



**PENGEMBANGAN *TRANSMISSION BLOCKING VACCINE*  
MELAWAN MALARIA: KONSTRUKSI PUSTAKA cDNA  
PENGKODE FAKTOR IMUNOMODULATOR DARI  
KELENJAR SALIVA VEKTOR MALARIA *Anopheles aconitus***

**SKRIPSI**

Oleh  
**Aktaruddin Arief Santoso**  
**NIM 072010101044**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2010**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Papa saya Hari Santoso dan Mama saya Lina Agustin yang tercinta;
2. Adek saya Syarifuddin Anzari Santoso yang saya sayangi;



## **MOTO**

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

(terjemahan QS: Al Mujadalah ayat 11)

Apabila telah ditunaikan shalat maka bertebarlah kamu di muka bumi dan carilah karunia Allah dan ingatlah Allah banyak-banyak supaya kamu beruntung.

(terjemahan QS: Al Jumuah ayat: 10)

Jika kita sekuat tenaga menghilangkan segala hambatan untuk bertemu dengan Allah swt tepat waktu, maka Allah swt akan menghilangkan segala hambatan yang menghalangi kesuksesan kita

(Santoso, A A)

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Aktaruddin Arief Santoso

NIM : 072010101044

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Pengembangan *Transmission Blocking Vaccine* Melawan Malaria: Konstruksi Pustaka cDNA Pengkode Faktor Imunomodulator dari Kelenjar Saliva Vektor Malaria *Anopheles aconitus*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 3 September 2010

Yang menyatakan,

Aktaruddin Arief Santoso

NIM 072010101044

**SKRIPSI**

**PENGEMBANGAN *TRANSMISSION BLOCKING VACCINE*  
MELAWAN MALARIA: KONSTRUKSI PUSTAKA cDNA  
PENGKODE FAKTOR IMUNOMODULATOR DARI  
KELENJAR SALIVA VEKTOR MALARIA *Anopheles aconitus***

Oleh

Aktaruddin Arief Santoso

NIM 072010101044

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : dr. Yunita Armiyanti, M.Kes.

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

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengembangan *Transmission Blocking Vaccine* Melawan Malaria: Konstruksi Pustaka cDNA Pengkode Faktor Imunomodulator dari Kelenjar Saliva Vektor Malaria *Anopheles aconitus*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :

hari : Jumat

tanggal : 3 September 2010

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua

dr. Yunita Armiyanti, M.Kes

NIP 197406042001122002

Anggota 1

Anggota 2

Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si

NIP 197509132000032001

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D

NIP 197304241999031002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran

Prof.dr. Bambang Suhariyanto, Sp.KK (K)

NIP 194701211983031001

## RINGKASAN

**Pengembangan *Transmission Blocking Vaccine* Melawan Malaria: Konstruksi Pustaka cDNA Pengkode Faktor Imunomodulator dari Kelenjar Saliva Vektor Malaria *Anopheles aconitus***; Aktaruddin Arief Santoso; 072010101044; 2010; 47 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Program eradikasi malaria yang belum berhasil menjadi penyebab malaria masih menjadi masalah kesehatan utama di Indonesia. Malaria menjadi *re-emerging diseases* di beberapa daerah di Indonesia. Penyebabnya adalah meningkatnya resistensi parasit terhadap obat malaria dan belum adanya vaksin yang efektif dalam melawan malaria.

Perkembangan bioteknologi saat ini memungkinkan pengembangan jenis vaksin baru dalam melawan malaria yaitu *Transmission Blocking Vaccine* (TBV) berbasis kelenjar saliva vektor. Vaksin ini memodulasi sistem imun inang dengan target antigen yang berasal dari vektor, yaitu protein imunomodulator. Namun sampai sekarang belum diketahui protein yang menjadi faktor imunomodulator pada kelenjar saliva vektor malaria. *Anopheles aconitus* merupakan vektor utama untuk daerah persawahan untuk pulau Jawa dan Bali. Vektor ini memiliki usia hidup paling tinggi diantara spesies vektor malaria lain di pulau Jawa. Untuk mencari kandidat target dalam pengembangan TBV melawan malaria *A. aconitus* digunakan sebagai representasi salah satu vektor malaria di pulau Jawa.

Pencarian protein imunomodulator memerlukan gen pengkode protein yang berasal dari kelenjar saliva vektor malaria. Gen pengkode protein tersebut didapat dari konstruksi pustaka cDNA dengan bahan RNA total dari kelenjar saliva vektor malaria. Pustaka tersebut menggambarkan sekuen-sekuen primer pengkode protein putatif yang disekresikan kelenjar saliva. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari potensi kelenjar saliva vektor malaria *A. aconitus* sebagai target potensial dalam pengembangan TBV. Secara khusus penelitian ini

bertujuan untuk mendapatkan pustaka cDNA dari kelenjar saliva vektor malaria *A. aconitus*.

Jenis penelitian ini adalah eksploratif. Metode yang digunakan untuk mengkonstruksi pustaka cDNA dalam penelitian ini adalah metode *switching mechanism at 5' end of RNA transcript* (SMART<sup>TM</sup>). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah RNA total hasil isolasi 100 -300 pasang kelenjar saliva *A. aconitus*.

Pustaka cDNA dari kelenjar saliva *A. aconitus* belum berhasil dikonstruksi dalam penelitian ini. Hal tersebut dikarenakan kualitas sampel RNA sebagai templat untuk pembuatan cDNA tidak baik yang dimungkinkan akibat adanya degradasi dari RNA. Secara keseluruhan, keberhasilan konstruksi pustaka cDNA sangat tergantung pada banyak faktor, baik pada tahap isolasi RNA, pemurnian mRNA, dan sintesis cDNA. Namun pada penelitian ini penentu keberhasilan dari konstruksi pustaka cDNA adalah kualitas RNA.



## PRAKATA

Puji Syukur diucapkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sampai dengan selesai. Skripsi ini berjudul “Pengembangan *Transmission Blocking Vaccine* Melawan Malaria: Konstruksi Pustaka cDNA Pengkode Faktor Imunomodulator dari Kelenjar Saliva Vektor Malaria *Anopheles aconitus*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

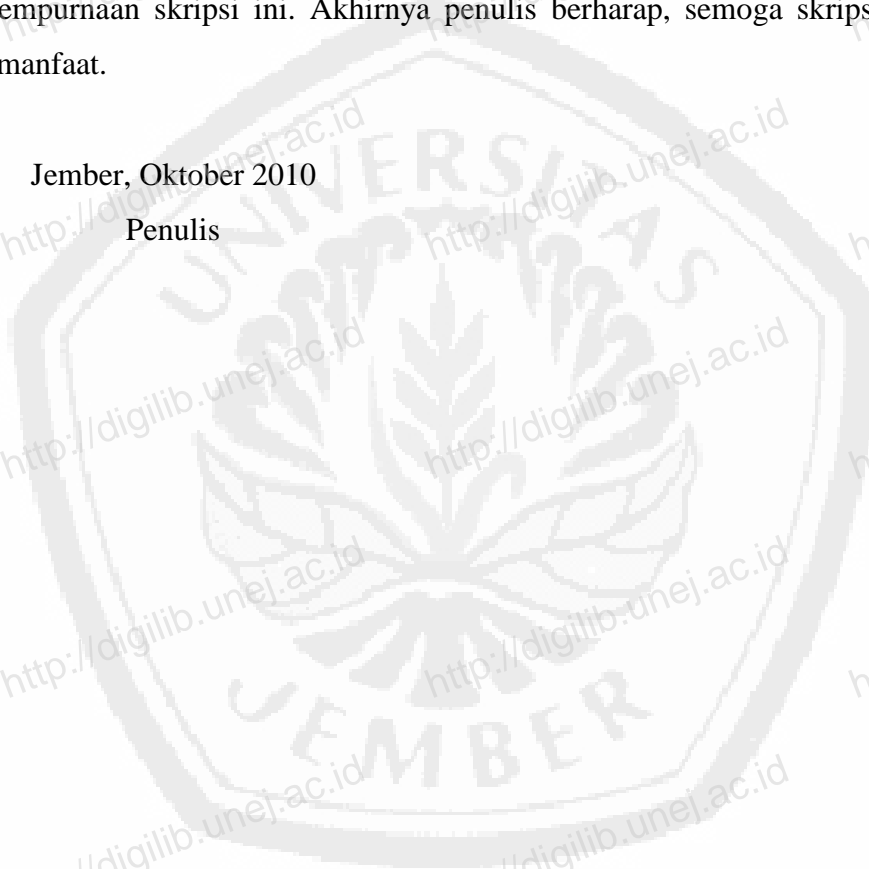
1. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing I dan Dr. rer. nat. Kartika Senjarini S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
2. dr. Supangat, M. Kes., Ph. D selaku Dosen Penguji yang telah memberi kemudahan dalam ujian skripsi ini;
3. dr. Hairrudin, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
4. Papa saya Hari Santoso dan Mama saya Lina Agustin yang telah memberikan semangat dan doa serta segala dukungan kepada penulis demi terselesaikannya skripsi ini;
5. Adek saya Syarifuddin Anzari Santoso yang telah memberikan semangat dalam pengerjaan proyek skripsi ini;
6. rekan kerjaku Rizka Arifani, Ali Ridho Al Haddar, Pulong Wijang Pralampita, mbak Nurul, mbak Hera, mbak Dina, dan mas Ratno serta tim penelitian biologi molekuler yang telah membantu dan memberikan dorongan semangat;
7. teman saya Aja Syarifah Nusyur, yang telah menemani dan memberikan semangat dalam pengerjaan pembahasan skripsi ini;

8. teknisi laboratorium mikrobiologi MIPA yang telah memberikan bimbingan disaat awal proyek ini dimulai;
9. teman-teman mabes Batu Raden 19 yang menemaniku jalan-jalan disaat suntuk dalam pengerjaan skripsi ini;
10. teman-teman angkatan 2007 Fakultas Kedokteran UNEJ;
11. serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Oktober 2010

Penulis

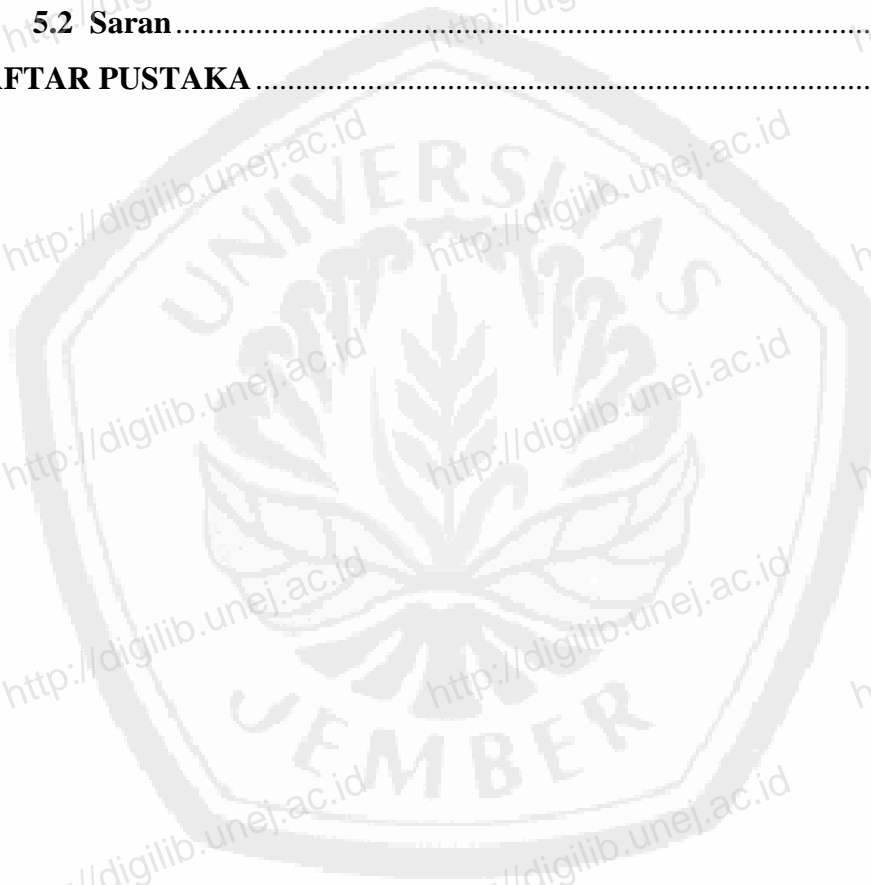


## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                 | i       |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....           | ii      |
| <b>HALAMAN MOTO</b> .....                  | iii     |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....            | iv      |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....            | vi      |
| <b>RINGKASAN</b> .....                     | vii     |
| <b>PRAKATA</b> .....                       | ix      |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                    | xi      |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                 | xiv     |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....                  | xv      |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....            | 1       |
| <b>1.1 Latar Belakang</b> .....            | 1       |
| <b>1.2 Perumusan Masalah</b> .....         | 2       |
| <b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....         | 3       |
| 1.3.1 Tujuan Umum .....                    | 3       |
| 1.3.2 Tujuan Khusus .....                  | 3       |
| <b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....        | 3       |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....       | 4       |
| <b>2.1 Malaria</b> .....                   | 4       |
| 2.1.1 Definisi .....                       | 4       |
| 2.1.2 Epidemiologi .....                   | 4       |
| 2.1.3 Jenis dan Etiologi .....             | 5       |
| 2.1.4 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i> ..... | 6       |
| 2.1.5 Patofisiologi .....                  | 7       |
| 2.1.6 Manifestasi Klinis .....             | 9       |
| 2.1.7 Diagnosis .....                      | 11      |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.1.8 Penatalaksanaan .....   | 11        |
| <b>2.2 Transmission Blocking Vaccine .....</b>                                | <b>12</b> |
| <b>2.3 Anopheles aconitus dan Fungsi Kelenjar Saliva Nyamuk.....</b>          | <b>14</b> |
| 2.3.1 <i>Anopheles aconitus</i> .....   | 14        |
| 2.3.2 Fungsi Kelenjar Saliva Nyamuk .....                                     | 17        |
| <b>2.4 Konstruksi Pustaka cDNA.....</b>                                       | <b>20</b> |
| 2.4.1 Definisi Pustaka cDNA .....   | 20        |
| 2.4.2 Mekanisme Pembuatan Pustaka cDNA .....                                  | 20        |
| 2.4.3 Peranan Pustaka cDNA .....  | 23        |
| <b>2.5 Kerangka Konseptual .....</b>  | <b>25</b> |
| <b>2.6 Hipotesis Penelitian .....</b>   | <b>26</b> |
| <b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>  | <b>27</b> |
| <b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>   | <b>27</b> |
| <b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>                                   | <b>27</b> |
| <b>3.3 Sampel Penelitian .....</b>  | <b>27</b> |
| <b>3.4 Definisi Operasional .....</b>   | <b>27</b> |
| <b>3.5 Alat dan Bahan .....</b>   | <b>28</b> |
| 3.5.1 Alat.....   | 28        |
| 3.5.2 Bahan.....  | 28        |
| <b>3.6 Prosedur Penelitian .....</b>  | <b>28</b> |
| 3.6.1 Preparasi Alat.....   | 28        |
| 3.6.2 Preparasi Sampel.....   | 29        |
| 3.6.3 Sintesis cDNA Untai Pertama.....  | 29        |
| 3.6.4 LD PCR untuk Amplifikasi cDNA Untai Pertama .....                       | 29        |
| 3.6.5 Pembuatan Situs Enzim Restriksi Sfil .....                              | 30        |
| 3.6.6 Gel Elektroforesis.....   | 31        |
| 3.6.7 Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian cDNA .....                         | 31        |
| <b>3.7 Alur Penelitian .....</b>  | <b>33</b> |
| <b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>                                       | <b>34</b> |
| <b>4.1 Hasil Penelitian .....</b>   | <b>34</b> |
| 4.1.1 Preparasi dan Isolasi Kelenjar Saliva dari <i>Anopheles aconitus</i> .. | 34        |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.1.2 Optimasi dan Isolasi RNA total .....                      | 35        |
| 4.1.3 Sintesis Untai Pertama dan Rantai Ganda Pustaka cDNA..... | 36        |
| <b>4.2 Pembahasan .....</b>                                     | <b>38</b> |
| 4.2.1 Isolasi dan Optimasi RNA total .....                      | 38        |
| 4.2.2 Sintesis Untai Pertama dan Rantai Ganda Pustaka cDNA..... | 39        |
| <b>BAB 5. PENUTUP.....</b>                                      | <b>42</b> |
| <b>5.1 Kesimpulan .....</b>                                     | <b>42</b> |
| <b>5.2 Saran .....</b>  | <b>42</b> |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                     | <b>43</b> |



## DAFTAR GAMBAR

|  |    |
|--|----|
| Gambar 2.1 Daur Hidup <i>Plasmodium</i> .....  | 7  |
| Gambar 2.2 Distribusi Global Resistensi Parasit terhadap Obat Anti Malaria                                 | 12 |
| Gambar 2.3 Skema mekanisme kerja TBV .....   | 13 |
| Gambar 2.4 Letak anatomis kelenjar saliva nyamuk .....   | 17 |
| Gambar 2.5 Struktur kelenjar saliva <i>Anopheles</i> betina .....  | 18 |
| Gambar 2.6 Prosedur konstruksi dan penapisan pustaka cDNA .....  | 21 |
| Gambar 2.7 Berbagai macam metode konstruksi pustaka cDNA .....   | 22 |
| Gambar 4.1 BP2VRP .....  | 34 |
| Gambar 4.2 Hasil Optimasi RNA total dari kelenjar saliva<br><i>Anopheles aconitus</i> .....                | 35 |
| Gambar 4.3 Visualisasi UV gel elektroforesis sintesis untai pertama dan<br>rantai ganda pustaka cDNA ..... | 37 |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 2.1 Kombinasi Obat Malaria .....                       | 11 |
| Tabel 2.2 Klasifikasi Ilmiah <i>Anopheles aconitus</i> ..... | 15 |
| Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Spektrofotometri RNA total .....  | 36 |

