



**PENGEMBANGAN *TRANSMISSION BLOCKING VACCINE*
(TBV) MELAWAN MALARIA BERBASIS SALIVA VEKTOR:
ISOLASI mRNA KELENJAR SALIVA *Anopheles maculatus***

SKRIPSI

Oleh

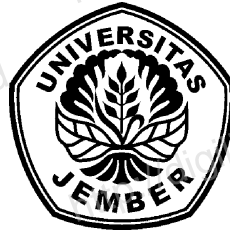
Pulong Wijang Pralampita

NIM 072010101009

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS JEMBER

2010



**PENGEMBANGAN *TRANSMISSION BLOCKING VACCINE*
(TBV) MELAWAN MALARIA BERBASIS SALIVA VEKTOR:
ISOLASI mRNA KELENJAR SALIVA *Anopheles maculatus***

SKRIPSI

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

Oleh

Pulong Wijang Pralampita

NIM 072010101009

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS JEMBER

2010

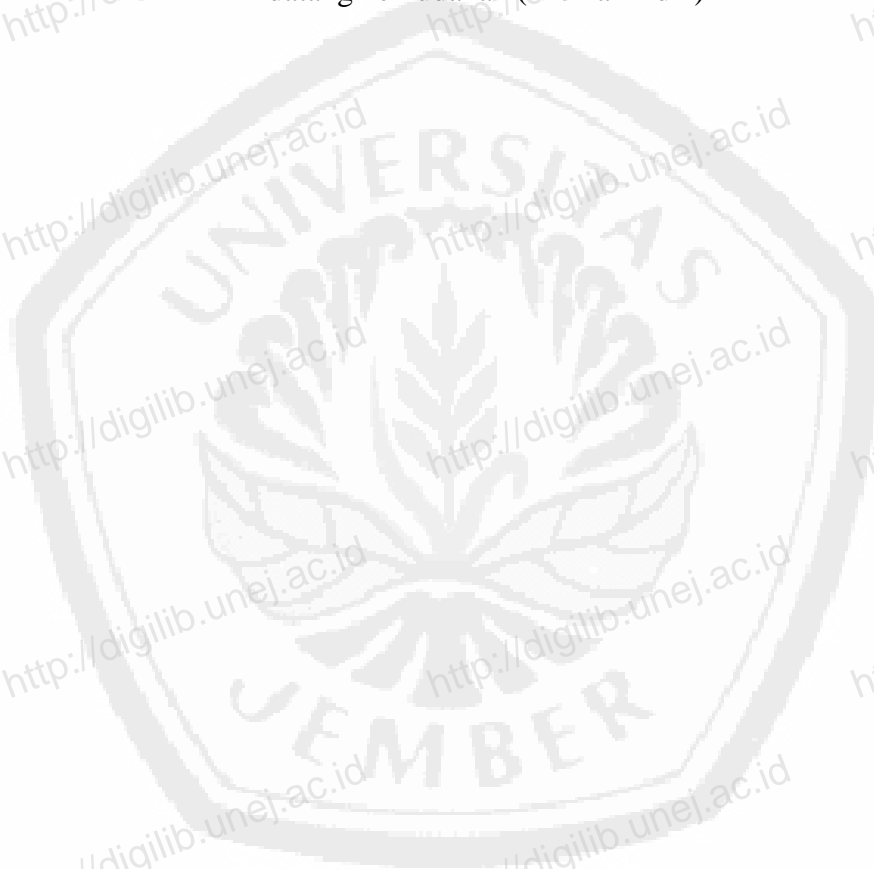
PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Orang tuaku tercinta, Ibunda Demes Suteki dan Ayahanda Suyatnoyang senantiasa memberikan doa dan kasih sayangnya tiada henti, serta yang telah mendidik dan menjadikanku menjadi manusia yang lebih baik. Mereka adalah semangat bagiku dalam menyelesaikan studi di FK ini dengan baik. Senyum dan kebahagiaan mereka adalah harapan terbesarku;
2. kakakkuLarap Kemayan Estuyang senantiasa memberikan saran-saran terbaik dalam menentukan perjalanan hidupku selama ini. Terima kasih telah mencurahkan kasih sayang dan perhatian yang tiada henti kepadaku;
3. guru-guruku tercinta yang telah mendidik dengan penuh kesabaran mulai dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Ketahuilah sesungguhnya kemenangan itu bersama kesabaran dan sesungguhnya kesenangan itu bersama kesusahan dan bahwa sesungguhnya sesudah kesulitan itu datang kemudahan (Hr. Tarmidzi)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Pulong Wijang Pralampita

NIM : 072010101009

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : *Pengembangan Transmission Blocking Vaccine (TBV) Melawan Malaria Berbasis Saliva Vektor: Isolasi mRNA Kelenjar Saliva Anopheles maculatus* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 3 September 2010

Yang menyatakan,

Pulong Wijang Pralampita

NIM 072010101009

SKRIPSI

**PENGEMBANGAN *TRANSMISSION BLOCKING VACCINE*
(TBV) MELAWAN MALARIA BERBASIS SALIVA VEKTOR:
ISOLASI mRNA KELENJAR SALIVA *Anopheles maculatus***

Oleh

Pulong Wijang Pralampita
NIM 072010101009

Pembimbing :

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

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. rer. nat. Kartika Senjarini

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Pengembangan Transmission Blocking Vaccine (TBV) Melawan Malaria Berbasis Saliva Vektor: Isolasi mRNA Kelenjar Saliva Anopheles maculatus* 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 197406042001122001

Anggota I,

Anggota II,

Dr. rer. nat. Kartika Senjarini
NIP. 197509132000032001

dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes.
NIP 197203182003122001

Mengesahkan,
Ketua Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Prof.dr. Bambang Suhariyanto Sp.KK(K)
NIP 194701211983031001

RINGKASAN

Pengembangan *Transmission Blocking Vaccine* (TBV) Melawan Malaria Berbasis Saliva Vektor: Isolasi mRNA Kelenjar Saliva *Anopheles maculatus*; Pulong Wijang Pralampita; 072010101009; 2010; 70 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Pengembangan vaksin pada *arthropod borne diseases* tidak lagi berbasis patogen akan tetapi mengarah pada basis molekul yang memanfaatkan protein sebagai target pembuatannya. Penelitian tentang pembuatan vaksin untuk malaria dengan memanfaatkan protein dalam saliva nyamuk telah banyak berkembang. Saliva nyamuk *Anopheles* mengandung protein imunomodulator yang dapat menginduksi respon inang yang bersifat protektif sehingga dapat dijadikan kandidat target dalam pengembangan *Transmission Blocking Vaccine* (TBV) yang dapat digunakan untuk mengontrol *arthropod borne disease*. Pengembangan TBV pada penelitian ini menggunakan vektor malaria yaitu nyamuk *Anopheles maculatus* (*An. maculatus*). Diketahui 24 dari 80 spesies *Anopheles* berpotensi sebagai vektor malaria di Indonesia dan salah satunya adalah *An. maculatus*. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi dari kelenjar saliva *An. maculatus* sebagai target dalam pengembangan TBV melawan malaria. Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi mRNA dari kelenjar saliva *An. maculatus*, sebagai *template* untuk cDNA pengkode protein imunomodulator sehingga dapat dijadikan target untuk pembuatan TBV.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kelenjar saliva *An. maculatus* sebanyak 80 – 300 buah. Rancangan penelitian antara lain melakukan pengambilan sampel di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga, melakukan isolasi kelenjar saliva, isolasi RNA total, isolasi mRNA, dan mengukur kisaran panjang basa nukleotida serta konsentrasi RNA total dan mRNA kelenjar saliva *An. maculatus*. Isolasi RNA total kelenjar saliva menggunakan metode Trizol dan isolasi mRNA menggunakan FastTrack® MAG mRNA Isolation Kits. Data dijelaskan secara deskriptif dengan disajikan dalam bentuk narasi.

Hasil elektroforesis pada penelitian ini menunjukkan bahwa kisaran panjang basa nukleotida RNA total kelenjar saliva *An. maculatus* adalah 250 pb – 500 pb. Kemurnian RNA total kelenjar saliva *An. maculatus* S300SG yang memenuhi syarat yaitu 1,857, sedangkan P300SG mengalami kontaminasi oleh phenol ataupun protein. Konsentrasi RNA total kelenjar saliva *An. maculatus* sangat rendah. Kisaran panjang basa nukleotida mRNA kelenjar saliva *An. maculatus* pada penelitian ini tidak dapat dinilai karena pada hasil elektroforesis *band* mRNA tidak terlihat. Konsentrasi mRNA kelenjar saliva S₁Maculatus dan S₂₃ Maculatus menyatakan bahwa pada hasil isolasi tidak terdapat mRNA. Kemurnian mRNA S₁Maculatus 1 yang berarti terkontaminasi oleh phenol ataupun protein dan mRNA S₂₃ Maculatus 0 yang berarti pada S₂₃ Maculatus tidak terkandung mRNA.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul *Pengembangan Transmission Blocking Vaccine (TBV) Melawan Malaria Berbasis Saliva Vektor: Isolasi mRNA Kelenjar Saliva Anopheles maculatus*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. Prof. dr. Bambang Suhariyanto, Sp. KK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Alif Mardijana, Sp. KJselaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama studi;
3. dr. Yunita Armiyanti, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. rer. nat Kartika Senjarini selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
4. dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. ibunda Demes Suteki dan Ayahanda Suyatno tercinta atas dukungan moril, materi, doa, dan semua curahan kasih sayang yang tak akan pernah putus;
6. kakakku Larap Kemayan Estu yang selalu memberiku motivasi dan dukungan untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
7. bu Pono dan Pak Pono yang tiada pernah lelah semangat dan dukungan kepadaku;
8. untuk saudara – saudaraku dalam ‘Tim Nyamuk’, Rizka (Unyil), Ali (Bubui’), dan Akta (Gundul) yang telah bersama-sama dalam penelitian ini selama 1 tahun 4 bulan dan telah mengisi hari – hari penelitian dengan canda tawa serta

- selalu memberikan motivasi, kritik, dan saran membangun untuk penelitian ini;
9. untuk Ibu Murti selaku kepala Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univeritas Jember;
 10. untuk Ibu Istini (LPPT UGM) dan Bapak Mujiono (B2P2VRP, Salatiga) yang telah berkontribusi besar dalam menunjang terlaksananya penelitian ini;
 11. untuk teman seperjuangan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univeritas Jember, mbak Hera, mbak Nurul, mas Ratno, dan mbak Dina, yang selalu memberikan motivasi dan telah menorehkan beribu kenangan di laboratorium tercinta;
 12. untuk saudaraku *Platinum*, Ratih, Heidy, Imaz, Lala, Rahayu, dan Rizma yang telah memberiku motivasi, kritik, saran, dan dukungan untuk segera menyelesaikan skripsiku serta mau menemaniku, mendengarkanku dan memberiku banyak kenangan suka maupun duka;
 13. untuk saudaraku di kost Bara-18, mbak Winda, mbak Dina, mbak Corry, Dita mbak Chiku, serta mbak Shinta yang telah mau mendengarkan segala keluh kesah dan memberiku motivasi, tak lupa juga untuk Pak Muchtar, pintu kost selalu terbuka dengan hadirnya beliau;
 14. untuk mas Riza, mbak Ratna, mbak Hilda, mas Bernet dan teman – teman yang melakukan penelitian di Laboratorium Biologi Molekuler yang telah membantu banyak hal dalam penelitian ini;
 15. seluruh angkatan 2007 (*Aesculapius*) tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
 16. keluarga besar TBM VERTEX FK UNEJ;
 17. keluarga besar Dewan Komdis FK UNEJ, Naya, Ryan, Bembi, dan semua DK mulai DK1 sampai dengan DK5;
 18. teman – teman *Travelmate*, Taufiq G., Adelia H.;
 19. untuk teman – teman KKT 07 Gunung Malang, Sumber Jambe yang telah memberikan banyak kenangan dalam proses penyusunan skripsi ini;
 20. teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univeritas Jember, Mbak Arin, Mas Yanto, Bu Endang,

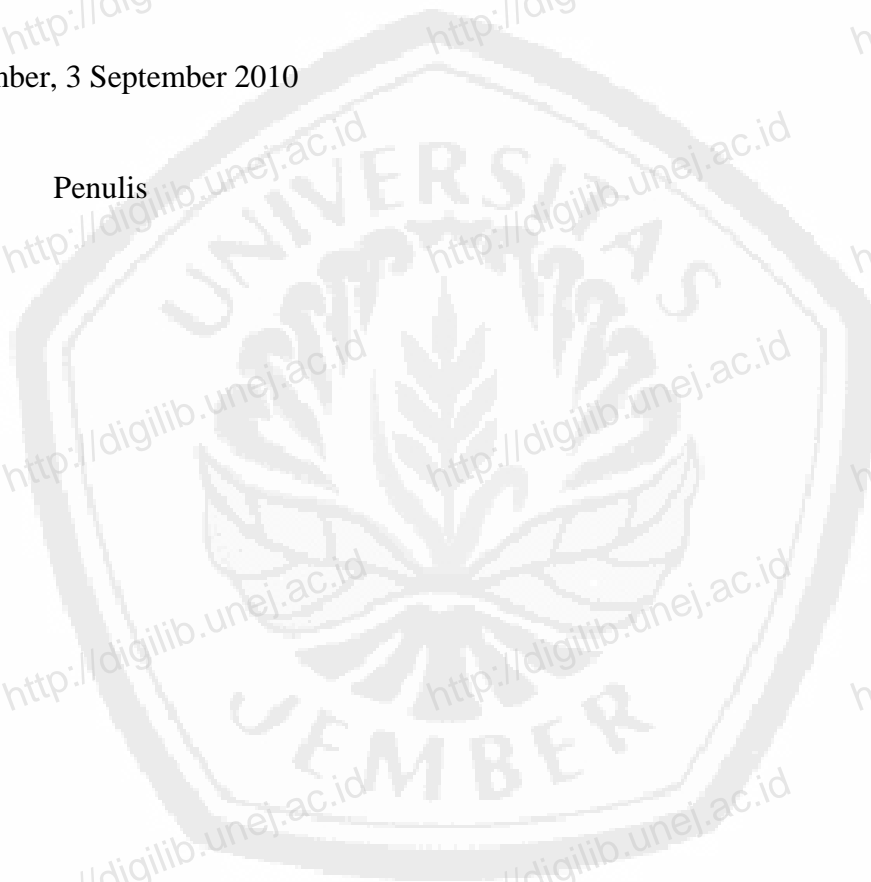
dan Mas Tris terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya selama penelitian skripsi ini;

21. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, 3 September 2010

Penulis



DAFTAR ISI

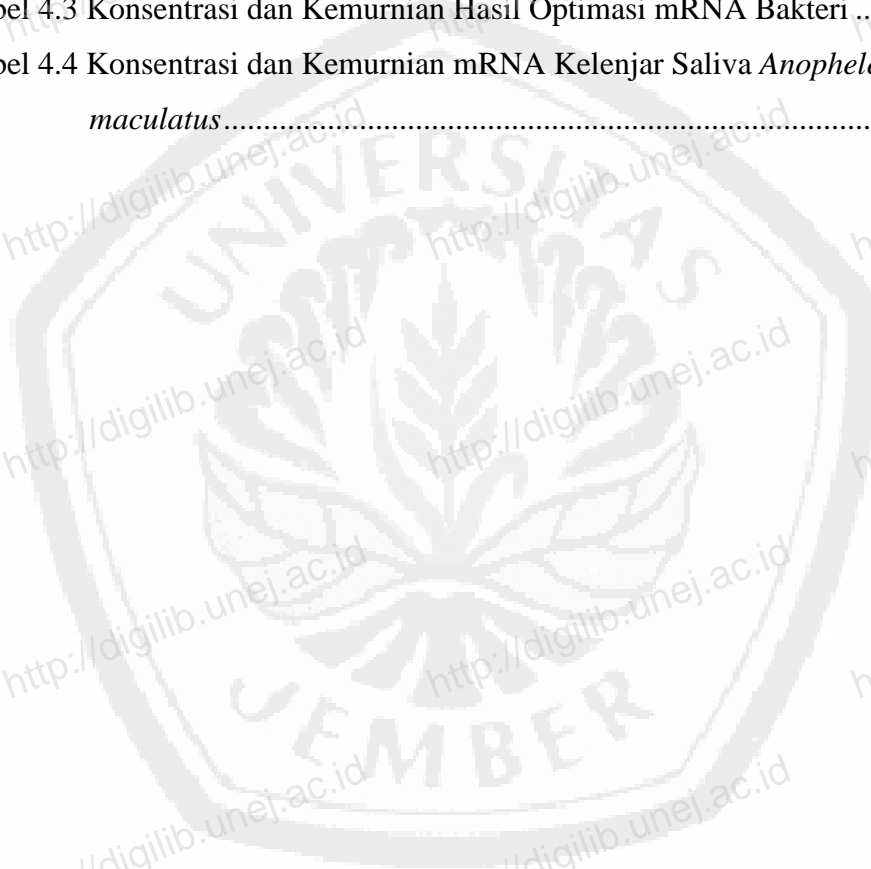
	Halaman
HALAMAN SAMBUT	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Malaria	5
2.1.1. Definisi dan Etiologi	5
2.1.2. Siklus Hidup <i>Plasmodium</i>	5
2.1.3. Epidemiologi.....	7
2.1.4. Faktor Resiko	9
2.1.5. Patogenesis	10
2.1.6. Proses Imunologis	11
2.1.7. Manifestasi Klinis	12
2.1.8. Diagnosis.....	12
2.1.9. Komplikasi	13

2.1.10. Penatalaksanaan	14
2.2 <i>Anopheles maculatus</i> sebagai Vektor Malaria	14
2.2.1 Morfologi	16
2.2.2 Siklus Hidup dan Perilaku	20
2.2.3 Peranan <i>Anopheles maculatus</i> sebagai Vektor Malaria	21
2.3 <i>Transmission Blocking Vaccine</i> (TBV) Malaria	21
2.3.1 Perkembangan Vaksin Malaria	22
2.3.2 Perkembangan <i>Transmission Blocking Vaccine</i> (TBV)	24
2.3.3 Protein Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i> sebagai Target Potensial dalam Pembuatan TBV	27
2.3.4 Protein Kelenjar Saliva <i>Anopheles</i> dari Transcriptome	28
2.4 Kerangka Konseptual	31
2.5 Hipotesis Penelitian	32
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	33
3.1 Jenis Penelitian	33
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	33
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	33
3.3.1 Populasi Penelitian	33
3.3.2 Sampel Penelitian	33
3.4 Teknik Pengumpulan Data	33
3.5 Definisi Operasional	34
3.6 Rancangan Penelitian	35
3.7 Instrumen Penelitian	35
3.7.1 Alat Penelitian	35
3.7.2 Bahan Penelitian	36
3.8 Prosedur Penelitian	36
3.8.1 Pengambilan Sampel Nyamuk <i>An. maculatus</i>	36
3.8.2 Isolasi Kelenjar Saliva Nyamuk <i>An. maculatus</i>	36
3.8.3 Isolasi RNA total Kelenjar Saliva Nyamuk <i>An. maculatus</i> ..	37
3.8.4 Isolasi mRNA dari RNA Total Kelenjar Saliva Nyamuk <i>An. maculatus</i>	38

3.8.5	Pengukuran konsentrasi mRNA Kelenjar Saliva Nyamuk <i>An. maculatus</i>	40
3.8.6	Visualisasi Hasil Isolasi mRNA Kelenjar Saliva Nyamuk <i>An. maculatus</i>	40
3.9	Alur Penelitian	41
3.10	Penyajian Data	42
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1	Hasil Penelitian	43
4.1.1	Pengambilan Sampel Larva Nyamuk <i>Anopheles</i>	43
4.1.2	<i>Rearing Anopheles maculatus</i> Skala Laboratorium.....	45
4.1.3	Isolasi Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i>	47
4.1.4	Isolasi RNA Total Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i>	48
4.1.5	Isolasi mRNA Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i>	51
4.2	Pembahasan	53
4.2.1	Pengambilan Sampel Larva Nyamuk <i>Anopheles</i>	53
4.2.2	<i>Rearing Anopheles maculatus</i> Skala Laboratorium.....	54
4.2.3	Isolasi Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i>	55
4.2.4	Isolasi RNA Total Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i>	56
4.2.5	Isolasi mRNA Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i>	59
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	61
5.1	Kesimpulan	61
5.2	Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Gambaran situasi malaria di dunia.....	7
Tabel 2.2 Situasi malaria di Asia Tenggara 1996	7
Tabel 2.3 Penyebaran geografik vektor malaria di Indonesia.....	15
Tabel 4.1 Konsentrasi dan Kemurnian RNA Total Hasil Optimasi Metode Trizol	
49	
Tabel 4.2 Konsentrasi dan Kemurnian RNA Total Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i>	51
Tabel 4.3 Konsentrasi dan Kemurnian Hasil Optimasi mRNA Bakteri	51
Tabel 4.4 Konsentrasi dan Kemurnian mRNA Kelenjar Saliva <i>Anopheles maculatus</i>	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i>	6
Gambar 2.2 Telur Nyamuk <i>Anopheles</i>	16
Gambar 2.3 Larva Nyamuk <i>Anopheles</i>	17
Gambar 2.4 Pupa Nyamuk <i>Anopheles</i>	17
Gambar 2.5 Nyamuk <i>Anopheles</i> Dewasa.....	18
Gambar 2.6 Kelenjar Saliva <i>Anopheles</i>	19
Gambar 2.7 Vaksin Malaria	22
Gambar 2.8 <i>Transmission Blocking Vaccine</i> (TBV)	24
Gambar 4.1 Salah Satu Laguna di Pantai Bandialit	43
Gambar 4.2 Selokan Tempat Pengambilan Sampel Larva <i>Anopheles</i> di Desa Watudodol	44
Gambar 4.3 Salah Satu Laguna di Desa Watudodol.....	44
Gambar 4.4 Kandang Nyamuk di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember..	45
Gambar 4.5 Larva <i>Anopheles maculatus</i> dalam Insektorium B2P2VRP.....	46
Gambar 4.6 Kandang Nyamuk <i>Anopheles maculatus</i> dalam Insektorium B2P2VRP.....	47
Gambar 4.7 Nyamuk <i>Anopheles maculatus</i> dalam Gelas Plastik	47
Gambar 4.8 Isolasi Kelenjar Saliva Nyamuk <i>Anopheles</i>	48
Gambar 4.9 Kelenjar Saliva Nyamuk <i>Anopheles</i> (Mikroskop Stereo Perbesaran 40x).....	48
Gambar 4.10 Hasil Elektroforesis Optimasi Isolasi RNA Total Metode Trizol 49	
Gambar 4.11 Hasil Elektroforesis Isolasi RNA Total Kelenjar Saliva <i>Anopheles</i> <i>maculatus</i>	50
Gambar 4.12 Hasil Elektroforesis Optimasi Isolasi mRNA Menggunakan Kit 52	
Gambar 4.13 Hasil Elektroforesis Isolasi mRNA Kelenjar Saliva <i>Anopheles</i> <i>maculatus</i>	53
Gambar 4.14 Nyamuk <i>Anopheles maculatus</i> Betina (Mikroskop Stereo Perbesaran 10x).....	56

