



**PENGEMBANGAN *TRANSMISSION BLOCKING VACCINE*
(TBV) MELAWAN MALARIA : KONSTRUKSI PUSTAKA
cDNA PENGKODE FAKTOR IMUNOMODULATOR
KELENJAR SALIVA *Anopheles maculatus***

SKRIPSI

Oleh
Ali Ridho Al Haddar
NIM 072010101042

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2010**



**PENGEMBANGAN *TRANSMISSION BLOCKING VACCINE*
(TBV) MELAWAN MALARIA : KONSTRUKSI PUSTAKA
cDNA PENGKODE FAKTOR IMUNOMODULATOR
KELENJAR SALIVA *Anopheles maculatus***

SKRIPSI

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

Oleh

**Ali Ridho Al Haddar
NIM 072010101042**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2010**

RINGKASAN

Pengembangan *Transmission Blocking Vaccine* (TBV) Melawan Malaria: Konstruksi Pustaka cDNA Pengkode Faktor Imunomodulator Kelenjar Saliva *Anopheles maculatus*; Ali Ridho Al Haddar; 072010101042; 2010; 40 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

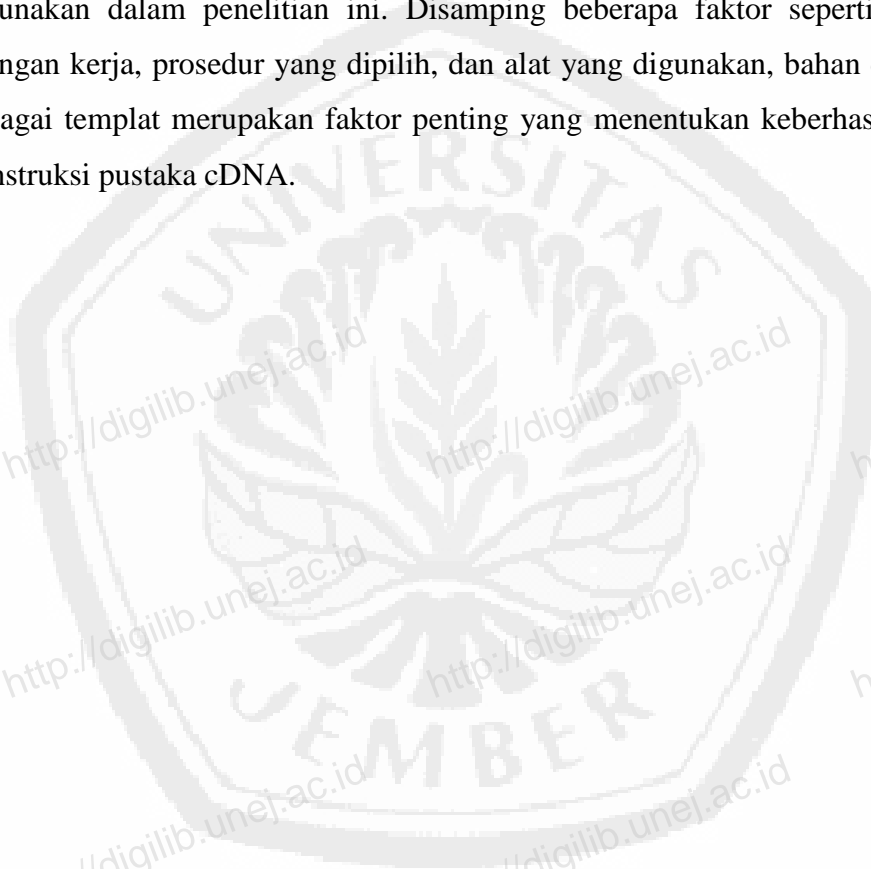
Penyakit malaria merupakan masalah kesehatan utama di dunia. Insidensi penyakit ini sangat tinggi dan mengancam penduduk dunia. Di Indonesia, angka insidensi penyakit juga mencapai angka yang memprihatinkan. Beberapa cara baru yang lebih efektif telah dilakukan, tetapi masih belum memberikan hasil yang maksimal. Akhir-akhir ini berkembang pendekatan baru dalam penanggulangan malaria yaitu dengan penggunaan vaksin. Saat ini, beberapa tipe vaksin telah dikembangkan tetapi keanekaragaman antigen dari parasit malaria pada tiap-tiap fasenya merupakan halangan dalam memberantas penyakit ini.

Transmission Blocking Vaccine (TBV) merupakan salah satu tipe vaksin malaria yang menghambat penyebaran penyakit dengan memanfaatkan komponen saliva vektor. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa saliva vektor mengandung protein imunomodulator, vasodilator dan antikoagulan. Protein imunomodulator berperan penting dalam mempermudah transmisi patogen dari vektor ke dalam tubuh inang. Untuk mendapatkan protein imunomodulator tersebut, perlu dilakukan konstruksi pustaka cDNA dari mRNA saliva vektor malaria. Pustaka cDNA berisikan sekuen-sekuen pengkode protein. Konstruksi pustaka cDNA nantinya diharapkan dapat mengidentifikasi sekuen-sekuen pengkode protein imunomodulator tersebut.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari potensi kelenjar saliva vektor malaria *An. maculatus* sebagai target potensial dalam pengembangan TBV, khususnya dengan melakukan konstruksi pustaka cDNA untuk mengetahui sekuen-sekuen pengkode protein imunomodulator. Jenis penelitian ini adalah eksploratoris laboratorium. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah

metode SMART cDNA. Sampel yang digunakan adalah RNA total dari kelenjar saliva *An. maculatus* sebanyak 80-250 buah yang diambil dari populasi nyamuk dewasa betina.

Sintesis untai pertama cDNA pada kontrol positif diperoleh pita DNA smear yang terletak mulai 250-2000 pb. Sintesis untai pertama cDNA dengan templat RNA total dari saliva *An. maculatus* belum berhasil. Hasil ini dimungkinkan karena rendahnya konsentrasi dan kemurnian RNA total yang digunakan dalam penelitian ini. Disamping beberapa faktor seperti kesterilan ruangan kerja, prosedur yang dipilih, dan alat yang digunakan, bahan dasar RNA sebagai templat merupakan faktor penting yang menentukan keberhasilan proses konstruksi pustaka cDNA.

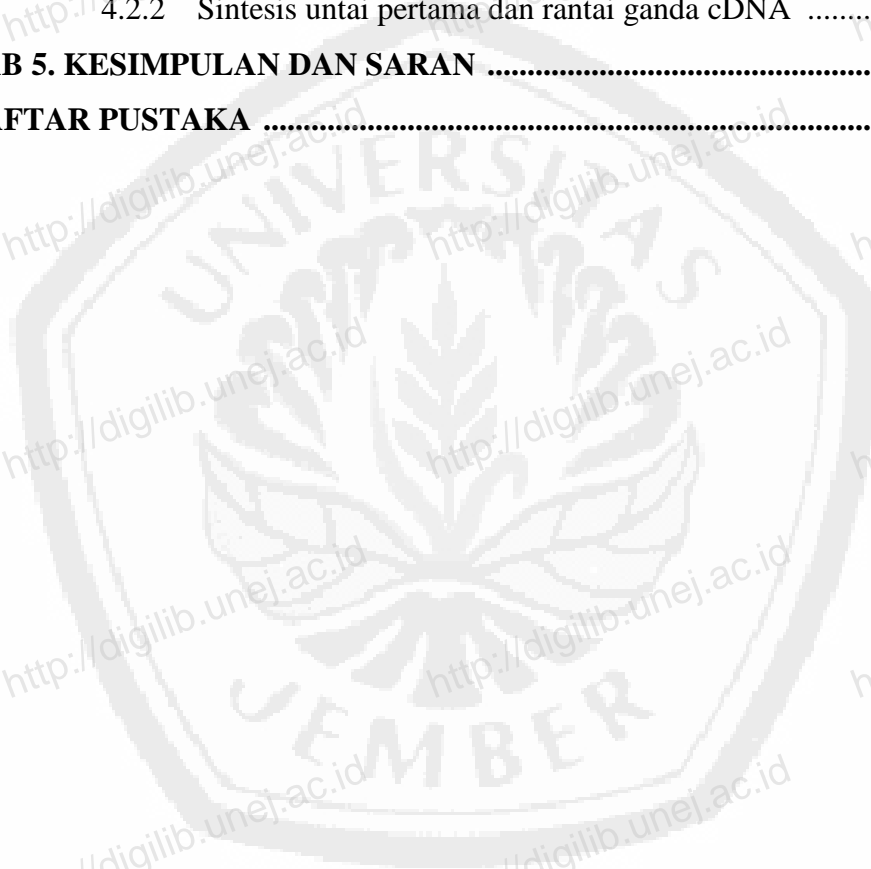


DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Penyakit Malaria	4
2.1.1 Definisi	4
2.1.2 Etiologi	4
2.1.3 Siklus Hidup Parasit Malaria	4
2.1.4 Patogenesis	6
2.1.5 Gejala Klinis	7
2.1.6 Diagnosis	8
2.1.7 Penatalaksanaan	9
2.1.8 Pencegahan dan Vaksin	9

2.2 Pengembangan <i>Transmission Blocking Vaccine</i> untuk penanggulangan malaria	10
2.3 Nyamuk <i>An. maculatus</i>	12
2.3.1 Taksonomi	12
2.3.2 Siklus hidup nyamuk	12
2.3.3 Bionomi nyamuk <i>An. Maculatus</i>	13
2.4 Salivary protein sebagai target TBV	15
2.5 Kontruksi pustaka cDNA	16
2.6 Kerangka Konseptual	20
2.7 Hipotesis Penelitian	21
BAB 3. METODE PENELITIAN	22
3.1. Jenis penelitian	22
3.2. Tempat dan waktu penelitian	22
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	22
2.3.1 Populasi penelitian	22
2.3.2 Sampel penelitian	22
3.4. Definisi Operasional	22
3.5. Alat dan bahan	23
3.5.1 Alat penelitian	23
3.5.2 Bahan penelitian	23
3.6. Prosedur penelitian	24
3.6.1 Isolasi RNA total dan mRNA dari kelenjar saliva nyamuk <i>An. maculatus</i>	24
3.6.2 Sintesis untai pertama DNA	24
3.6.3 Amplifikasi cDNA dengan LD PCR	24
3.6.4 <i>Proteinase K digestion</i>	25
3.6.5 <i>Sfil digestion</i>	26
3.7. Penyajian data	26
3.8. Alur penelitian	27
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Hasil penelitian	28

4.1.1	Preparasi kelenjar saliva dari <i>An. Maculatus</i>	28
4.1.2	Isolasi RNA total sebagai templat untuk sintesis untai pertama cDNA	29
4.1.3	Sintesis untai pertama dan rantai ganda cDNA	31
4.2	Pembahasan	32
4.2.1	Isolasi RNA total sebagai templat untuk sintesis untai pertama cDNA	32
4.2.2	Sintesis untai pertama dan rantai ganda cDNA	34
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN		36
DAFTAR PUSTAKA		37



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Siklus hidup malaria	5
2.2 Tipe-tipe vaksin	11
2.3 Siklus hidup <i>Anopheles spp</i>	13
2.4 Fluktuasi aktifitas gigitan nyamuk per jam	14
2.5 Dogma Sentral Biologi Molekuler	16
2.6 Sintesis cDNA	17
4.1 Preparasi kelenjar saliva	27
4.2 Hasil uji optimasi metode TRIZOL ® Invitrogen	28
4.3 Hasil isolasi RNA total dari kelenjar saliva <i>An. Maculatus</i>	30
4.4 Hasil sintesis cDNA saliva <i>An. maculatus</i>	31