



**RESPON IMUN *Mus musculus* BALB-C YANG DIVAKSINASI
KELENJAR SALIVA *Anopheles maculatus* (DIPTERA: CULICIDAE)
PRA DAN PASCA INFEKSI *Plasmodium berghei* SEBAGAI MODEL
TRANSMISSION BLOCKING VACCINE**

SKRIPSI

Oleh

**IMAM HANAFY
NIM 081810401046**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2013**



**RESPON IMUN *Mus musculus* BALB-C YANG DIVAKSINASI
KELENJAR SALIVA *Anopheles maculatus* (DIPTERA:CULICIDAE)
PRA DAN PASCA INFEKSI *Plasmodium berghei* SEBAGAI MODEL
TRANSMISSION BLOCKING VACCINE**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh
Imam Hanafy
NIM 081810401046

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2013**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Alm. Kedua orang tua tercinta yang telah memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang, kerja keras, pengorbanan, dan perjuangan untukku setiap waktu disepanjang hidupnya.
2. semua keluarga besar dan teman-teman yang telah mendukung dan memberi motivasi dalam menempuh pendidikan.
3. guru dan dosen yang telah mendidikku dengan penuh kesabaran sejak dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi.
4. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.



MOTO

“Orang yang berilmu dan ahli ibadah memiliki derajat lebih tinggi daripada orang biasa dan ahli ibadah. Oleh karena itu, jangan mau menjadi orang biasa-biasa saja.

Jadilah orang yang paham ilmu dunia dan ilmu akhirat.

Hikmahnya bukan hanya untuk diri kita sekarang, tapi juga untuk anak cucu kita nantinya” (HR. Muslim)ⁱ

“Bantinglah otak untuk mencari ilmu sebanyak-banyaknya guna mencari rahasia besar yang terkandung di dalam benda besar yang bernama dunia ini,

tetapi pasanglah pelita dalam hati sanubari, yaitu pelita kehidupan jiwa. (Al- Ghazali)ⁱⁱ



ⁱ Abdullah bin Abdurrahman Alu Bassam. 2011. *Syarah Hadist Pilihan Bukhari-Muslim*. Bekasi: PT. Darul Falah.

ⁱⁱ Alwi bin Ali Al-Habsy. 2010. *Duhai Anak Cucu Adam - Kumpulan Hadits Qudsi*. Jakarta: Pustaka Zawiyah.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Imam Hanafy

NIM : 081810401046

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Respon Imun *Mus musculus* BALB-C yang Divaksinasi Kelenjar Saliva *Anopheles maculatus* (Diptera: Culicidae) Pra dan Pasca Infeksi *Plasmodium berghei* sebagai Model *Transmission Blocking Vaccine*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 22 Januari 2013

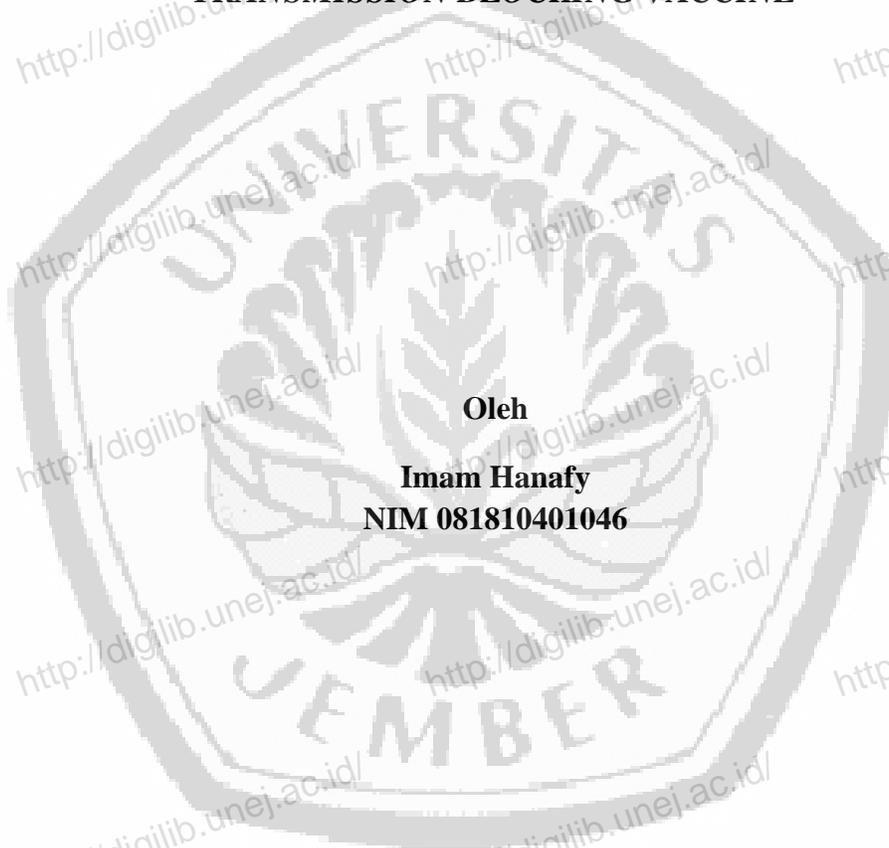
Yang menyatakan,

Imam Hanafy

NIM 081810401046

SKRIPSI

**RESPON IMUN *Mus musculus* BALB-C YANG DIVAKSINASI
KELENJAR SALIVA *Anopheles maculatus* (DIPTERA: CULICIDAE)
PRA DAN PASCA INFEKSI *Plasmodium berghei* SEBAGAI MODEL
TRANSMISSION BLOCKING VACCINE**



Oleh

Imam Hanafy

NIM 081810401046

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Sri Mumpuni Wahyu Widajati, S.Pd., M. Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Respon Imun *Mus musculus* BALB-C yang Divaksinasi Kelenjar Saliva *Anopheles maculatus* (Diptera: Culicidae) Pra dan Pasca Infeksi *Plasmodium berghei* sebagai Model *Transmission Blocking Vaccine*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal:

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, M.Si.
NIP. 197509132000032001

Sri Mumpuni Wahyu Widajati, S.Pd., M.Si.
NIP. 197509132000032001

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd.
NIP. 195805281988021002

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP. 196008161989021001

Mengesahkan

Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Respon Imun *Mus musculus* BALB-C yang Divaksinasi Kelenjar Saliva *Anopheles maculatus* (Diptera: Culicidae) Pra dan Pasca Infeksi *Plasmodium berghei* sebagai Model *Transmission Blocking Vaccine*; Imam Hanafy, 081810401046; 2013: 45 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Malaria merupakan salah satu penyakit utama di negara-negara tropis dengan mortalitas satu juta kematian per tahunnya. Malaria disebabkan oleh protozoa dari genus *Plasmodium* yang diperantarai oleh vektor *Anopheles*. Di Indonesia malaria telah menyebar ke seluruh kepulauan terutama di bagian timur. Meningkatnya insiden malaria disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu adanya kasus resistensi terhadap obat anti malaria. Strategi baru yang dilakukan adalah dengan mengembangkan vaksin melawan malaria. Penelitian terbaru tentang vaksin malaria menunjukkan bahwa kelenjar saliva mengandung senyawa-senyawa aktif yang memegang peranan penting dalam mentransmisikan patogen ke dalam tubuh inang. Adanya paparan gigitan nyamuk *Anopheles* yang berulang justru akan memberikan kekebalan terhadap tubuh inang. Hal ini ditunjukkan dengan adanya perubahan respon imun dari T *helper* 2 (Th2) ke arah T *helper* 1 (Th1). Oleh sebab itu kelenjar saliva dari vektor malaria dimungkinkan mampu menghambat transmisi dari patogen sehingga sangat potensial sebagai kandidat target untuk pengembangan *Transmission Blocking Vaccine* (TBV). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi kelenjar saliva *An. maculatus* sebagai model vaksin dalam menghambat transmisi patogen. Hal ini dilakukan dengan mengamati respon imun mencit (sitokin IFN- γ dan IL-4) yang divaksinasi vaksin model tersebut pra dan pasca infeksi *P. berghei*. Metode yang digunakan antara lain: *Rearing An. maculatus*, isolasi kelenjar saliva, persiapan hewan coba dan vaksinasi, preparasi *P. berghei* dan mencit donor, infeksi hewan coba menggunakan *P. berghei*, pengukuran kadar IFN- γ dan IL-4 dengan metode ELISA (*Enzym-linked Immunosorbent Assay*). Hasil yang didapatkan dari penelitian ini

adalah kelenjar saliva *An. maculatus* terbukti mampu memodulasi respon imun inang. Hal ini ditunjukkan dengan perubahan kadar sitokin IFN- γ dan IL-4 pada kelompok yang divaksinasi jika dibandingkan dengan kelompok yang tidak divaksinasi menggunakan vaksin model kelenjar saliva. Faktor immunomodulator yang berperan pada peningkatan kadar IFN- γ dan dan penurunan kadar IL-4 dimungkinkan bersifat *soluble* (supernatan). Oleh karena itu, perlu dilakukan adanya penelitian lanjutan untuk melakukan karakterisasi protein yang diduga sebagai protein immunomodulator.



PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Respon Imun *Mus musculus* BALB-C yang Divaksinasi Kelenjar Saliva *Anopheles maculatus* (Diptera: Culicidae) Pra dan Pasca Infeksi *Plasmodium berghei* sebagai Model *Transmission Blocking Vaccine*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si dan Sri Mumpuni Wahyu Widajati, S.Pd., M.Si. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak membantu dan meluangkan waktu, pikiran, dan perhatiannya untuk membimbing penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
2. Dr. Hidayat Teguh, M.Pd. dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes. selaku Dosen Penguji yang telah banyak memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. Sattya Arimurti, S.P., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam masa perkuliahan, dan dr. Yunita Armiyanti, M.Kes. selaku Dosen dalam proyek penelitian yang telah memberikan banyak masukan dan bimbingan dalam penyelesaian penyusunan skripsi ini;
4. bapak dan ibu dosen, serta seluruh staf di Lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, atas segala keikhlasan hati membantu penulis selama masa perkuliahan;
5. kedua orang tua tercinta Alm. M. Qari dan Alm. Rahmah yang telah mencurahkan segala perhatian, kasih sayang, doa tulus selama masa hidupnya yang selalu mengiringi penulis hingga beranjak dewasa,

6. kedua saudara Imam Syafi'i dan Lutfiyati yang selalu memberikan semangat, canda tawa, motivasi dan doa disetiap hari kehidupan penulis;
7. teman-teman laboratorium "TBV *Research Group*" Ika Agus Rini, Syubbanul Whaton, Zahirah, Harmas, P. Ali, Dini, Dani, Dwi Esti S.Si, Dewi Riska S.Si. Teman "Bakteri *Research Group*" Arif Setiawan, Madaniyah, Dewi Eka, Dina Fitriyah S.Si. Teman-teman "*Sugar Group*" terima kasih atas kerja sama, dukungan serta bantuan yang diberikan selama penelitian;
8. teman-teman angkatan 2008, Arifqi Nurmaidah, Niar, Wisnu, Maya, Azizah, Lutfiya dan semuanya teman-teman seperjuangan dan sepenanggungan di *Omfalomesenterika* terima kasih atas kebersamaan, persaudaraan dan tempat berbagi suka dan duka;
9. dan kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuannya dalam menyelesaikan penelitian ini dan telah mendoakan demi suksesnya ujian skripsi ini.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat-Nya dan hanya Allah jualah yang dapat membalas semua kebaikan-kebaikannya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis menerima segala kritik dan saran dari pembaca sekalian. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Jember, Januari 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	4
1.5 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Malaria dan Epidemiologi	5
2.2 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i>	7
2.3 Vektor Patogen Malaria	9
2.4 <i>An. maculatus</i> sebagai Vektor Utama Malaria di Jawa dan Sumatra	10
2.5 Peranan Saliva Vektor <i>Anopheles</i> dalam Transmisi Malaria	13

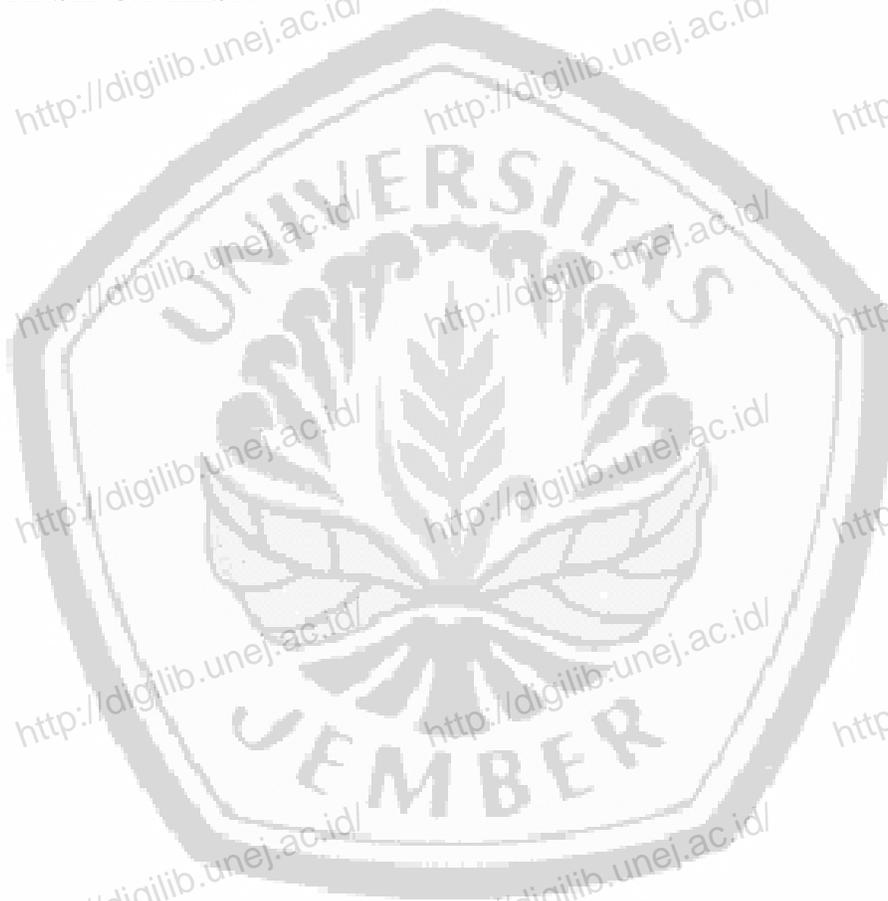
2.6 Respon Imunologi terhadap Malaria berkaitan dengan Transmisinya oleh Vektor	14
2.7 Perkembangan Vaksin Malaria	16
2.8 Perkembangan <i>Transmission Blocking Vaccine</i> (TBV) Berbasis Saliva Vektor	18
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Waktu dan Tempat	20
3.2 Alat dan Bahan	20
3.3 Prosedur Penelitian	20
3.3.1 <i>Landing collection</i> dan <i>Rearing An. maculatus</i>	21
3.3.2 Isolasi Kelenjar Saliva <i>An. maculatus</i>	22
3.3.3 Persiapan Hewan Uji	22
3.3.4 Pembuatan Vaksin	22
3.3.5 Vaksinasi Hewan Uji <i>Mus musculus</i>	23
3.3.6 Preparasi <i>P. berghei</i> dan Persiapan Mencit Donor	23
3.3.7 Infeksi Hewan Uji dengan <i>P. berghei</i>	24
3.3.8 Pengumpulan Plasma Hewan Uji	24
3.3.9 Pengukuran Kadar IFN γ dan IL-4 dengan Metode ELISA (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>)	25
3.4 Rancangan Penelitian	26
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Kelenjar Saliva <i>An. maculatus</i>	27
4.2 Pengukuran Kadar Sitokin IFN-γ dan IL-4	28
BAB 5. PENUTUP	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Peta sebaran kejadian luar biasa (KLB) malaria di Indonesia tahun 2006-2009	6
2.2 Siklus hidup <i>Plasmodium</i>	8
2.3 Peta sebaran vektor malaria Indonesia	9
2.4 Siklus hidup <i>Anopheles</i>	12
2.5 Morfologi vektor <i>An. maculatus</i>	12
2.6 Vaksin malaria	17
4.1 Kelenjar saliva <i>Anopheles</i> betina	28
4.2 Kadar sitokin IL-4 dan IFN- γ dari sampel plasma hewan uji pada uji validasi	31
4.3 Kadar sitokin IL-4 dan IFN- γ dari sampel plasma hewan uji pada uji populasi	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. KURVA STANDART	41
B. HASIL UJI ELISA	43



DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN



3M	: Menguras, Menutup dan Menngubur
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
CDC	: <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
IFN- γ	: Interferon γ
IL-10	: Interleukin 10
IL-12	: Interleukin 12
IL-2	: Interleukin 2
IL-4	: Interleukin 4
KLB	: Kejadian Luar Biasa
MSP-1	: Merozoit <i>Surface Protein-1</i>
NaCl	: Natrium Klorida
NK cell	: <i>Natural Killer cell</i>
NO	: Nitrat Oksidase
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
SG-1	: <i>Salivary Gland 1 (Pelet)</i>
SG-2	: <i>Salivary Gland 2 (Supernatan)</i>
TBV	: <i>Transmission Blocking Vaccine</i>
Th1	: T <i>helper 1</i>
Th2	: T <i>helper 2</i>
TNF- α	: <i>Tumor Nekrosis Factor α</i>
TRAP	: <i>Thrombospondin-related adhesive protein</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
WRB UNIT	: <i>Walter Reed Biosistematis Unit.</i>

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan masalah kesehatan terutama di negara-negara tropis dengan mortalitas satu juta kematian per tahunnya (CDC, 2004). Lebih dari 45% penduduk dunia pernah mengalami malaria. Di Indonesia malaria telah menyebar keseluruhan kepulauan terutama di bagian timur (Afandi *et al.*, 2008). Malaria mudah menyebar pada sejumlah penduduk, terutama yang bertempat tinggal di daerah persawahan, perkebunan, hutan maupun pantai. Pada tahun 2002, sejumlah daerah di Jawa Tengah dan Yogyakarta dilaporkan terserang wabah malaria (Anies, 2005). Meningkatnya insiden malaria tersebut disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah adanya kasus resistensi terhadap obat anti malaria dan resistensi nyamuk yang menjadi vektor malaria terhadap insektisida. (Harijanto, 2000; WHO, 2010; Carter *et al.*, 2000).

Malaria disebabkan oleh protozoa obligat intraseluler dari genus *Plasmodium*. Terdapat empat jenis *Plasmodium* yang dapat menginfeksi manusia yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium ovale*. Dari keempat jenis *Plasmodium* malaria tersebut, *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* merupakan penyebab terbanyak kasus malaria. *Plasmodium falciparum* merupakan penyebab kasus malaria berat dan penyebab utama kematian akibat malaria (Carter *et al.*, 2000; Langhorne *et al.*, 2008). Penelitian membuktikan bahwa respon sistem imun tubuh terhadap malaria juga berkontribusi pada patofisiologi malaria pada manusia (Perlmann & Blomberg, 2002).

Penyebaran penyakit ini diperantarai oleh vektor *Anopheles*. Di Indonesia terdapat sekitar 80 spesies *Anopheles*, sedangkan yang dinyatakan sebagai vektor malaria adalah sebanyak 22 spesies dengan tempat perindukan yang berbeda-beda (Gandahusada, 2006). Fauna *Anopheles* di pulau Jawa sebagaimana hasil penelitian Nurhayati (2008) diantaranya *Anopheles maculatus* (*An. maculatus*), *An. aconitus*,

An. vagus, *An. balabacensis*, *An. flavirostris*, *An. kochi*, *An. subpictus*, *An. sondaicus*. Di daerah Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta *An. maculatus* berperan sebagai vektor utama dan juga di beberapa daerah lain, khususnya di Indonesia bagian barat (Damar, 2002). Selain ditularkan melalui nyamuk, malaria dapat ditularkan secara langsung melalui transfusi darah atau jarum suntik yang tercemar darah yang terinfeksi patogen, serta dari ibu hamil kepada bayinya (Hariyanto, 2000).

Upaya pemberantasan malaria di Indonesia masih mengalami beberapa kendala antara lain timbulnya resistensi vektor terhadap pestisida serta pengetahuan masyarakat terhadap malaria yang rendah (Zein, 2005). Berbagai hal tersebut diatas menyebabkan mortalitas dan morbiditas malaria tetap tinggi. Hal ini ditandai dengan *re-emerging* dari malaria pada tahun 2007 (Depkes, 2009). Penanggulangan melalui pemberantasan nyamuk secara langsung dengan gerakan 3M (menguras, menutup dan mengubur) serta pengasapan atau foging diberbagai daerah yang diduga sebagai sarang nyamuk belum menunjukkan hasil yang memuaskan (Depkes RI, 2003).

Strategi baru terhadap pemberantasan malaria adalah dengan mengembangkan vaksin melawan malaria. Vaksin malaria cukup sulit untuk dikembangkan karena kompleksnya siklus hidup dari *Plasmodium* serta adanya keanekaragaman sifat antigenik pada setiap fasenya (Ballou *et al.*, 2004). Pengembangan vaksin terbaru lebih memfokuskan pada parasit yang paling sering dijumpai pada kasus-kasus malaria yaitu *P. falciparum* dan *P. vivax*. Hal ini disebabkan karena efek dan komplikasi dari spesies ini lebih berat dari spesies yang lain. Pengembangan vaksin malaria memiliki berbagai tipe berdasarkan siklus hidup parasit. Terdapat tipe *Pre-erithrocytic stage vaccine*, *Blood stage vaccine*, dan *Transmission Blocking Vaccine* (TBV) (Carter *et al.*, 2000). TBV adalah vaksin yang dapat mencegah dan menghentikan terjadinya transmisi patogen dari vektor ke hospes (manusia). Penelitian-penelitian terus dikembangkan untuk mencari kandidat vaksin TBV yang lebih efektif untuk melawan malaria (WHO, 2000).

Penelitian terbaru tentang vaksin malaria adalah vaksin TBV berbasis organ dari vektor Arthropoda salah satunya dengan memanfaatkan kelenjar saliva dari

vektor malaria. Substansi yang terdapat di dalam kelenjar saliva vektor sebagian besar mengandung anti hemostatik, anti inflamasi dan protein imunomodulator. Adanya protein imunomodulator ini dapat menekan sistem imun inang sehingga saat proses *blood feeding*, *Plasmodium* yang terdapat pada kelenjar saliva vektor akan mudah masuk ke dalam tubuh inang (Gillespie *et al.*, 2000).

Berdasarkan penelitian dari Donovan *et al.*, (2007) adanya paparan nyamuk *Anopheles* yang berulang-ulang akan merubah respon imun dari T *helper* 2 (Th2) ke arah T *helper* 1 (Th1). Pergeseran respon imun ini menyebabkan kadar interferon- γ (IFN- γ) meningkat dan menurunnya kadar Interleukin-4 (IL-4) yang berperan dalam pengaktifan makrofag yang dilanjutkan dengan produksi Nitrat Oksidase (NO) yang sangat efektif dalam menghambat perkembangan parasit di dalam tubuh inang (Titus *et al.*, 2006; Donovan *et al.*, 2007). Karena pentingnya substansi protein yang terdapat pada kelenjar saliva terhadap modulasi respon imun inang terhadap patogenesis malaria, maka komponen ini kemudian dikembangkan sebagai kandidat target pembuatan TBV. Penelitian ini ingin mengetahui potensi kelenjar saliva *An. maculatus* yang merupakan salah satu vektor utama malaria di Jawa sebagai model bagi pengembangan TBV melawan malaria.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana profil IFN- γ dan IL-4 pra dan pasca diinjeksi *Plasmodium berghei* (*P. berghei*) dari mencit galur BALB-C yang telah divaksinasi menggunakan vaksin model ekstrak kelenjar saliva *An. maculatus*?

1.3 Batasan Masalah

Respon imun yang diamati meliputi pengamatan profil IFN- γ dan IL-4 dari mencit galur BALB-C sebelum divaksinasi, pasca vaksinasi, 24 jam dan 7 hari pasca diinfeksi *P. berghei*.