



**ISOLASI mRNA DARI KELENJAR SALIVA VEKTOR DENGUE *Aedes aegypti* SEBAGAI *TEMPLATE* SINTESIS cDNA PENGKODE FAKTOR
IMUNOMODULATOR**

SKRIPSI

oleh
Dwi Esti Febriyantiningih
NIM 071810401046

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2012



ISOLASI mRNA DARI KELENJAR SALIVA VEKTOR DENGUE *Aedes aegypti* SEBAGAI TEMPLATE SINTESIS cDNA PENGKODE FAKTOR IMUNOMODULATOR

SKRIPSI

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

oleh
Dwi Esti Febriyantiningih
NIM 071810401046

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua tercinta, yang telah memberikan kasih sayang, doa restu dan pengorbanan yang tiada henti;
2. Semua keluarga besar dan teman-teman yang telah mendukung dan member motivasi dalam menempuh pendidikan;
3. Semua guru dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah mendidik dan mengajarku, terima kasih yang tak terhingga atas segala ilmu yang diberikan;
4. Almater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTTO

“.....Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan”

(QS. Al Mujaadillah: 11)¹⁾

“Bila kamu tak tahan lelahnya belajar, maka kamu akan menanggung pahitnya kebodohan”

(Syair Imam Syafi’i)²⁾

¹ Al Hidayah. 2010. *Al Qur’an Tafsir per Kata Tajwid Kode Angka*. Banten: PT. Kalim

² Fuadi, A. 2011. *Ramah 3 Warna*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Esti Febriyantiningih

NIM : 071810401046

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “*Isolasi mRNA dari Kelenjar Saliva Vektor Dengue Aedes aegypti sebagai Template Sintesis cDNA Pengkode Faktor Imunomodulator*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Penelitian ini merupakan bagian dari proyek penelitian berjudul “Karakterisasi Molekuler Komponen Saliva Nyamuk *Aedes aegypti* Starin Lokal dan Uji Potensi Komponen tersebut sebagai Target untuk Pembuatan Vaksin Melawan Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD)” dan dibiayai program Hibah Riset dan Teknologi DIKTI atas nama Dr.rer.nat Kartika Senjarini. 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 mendapatsanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 Februari 2012

Yang Menyatakan,

Dwi Esti Febriyantiningih
NIM 071810401046

SKRIPSI

ISOLASI mRNA DARI KELENJAR SALIVA VEKTOR DENGUE *Aedes aegypti* SEBAGAI *TEMPLATE* SINTESIS cDNA PENGKODE FAKTOR IMUNOMODULATOR

Oleh
Dwi Esti Febriyantiningih
NIM 071810401046

	Pembimbing
Dosen Pembimbing Utama	: Dr. rer.nat Kartika Senjarini S.Si, M.Si
Dosen Pembimbing Anggota	: Drs. Asmoro Lelono, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Isolasi mRNA dari Kelenjar Saliva Vektor Dengue *Aedes Aegypti* sebagai *Template* Sintesis cDNA Pengkode Faktor Immunomodulator” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :

Tempat :Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji:

Sekretaris,

Ketua,

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

Drs. Asmoro Lelono, M.Si
NIP 196810151998021001

Anggota I,

Anggota II,

Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc
NIP 195510221982121001

Sri Mumpuni Wahyu Widajati, S.Pd., M.Si
NIP 197105101999032002

Mengesahkan

Dekan,

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

RINGKASAN

Isolasi mRNA dari Kelenjar Saliva Vektor Dengue *Aedes aegypti* sebagai Template Sintesis cDNA Pengkode Faktor Imunomodulator; Dwi Esti Febriyantiningih, 071810401046; 2012: 37 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Dengue Hemorrhagic Fever atau di Indonesia dikenal sebagai Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi kejadian luar biasa ditandai dengan *case fatality rate* yang masih tinggi tiap tahunnya. Penyakit ini disebabkan oleh virus dengue dan ditransmisikan ke manusia oleh vektor *Aedes aegypti*. Terapi yang digunakan untuk menanggulangi penyakit ini hanya sebatas pada terapi simptomatis melalui penggunaan obat-obatan, namun upaya ini belum efektif. Vaksinasi merupakan strategi yang lebih efektif, salah satunya melalui pengembangan *Transmission Blocking Vaccine* (TBV). Hipotesis ini didasarkan pada teori bahwa di dalam saliva vektor Arthropoda mengandung dua komponen penting yaitu faktor vasomodulator dan imunomodulator. Komponen imunomodulator yang berada di saliva vektor Arthropoda inilah yang merupakan target potensial dalam pengembangan TBV. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari potensi saliva nyamuk *Ae. aegypti* sebagai target potensial dalam pengembangan vaksin penghambat transmisi virus dengue penyebab DBD (TBV).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah mengisolasi mRNA yang berasal dari RNA total kelenjar saliva *Ae. aegypti*. Sebanyak 500 pasang kelenjar saliva diisolasi dari bagian thorax yang berdekatan dengan bagian esophagus, dan 100 pasang diantaranya digunakan untuk isolasi RNA total. Ekstraksi RNA total dari kelenjar saliva *Ae. aegypti* dilakukan dengan reagen Trizol. Isolasi kelenjar saliva dilakukan dengan *microdissection* dari nyamuk *Ae. aegypti* yang direaring dalam skala lab di B2P2VRP Salatiga. Hasil visualisasi RNA total dari 100 pasang kelenjar

saliva *Ae. aegypti* segar pada gel agarose 1,5% menunjukkan adanya dua pita yang diindikasikan sebagai ribosomal RNA (rRNA) subunit besar (28S) dan rRNA subunit kecil (18S), sedangkan hasil visualisasi mRNA dari RNA total kelenjar saliva belum dapat menunjukkan hasil yang memuaskan dikarenakan konsentrasi mRNA yang rendah dalam sel (sekitar 1-5%) dan atau masih adanya kontaminasi dari rRNA, sehingga belum dapat digunakan sebagai *template* dalam pembuatan konstruksi pustaka cDNA.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul: “*Isolasi mRNA dari Kelenjar Saliva Vektor Dengue Aedes aegypti sebagai Template Sintesis cDNA Pengkode Faktor Imunomodulator* ”. 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 ingin menyampaikan rasa hormat dan terimakasih kepada:

1. Dr.rer.nat Kartika Senjarini, S.Si., M.Si., dan Drs. Asmoro Lelono, M.Si., selaku Dosen Pembimbing yang dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan, bimbingan, saran serta motivasi dalam penulisan skripsi ini;
2. Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc, dan Sri Mumpuni W.W, S.Pd., M.Si., selaku Dosen Penguji, yang telah banyak memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. Drs. Siswanto, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam masa perkuliahan sampai dengan 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 dalam masa perkuliahan;
5. Kedua orang tua tercinta Masturi dan Sukasih yang telah mencurahkan segala perhatian, kasih sayang, doa tulus dan pendidikan yang selalu mengiringi penulis hingga beranjak dewasa;

6. Kedua saudara Muhammad Syirojul Mustaqiim dan Moh. Roufiq Azmi yang selalu memberikan semangat, canda tawa, motivasi, dan do'a di tiap hari kehidupan penulis;
7. Rekan kerja dan teman-teman seperjuangan Dewi Riskha, Dina Fitriyah, Ika Agus, Imam Hanafy, Syubhanul Wathon, Dewi Eka, Aji Baskoro, teman-teman FK, teman-teman Mikrobiologi serta teman-teman *Sugar Group*, terimakasih atas kerjasama, dukungan serta bantuan yang diberikan selama penelitian;
8. Teman-teman angkatan 2007 serta saudara seperjuangan sepenanggungan di *base camp* G28 dan "Rumah Hijau" Halmahera Raya 8, terimakasih atas kebersamaan, persaudaraan, dan tempat berbagi suka dan duka;
9. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga do'a, bimbingan dan semangat yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan balasan dari Alloh SWT. Penulis sangat mengharapkan segala masukan yang bersifat kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, Februari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penyakit Demam Berdarah	5
2.2 <i>Aedes aegypti</i> sebagai Vektor DBD	6
2.3 Pengembangan <i>Transmission Blocking Vaccine</i> Melawan Demam Berdarah Dengue	7

2.4 Protein Saliva Vektor Arthropoda sebagai Target TBV	10
.....	
2.5 Isolasi mRNA sebagai <i>Template</i> Sintesis cDNA	12
BAB 3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Cara Kerja	15
3.3.1 Preparasi Alat	15
3.3.2 Rearing dan Identifikasi Skala Laboratorium Vektor DBD: <i>Ae. aegypti</i>	15
3.3.3 Isolasi Kelenjar Saliva <i>Ae. aegypti</i>	16
3.3.4 Isolasi RNA total dari Kelenjar Saliva <i>Ae. aegypti</i>	16
3.3.5 Isolasi mRNA dari RNA total	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 Identifikasi dan Rearing Skala Laboratorium Vektor DBD: <i>Ae. aegypti</i>	19
4.2 Preparasi dan Isolasi Kelenjar Saliva <i>Ae. aegypti</i>	21
4.3 Optimasi dan Isolasi RNA total Kelenjar Saliva <i>Ae. aegypti</i>	24
4.4 Optimasi dan Isolasi mRNA dari RNA total Kelenjar Saliva <i>Ae. aegypti</i>	27
BAB 5. PENUTUP	29
5.1 Kesimpulan	29
5.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 <i>Arthropod Vector Saliva</i>	11

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Siklus hidup nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	7
4.1 Morfologi jentik <i>Ae. aegypti</i>	19
4.2 (A) Perbedaan morfologi antena <i>Ae. aegypti</i> betina; (B) Perbedaan morfologi thorax bagian dorsal spesies <i>Aedes</i>	21
4.3 Morfologi kelenjar saliva <i>Ae. aegypti</i>	23
4.4 Hasil visualisasi optimasi RNA total dalam gel agarosa 1,5%	26
4.5 Hasil visualisasi isolasi mRNA	27

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Komposisi Larutan	37

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

BLAST	: <i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
bp	: <i>base pair</i>
cDNA	: <i>complementary DNA</i>
DEPC	: <i>Diethyl Pyrocarbonate</i>
DHF	: <i>Dengue Hemorrhagic Fever</i>
DNA	: <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
DSS	: <i>Dengue Shock Syndrome</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid</i>
EtBr	: <i>Ethidium Bromide</i>
GTC	: <i>Guanidium Thio Cyanate</i>
IFN- γ	: <i>Interferon γ</i>
IL-2	: <i>Interleukin 2</i>
kb	: <i>kilo base</i>
mRNA	: <i>messenger RNA</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
RNA	: <i>Ribose Nucleic Acid</i>
RNase	: <i>Ribonuclease</i>
rRNA	: <i>ribosomal RNA</i>
RT	: <i>Reverse Transcriptase</i>
SDS-PAGE	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
TBE	: <i>Tris Boric EDTA</i>
TBV	: <i>Transmission Blocking Vaccine</i>