



**ISOLASI RNA TOTAL HEPAR MENCIT GALUR BALB/c  
YANG DIVAKSINASI EKSTRAK KELENJAR SALIVA  
*Anopheles maculatus* DAN DIINFEKSI  
*Plasmodium berghei***

**SKRIPSI**

Oleh

**Dian Ayu Indrianingsih**

**NIM 082010101024**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2012**



**ISOLASI RNA TOTAL HEPAR MENCIT GALUR BALB/c  
YANG DIVAKSINASI EKSTRAK KELENJAR SALIVA  
*Anopheles maculatus* DAN DIINFEKSI  
*Plasmodium berghei***

**SKRIPSI**

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

Oleh  
**Dian Ayu Indrianingsih**  
**NIM 082010101024**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2012**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Ayahanda H. Sardi Idris dan ibunda Poniyah, S. H. Terima kasih atas segala doa, dukungan, perhatian, kasih sayang dan semua pengorbanan yang telah diberikan demi meraih cita-citaku;
2. Adikku tersayang, Amelia Rizki Indriarukmana yang selalu mendukung dan memberikan semangat;
3. Teman-teman, sahabat dan saudara-saudaraku;
4. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Dian Ayu Indrianingsih

NIM : 082010101024

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “*Isolasi RNA Total Hepar Mencit Galur BALB/c Yang Divaksinasi Ekstrak Kelenjar Saliva Anopheles maculatus Dan Diinfeksi Plasmodium berghei*” 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, 18 Januari 2012  
Yang menyatakan,

Dian Ayu Indrianingsih  
NIM 082010101024

**SKRIPSI**

**ISOLASI RNA TOTAL HEPAR MENCIT GALUR BALB/c  
YANG DIVAKSINASI EKSTRAK KELENJAR SALIVA  
*Anopheles maculatus* DAN DIINFEKSI  
*Plasmodium berghei***

**Oleh**

**Dian Ayu Indrianingsih  
NIM 082010101024**

**Pembimbing :**

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

**Dosen Pembimbing Anggota : dr. Sugiyanta, M. Ked**

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Isolasi RNA Total Hepar Mencit Galur BALB/c Yang Divaksinasi Ekstrak Kelenjar Saliva *Anopheles maculatus* Dan Diinfeksi *Plasmodium berghei*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :

hari : Rabu

tanggal : 18 Januari 2010

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Dosen Penguji I

dr. Diana Chusna Mufida, M. Kes  
NIP 197203182003122001

Dosen Penguji II

dr. Wiwien Sugih Utami, M. Sc  
NIP 197609222005012001

Dosen Penguji III

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

Dosen Penguji IV

dr. Sugiyanta, M. Ked  
NIP 197902072005011001

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran,

dr. Enny Suswati, M. Kes  
NIP 197002141999032001

## ABSTRAK

Malaria merupakan masalah kesehatan di dunia dan di Indonesia dengan jumlah morbiditas dan mortalitas yang cukup tinggi. Salah satu usaha preventif yang sedang dikembangkan adalah pembuatan vaksin. Salah satu vaksin yang sedang dikembangkan adalah *Transmission Blocking Vaccine* (TBV) dengan menggunakan antigen dari vektor yaitu kelenjar saliva. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis gen pengkode sitokin penting dalam organ hepar dengan melakukan isolasi RNA total. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan analisis data berupa narasi deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan isolasi RNA total dilakukan dengan Metode Trizol dengan modifikasi dan didapatkan nilai kemurnian RNA total organ hepar mencit galur BALB/c sebelum dan sesudah vaksinasi ekstrak kelenjar saliva *Anopheles maculatus* serta pasca infeksi *Plasmodium berghei* (*P. berghei*) adalah 2,082-2,3. Konsentrasi RNA total organ hepar mencit galur BALB/c sebelum dan sesudah vaksinasi ekstrak kelenjar saliva serta pasca infeksi *P. berghei* adalah 0,192-4,176  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ . RNA total yang telah berhasil diisolasi dapat digunakan sebagai cetakan untuk sintesis cDNA, sehingga selanjutnya dapat dianalisis ekspresi gen yang dikodenya dengan menggunakan *Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction*.

**Kata kunci:** vaksin, kelenjar saliva, RNA total, kemurnian

## RINGKASAN

**Isolasi RNA Total Hepar Mencit Galur BALB/c Yang Divaksinasi Ekstrak Kelenjar Saliva *Anopheles maculatus* Dan Diinfeksi *Plasmodium berghei*;**  
Dian Ayu Indrianingsih; 082010101024; 2012; 49 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Malaria masih menjadi masalah kesehatan utama di Indonesia. Munculnya resistensi parasit terhadap obat-obatan malaria, resistensi vektor terhadap pestisida dan belum ditemukannya vaksin yang efektif menyebabkan angka insidensi dan mortalitas akibat penyakit malaria masih cukup tinggi.

Penelitian mengenai vaksin yang efektif untuk malaria telah berkembang pesat dalam dekade ini, namun hasilnya masih belum maksimal. Salah satu strategi pengembangan vaksin malaria adalah *Transmission Blocking Vaccine*. *Transmission Blocking Vaccine* (TBV) bertujuan menghambat transmisi patogen dengan menggunakan antigen fase seksual parasit yang berasal dari tubuh vektor, salah satunya adalah kelenjar saliva. Vaksin berbasis saliva vektor ini tidak hanya dapat mencegah manifestasi klinis yang ditimbulkan oleh parasit akan tetapi juga dapat memotong transmisi pathogen ke tubuh inang sehingga vaksin ini sangat cocok digunakan di negara-negara endemis di dunia.

Dasar penggunaan saliva nyamuk sebagai target yang potensial bagi pengembangan TBV adalah dugaan saliva nyamuk memiliki protein imunomodulator yang berpengaruh terhadap respon imun inang. Saliva nyamuk mampu membangkitkan respon imun humoral maupun seluler. Adanya paparan berulang saliva nyamuk steril telah terbukti mampu memodulasi respon imun ke arah Th1 yang bersifat imunoprotektif. Hal tersebut terlihat dari adanya peningkatan kadar IFN- $\gamma$ , IL-12, dan NO serta adanya penurunan kadar IL-4 yang bersifat lokal maupun sistemik (serum, organ hepar, dan organ lien).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh yang ditimbulkan pada pemberian ekstrak kelenjar saliva *Anopheles maculatus* terhadap respon imun hewan coba sebagai dasar dalam pengembangan TBV. Pengaruh tersebut dapat



dilakukan dengan mengamati ekspresi genetik pengkode sitokin penting yang berperan dalam respon imun inang. RNA total organ hepar sangat penting sebagai cetakan (*Template*) dalam melakukan *Real Time Polymerase Chain Reaction* untuk mendapatkan *Complementary Deoxyribonucleic Acid* (cDNA).

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini berupa 1450 pasang kelenjar saliva *A. maculatus* yang kemudian diproses menjadi vaksin pelet dan supernatan. Prosedur penelitian meliputi isolasi kelenjar saliva, preparasi vaksin, vaksinasi terhadap hewan coba, pengambilan organ hepar hewan coba, isolasi RNA total organ hepar hewan coba, visualisasi hasil isolasi RNA total dengan menggunakan elektroforesis, dan pengukuran konsentrasi serta kemurnian hasil isolasi RNA total dengan spektrofotometer.

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini, isolasi RNA total pada sampel telah berhasil dilakukan dengan nilai kemurnian RNA total organ hepar mencit galur BALB/c sebelum dan sesudah vaksinasi ekstrak kelenjar saliva serta pasca infeksi *P. berghei* adalah 2,082 – 2,3. Konsentrasi RNA total organ hepar mencit galur BALB/c sebelum dan sesudah vaksinasi ekstrak kelenjar saliva serta pasca infeksi *P. berghei* adalah 0,192 – 4,176 µg/µL. Hasil visualisasi RNA total beberapa sampel dengan menggunakan elektroforesis dimungkinkan terjadi degradasi RNA oleh RNase ataupun karena sedikitnya sampel, namun pada sampel yang lain telah berhasil didapatkan 2 *band* yang tampak jelas dan 1 *band* yang tampak *smear*. Hasil isolasi RNA total yang berhasil dilakukan dapat dijadikan template untuk polimerisasi *Complementary Deoxyribonucleic Acid* (cDNA).

## 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 “Isolasi RNA Total Hepar Mencit Galur BALB/c Yang Divaksinasi Ekstrak Kelenjar Saliva *Anopheles maculatus* Dan Diinfeksi *Plasmodium berghei*”. 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. Enny Suswati, M. Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan dokter di Universitas Jember;
2. Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, S. Si., M. Si., dr. Sugiyanta, M. Ked., dan dr. Yunita Armiyanti, M. Kes selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Diana Chusna Mufida, M. Kes., dan dr. Wiwien Sugih Utami, M. Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan kelancaran dalam sidang skripsi ini;
4. dr. Rini Riyanti, Sp. PK selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
5. Ayah saya H. Sardi Idris dan Mama saya Poniyah, S. H yang telah memberikan semangat, doa dan dukungan baik secara moril maupun materiil kepada penulis demi terselesaikannya skripsi ini;
6. Adik saya Amelia Rizki Indriarukmana yang telah memberikan semangat dan doa dalam pengerjaan proyek skripsi ini;
7. Penyemangat saya Endah Agung Prabowo yang telah memberikan dukungan, doa serta perhatian kepada penulis demi terselesaikannya skripsi ini;
8. Rekan kerjaku dalam TBV reseach group : Wiwik, Gebri, Ina, Lina, Thania, Vinni, Mbak Dina, Mbak Esti, Mbak Riska, Imam, Syuhbanul, dan Ika yang

telah membantu analisis dan memberikan dorongan serta semangat selama penelitian ini dilakukan;

9. Sahabat-sahabat saya, Wiwik, Gebri, Cita, Aan, dan Ina. Terimakasih atas segala tawa dan canda kalian yang selalu memberikan semangat dan motivasi tersendiri;
10. Seluruh teman-teman sejawat angkatan 2008 “THE DOCTORS” Fakultas Kedokteran UNEJ; terimakasih atas perjalanan dan perjuangan selama 3,5 tahun yang kita lakukan selama ini;
11. Keluarga besar Tim Bantuan Medis Vertex FK UJ;
12. 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, Januari 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman	
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Perumusan Masalah</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>3</b>
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Malaria</b> .....	<b>5</b>
2.1.1 Definisi dan Etiologi.....	5
2.1.2 Distribusi Geografik.....	5
2.1.3 Epidemiologi.....	6
2.1.4 Daur Hidup <i>Plasmodium</i> .....	6
2.1.5 Patogenesis.....	8
2.1.6 Proses Imunologis pada Malaria.....	9
2.1.7 Manifestasi Klinis.....	10
2.1.8 Diagnosis.....	11

2.1.9	Penatalaksanaan.....	11
<b>2.2</b>	<b>Peran <i>Anopheles maculatus</i> sebagai vektor malaria.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3</b>	<b>Habitat dan Peranan <i>Anopheles macul.</i>.....</b>	<b>13</b>
<b>2.4</b>	<b>Vaksin Berbasis Saliva Vektor.....</b>	<b>14</b>
2.4.1	Peran Th1 dan Th2 .....	14
2.4.2	Peran Kelenjar Saliva Vektor Terhadap Respon Immunologis Hospes.....	15
2.4.3	Vaksin Berbasis Saliva Vektor.....	16
<b>2.5</b>	<b>Analisis Gen Pengkode Sitokin.....</b>	<b>17</b>
<b>2.6</b>	<b>Amplifikasi Bahan Genetik dengan Teknik PCR.....</b>	<b>18</b>
<b>2.7</b>	<b>Kerangka Konseptual.....</b>	<b>20</b>
<b>2.8</b>	<b>Hipotesis Penelitian.....</b>	<b>21</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>22</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3</b>	<b>Populasi dan Sampel Penelitian.....</b>	<b>22</b>
<b>3.4</b>	<b>Teknik Pengumpulan Data.....</b>	<b>23</b>
<b>3.5</b>	<b>Definisi Oprasional.....</b>	<b>23</b>
<b>3.6</b>	<b>Rancangan Penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.7</b>	<b>Instrumen Penelitian.....</b>	<b>27</b>
3.7.1	Alat.....	27
3.7.2	Bahan.....	27
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian.....</b>	<b>27</b>
3.8.1	Koleksi dan Isolasi Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i> ....	27
3.8.2	Preparasi Vaksin.....	28
3.8.3	Penyiapan Hewan Coba.....	29
3.8.4	Imunisasi dan Pengambilan Organ Hepar Mencit BALB/c..	30
3.8.5	Isolasi Rna Total Organ Hepar mencit galur BALB/c.....	30
3.8.6	Visualisasi Hasil Isolasi RNA total Hepar.....	31
3.8.7	Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian RNA Total.....	32
3.8.8	Preparasi <i>Plasmodium berghei</i> .....	33
3.8.9	Inokulasi <i>Plasmodium berghei</i> .....	33
<b>3.9</b>	<b>Penyajian Data.....</b>	<b>34</b>

<b>3.10 Alur Penelitian.....</b>	<b>35</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Hasil.....</b>	<b>36</b>
4.1.1 Isolasi Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i> .....	36
4.1.2 Preparasi vaksin.....	37
4.1.3 Isolasi RNA Total.....	37
<b>4.2 Pembahasan.....</b>	<b>42</b>
4.2.1 Isolasi Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i> .....	42
4.2.2 Preparasi vaksin.....	43
4.2.3 Isolasi RNA Total.....	45
<b>BAB 4. Penutup.....</b>	<b>49</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>49</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>49</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>50</b>

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i> .....	7
4.1 Perbedaan <i>Anopheles</i> jantan dan betina.....	36
4.2 Lobus lateral dan medial kelenjar saliva <i>A. maculatus</i> betina.....	37
4.3 Visualisasi dengan UV_Illuminator RNA total Ba 01 dengan.....	38
4.4 Visualisasi dengan UV-Illuminator RNA total hepar hewan uji sebelum perlakuan.....	38
4.5 Visualisasi dengan UV-Illuminator RNA total hepar hewan uji setelah vaksinasi primer.....	39
4.6 Visualisasi dengan UV-Illuminator RNA total hepar hewan uji setelah Vaksinasi booster I dan II serta setelah infeksi <i>P. berghei</i> .....	40
4.5 Pembagian regio kelenjar saliva <i>A. maculatus</i> betina.....	43

## DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Konsentrasi dan Kemurnian RNA Total Hepar Mencit Galur BALB/c.....	41