3 juta/ml darah, walaupun telah dibunuh dengan antibiotika, tetap menyebabkan kematian. Hal ini membuktikan bahwa *B. anthracis* mengeluarkan racun penyebab kematian. Melalui penelitian yang melelahkan, tahun 1954, mereka berhasil mengisolasi protein racun dari plasma darah menggunakan lebih dari 100 kelinci.



**Mekanisme kerja racun *B. anthracis*.** Interaksi PA dengan reseptor di permukaan sel mengakibatkan berpisahannya dua molekul PA (1,2). PA63 kemudian membentuk kompleks dengan sesamanya (3) yang memungkinkan EF dan LF berinteraksi dengannya (4). Komplek akhir ini yang bisa memasuki sel (5) dimana EF dan LF kemudian lepas dari kompleks dan berfungsi sebagai racun (6).

Protein racun *B. anthracis* terdiri dari 3 komponen berbeda yang saling membantu yaitu Lethal Factor (LF), Oedema Factor (EF) dan Protective Agent (PA). LF adalah komponen sentral racun ini yang bekerja sebagai protease (enzim pemotong protein) dimana aktivitasnya bergantung pada logam seng (zinc). Enzim serupa ditemukan pada beberapa bakteri patogen berbahaya seperti *C. tetani*, *C. botulinum*, *Vibrio cholerae* penyebab kolera, dsb. Baru-baru ini diketahui target LF dalam sel adalah protein MEK1/2 yang bertugas mengantarkan sinyal kimiawi dari luar ke dalam sel. EF adalah enzim adenylate cyclase yang bekerja mensintesa molekul cAMP sehingga peningkatan kadarnya secara tak terkontrol bisa menyebabkan hilangnya cairan tubuh.

Untuk dapat berfungsi, LF dan EF perlu masuk sel. Tugas ini dibantu oleh PA. PA awalnya adalah protein yang terdiri dari satu subunit (monomer) yang bila berikatan dengan reseptor

husus dalam sel yang akan diserang, menjadi terpotong dua bagian oleh aktivitas protease furin. Berikutnya, bagian PA yang masih berikatan dengan reseptor tadi membentuk heptamer (tujuh subunit) dan memungkinkan LF dan EF berikatan yang selanjutnya bisa masuk ke dalam sel.

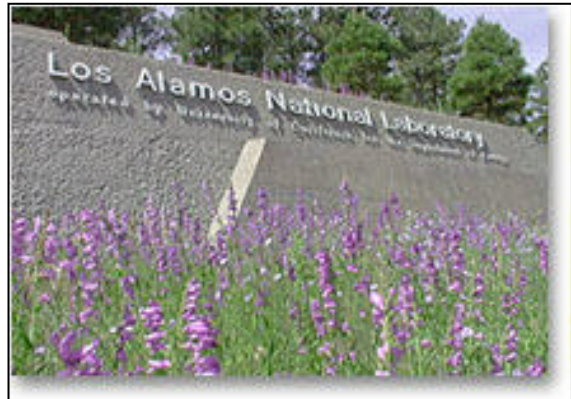
Sebenarnya, masih ada satu lagi racun *B. anthracis* yang teridentifikasi, yaitu kapsul spora bakteri itu sendiri. Kapsul ini terbuat dari polimer asam amino D-glutamate yang berkatnya spora itu sukar dihancurkan oleh sel pemakan (macrophage). Akan tetapi, racun pembunuh utama adalah tiga protein tadi, khususnya LF dan PA. Konsentrasi LF sekecil 0,6 mikrogram bila ada bersama 3 mikrogram PA dapat membunuh macrophage dalam beberapa jam saja.

## Genom dan Vaksin

*B. anthracis* termasuk dalam spesies *Bacillus* yang merupakan bakteri jenis Gram positif. Bakteri jenis ini penting untuk industri, lingkungan dan kesehatan. Misalnya, *B. subtilis* adalah produsen enzim amylase dan protease untuk tekstil dan makanan. *B. subtilis* (natto) dipakai untuk fermentasi sejenis tempe bernama natto yang digemari masyarakat Jepang. *Bacillus* juga model makhluk hidup paling sederhana yang melakukan metamorfosa (proses perubahan badan seperti ulat menjadi kupu-kupu) dari bakteri menjadi spora. Sehingga aspek

biokimia, genetika dan fisiologinya menjadi pusat perhatian sejak 40 tahun yang lalu. Melalui kerjasama 46 lembaga di Eropa, Jepang dan Amerika, genom *B. subtilis* berhasil disekuen tahun 1997.

Selain *B. subtilis*, contoh lain yang terkenal dalam spesies ini adalah *B. thuringiensis* yang gen dari protein racunnya, kristal protein, disisipkan pada tanaman transgenik seperti kapas, kedelai, jagung dsb agar tahan hama. Dari sekian banyak anggota spesies *Bacillus*, hanya *B. anthracis* yang bersifat patogen. Sifat yang disebabkan oleh racun-racun seperti dijelaskan di atas itu disebabkan oleh dua plasmid di bakteri ini yaitu pXO1 dan pXO2. Plasmid ini berukuran cukup besar yaitu masing-masing, 181 Kbp (kilo base pair, 1 kilo=seribu) dan 95 Kbp. Di antara 143 gen yang dikode oleh pXO1 terdapat tiga protein racun di atas. Sekuen pXO1 sudah dirampungkan tahun 1999 oleh grup peneliti dari Los Alamos National Laboratory, lembaga penelitian milik Departemen Energi Amerika. Grup yang sama sedang menyelesaikan sekuen pXO2. Dalam pXO2 sekurangnya ada tiga gen yang mengatur sintesa poly-D-glutamate, racun spora bakteri ini. *B. anthracis* yang tidak memiliki dua plasmid itu, tidak lagi berbahaya. Jadi hanya bagian sangat kecil saja dari genom *B. anthracis* yang bertanggung jawab pada sifat patogenitasnya.



LANL. Tempat dimana genom *B. anthracis* dibaca.

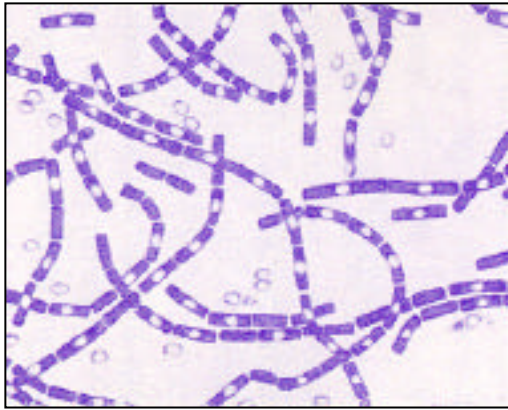
Selain dua plasmid ini, genom *B. anthracis* memiliki kromosom yang besarnya 4,2 Mbp (M=mega, 1 mega=sejuta), hampir sama dengan *Eschericia coli*. Sekuen kromosom ini sebentar lagi selesai, dikerjakan sendiri oleh The Institute of Genomic Research (TIGR) yang dimungkinkan berkat teknologi revolusionernya yang dikembangkan oleh Craig Venter, pendiri TIGR dan Celera Genomics yang baru saja merampungkan sekuen genom manusia.

Vaksin yang digunakan Pasteur adalah bakteri yang tidak memiliki plasmid pXO1 sehingga tidak dapat memproduksi protein racun. Untuk itu efektivitas vaksin ini dipertanyakan. Namun demikian, penggunaan vaksin dengan bakteri yang memiliki pXO1 menimbulkan kekhawatiran terhadap kontaminasi lingkungan. Untuk itu, telah dibuat bakteri yang punya kedua plasmid tersebut tapi dengan rekayasa genetika dibuat agar tidak bisa membuat protein racun EF dan LF. Strain bakteri yang disebut RPLC2 ini dibuat oleh grup dari Institut Pasteur di Perancis dan terbukti ampuh menimbulkan daya tahan tanpa efek samping pada tikus.

Spora *B. anthracis* bisa hidup puluhan sampai ratusan tahun. Sehingga hal ini menimbulkan kekhawatiran akan penggunaan spora hidup *B. anthracis* untuk vaksinasi walau sudah dilemahkan. Untuk itu, saat ini di Inggris dan Amerika khususnya, dipakailah protein PA yang tidak bersifat toksin secara langsung, sebagai vaksin. Tetapi efisiensinya rendah sehingga vaksinasi harus dilakukan berulang kali. Selain itu, variasi dalam asam amino PA di antara banyak strain *B. anthracis* menyebabkan efektivitas vaksin jenis ini dipertanyakan.

## **Anthrax**

Setelah mengenal racun dan vaksin *B. anthracis*, dalam bagian terakhir tulisan ini akan dibahas mengenai anthrax itu sendiri. Dari perbedaan tempat infeksi di tubuh, anthrax dapat



**Tampang *B. anthracis*.** Berbentuk segi empat dengan ukuran kira-kira 1 x 4 mikron. Bulatan putih di tengah sel adalah spora. Warna biru adalah zat pewarna.

dibagi menjadi tiga jenis. Yang pertama adalah "cutaneous anthrax" yang disebabkan oleh infeksi melalui luka di kulit. Jenis ini meliputi >95% kasus yang dilaporkan di seluruh dunia, termasuk kasus di Bogor, Januari tahun ini. Spora dari binatang yang terinfeksi, misal di tempat penjagalan, masuk ke kulit korban melalui lubang luka. Dalam waktu 1-2 hari kemudian, muncul benjolan yang gatal, disusul dengan gelembung cairan kemudian borok hitam. Apabila cepat diobati, >99% dapat sembuh total. Tapi seperti yang terjadi di Indonesia, biasanya hal ini kurang diperhatikan sehingga infeksi lebih lanjut ke jaringan lain melalui aliran darah bisa menimbulkan kondisi yang lebih parah dan mematikan.

Jenis kedua yang terbanyak berikutnya adalah "gastro intestinal anthrax" yang disebabkan oleh infeksi melalui makanan/daging yang sudah tertular. Spora *B. anthracis* sangat stabil, sehingga lebih baik dihindari memakan daging dari ternak yang mati karena anthrax. Contoh di Indonesia adalah peristiwa di Purwakarta, Jabar awal tahun 2000 akibat mengkonsumsi daging burung unta terinfeksi yang dijual murah. Gejalanya adalah sakit perut yang mendadak, disertai rasa mual, muntah-muntah dan mencret berat. Bila sudah parah, akan sampai kepada pendarahan dalam perut. Kalau tidak segera diobati, resiko kematiannya mencapai 25-60%.

Yang terakhir adalah "inhaled anthrax". Jenis ini disebabkan oleh spora yang terhirup oleh korban. Jadi hanya mungkin disebabkan oleh ulah manusia yang menyebarkan spora tersebut dalam tindakan terorisme atau perang. Contohnya kasus di Amerika baru-baru ini dan kecelakaan pabrik pembuat senjata biologis Rusia tahun 1979 di kota Sverdlovsk (sekarang disebut kota Yekaterinburg).

Dalam kasus ini, anthrax sangat mematikan (90% kemungkinan tewas). Ini disebabkan karena spora *B. anthracis* langsung terbawa ke dalam tubuh melalui paru-paru dan berinteraksi dengan sel macrophage yang menjadi sasaran pertamanya. Selain itu, gejala awalnya setelah 1-5 hari terinfeksi (masa inkubasi), sangat mirip dengan flu biasa, seperti batuk-batuk, panas dan badan lemah. Sehingga ketika kondisi makin parah seperti sulit bernafas, sudah dipastikan korban tidak tertolong lagi karena protein racun sudah menyebar ke mana-mana dan tidak bisa dimusnahkan dengan antibiotika seperti dijelaskan di awal.

## Kesimpulan

Pengetahuan mengenai *B. anthracis*, penyebab anthrax, sudah makin banyak diketahui mulai dari racun penyebabnya sampai kepada genom bakteri tersebut. Dapat diketahui, penyakit ini bukanlah penyakit ini yang sangat menakutkan seperti AIDS misalnya, karena dapat disembuhkan. Bila gejala awal segera ditangani, dapat diharapkan kesembuhan total. Deteksi awal, khususnya seperti dalam "inhaled anthrax", sedang menjadi perhatian khususnya sejak munculnya bioterorisme baru-baru ini. Tentunya yang paling penting adalah segala tindakan pencegahan, seperti menghindari daging hewan tertular dan mungkin juga pencegahan munculnya terorisme.