

988

23

KESEHATAN

LAPORAN PENELITIAN HIBAH BERSAING



**Karakterisasi Molekul Saliva Nyamuk *Anopheles sundaicus* Strain
Lokal sebagai Target Potensial dalam
Pembuatan *Transmission Blocking Vaccine* (TBV)
Melawan Malaria**

dr. Yunita Armiyanti, M.Kes

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

UNIVERSITAS JEMBER
Desember 2009

uk 2010
LP. 2009

988

DIDANAI DIPA UNIVERSITAS JEMBER NOMOR: 0175.0/023-042/XV/2009
TANGGAL 31 DESEMBER 2008

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR

1. Judul Penelitian : Karakterisasi molekuler saliva nyamuk *Anopheles sundaicus* strain local sebagai target potensial dalam pembuatan *Transmission Blocking Vaccine* (TBV) melawan malaria

2. Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap : dr. Yunita Armiyanti, M.Kes.
b. Jenis Kelamin : Perempuan
c. NIP : 19740604 200112 2 002
d. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
e. Jabatan Struktural : -
f. Bidang Keahlian : Parasitologi
g. Fakultas/Jurusan : Kedokteran
h. Perguruan Tinggi : Universitas Jember
i. Tim Peneliti :

No	Nama	Bidang Keahlian	Fakultas/Jurusan	Perguruan Tinggi
1	DR. rer. nat. Kartika Senjarini S.Si., M.Si.	Mikrobiologi	MIPA/BIOLOGI	UNEJ


3. Pendanaan dan Jangka Waktu Penelitian:


- a. Jangka waktu yang diusulkan : 3 tahun
b. Biaya total yang diusulkan : Rp 149.640.000
c. Biaya yang disetujui tahun 1 :
a. Jumlah biaya yang diajukan ke Dikti : Rp 149.640.000
b. Jumlah biaya tahun ke 1 : Rp 49.885.000

Jember, 4 Desember 2009

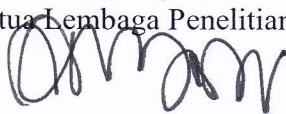
Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran

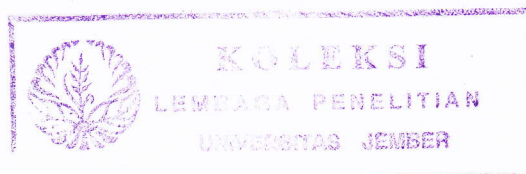
Ketua Peneliti,


Prof. Dr. Bambang Suharyanto, Sp.KK(K)
NIP. 19470121 198303 1 001


dr. Yunita Armiyanti, M.Kes
NIP. 19740604200112 2 002

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian


Cahyoadi Bowo, Ir. Dr.
NIP. 196103161989021001



RINGKASAN

Malaria sampai saat masih merupakan masalah kesehatan yg utama baik di dunia maupun di Indonesia. Diperkirakan 300-500 juta orang di dunia terinfeksi malaria setiap tahun dan hampir 3 juta merupakan kasus yang fatal. Berbagai usaha telah dilaksanakan untuk menekan penyebaran penyakit ini diantaranya dengan pembuatan vaksin malaria, namun hasilnya belum optimal. Vaksin yang tepat untuk pencegahan penyakit malaria adalah yang mencakup pencegahan untuk siklus pre-eritrositik, siklus eritrositik dan proses transmisi. Perkembangan penelitian yang terbaru menunjukkan saliva nyamuk mengandung bahan yang bersifat imunogenik sehingga dapat dimanfaatkan sebagai vaksin yang dapat menghambat transmisi (*Transmission-Blocking Vaccine (TBV)*). Penelitian ini bertujuan untuk melakukan karakterisasi molekuler dan fungsional komponen saliva nyamuk *Anopheles sundaicus* yang bertanggung jawab sebagai faktor imunomodulator sebagai target potensial dalam pengembangan TBV.

Telah berhasil dilakukan isolasi *salivary gland (SG)* dari *A. sundaicus*. SG kemudian diekstraksi untuk mendapatkan RNA sebagai templat untuk pembuatan pustaka cDNA SG *A. sundaicus*. Lebih jauh lagi telah dilakukan SDS PAGE untuk melihat profil protein kasar SG guna deteksi awal keberadaan imunomodulator. *Salivary Gland Extract* diambil dari kelenjar nyamuk *A. sundaicus* yang ditangkap langsung dari lapangan secara *landing collection*. RNA SG *A. sundaicus* diisolasi dari 80 pasangan *salivary gland pairs* nyamuk betina dewasa menggunakan *Micro-FastTrack mRNA isolation kit* (Invitrogen, San Diego, CA, USA). Isolasi RNA belum menunjukkan signal positif dimungkinkan karena jumlah sampel SG yang terbatas, namun demikian isolasi RNA dari spesies *Anopheles* lainnya berhasil dilakukan dengan menggunakan metode Trizol dengan perlakuan DEPC pada larutan-larutan yang digunakan. Oleh karena itu untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan sampling kembali *A. sundaicus* dan isolasi SG yang kemudian dilanjutkan dengan isolasi RNA dengan menggunakan metode Trizol seperti pada kedua spesies *Anopheles* lainnya.

SUMMARY

Malaria is a mosquito-borne disease of world-wide concern as well as in Indonesia causing 1.5 to 2.7 million people dying each year. Many attempts to overcome this disease have been conducted. The complexity of malaria parasite life cycle making the development of anti-malaria vaccine is a little bit complicated. The ideal malaria vaccine strategy should include several stage of parasite life cycles during infection i.e. pre-erythrocytic, erythrocytic and transmission. Recently, it has been shown that mosquito salivary gland contains components which are immunogenic, thus it would be very potential to serve as targets for the development of *Transmission-Blocking Vaccine* (TBV). The objective of this research was to molecularly and functionally characterize the salivary gland components from salivary gland of *A. sundaicus* which are responsible as an immunomodulatory factor as a potential target for the development of TBV.

Salivary gland (SG) of *A. sundaicus* has been isolated from the mosquitoes following landing collection. SG was then extracted to collect mRNA as template for RT-PCR to construct cDNA library. Furthermore, SDS-PAGE was also conducted to elucidate crude protein profile of Salivary Gland Extract (SGE) for preliminary detection of the existing immunomodulatory proteins. Using *Micro-FastTrack mRNA isolation kit* (Invitrogen, San Diego, CA, USA) showed negative result. Therefore, it was decided to change the methods using Trizol reagent. Since the limitation of SG from *A. sundaicus*, the optimization procedure was conducted using SG from other Anopheles species i.e. *A. maculatus* and *A. aconitus*. Using Trizol reagent and DEPC treated solution for isolation of RNA gave positive results with high yield of RNA concentration ($> 500 \text{ ng}/\mu\text{l}$). Therefore it was suggested to use this method instead of using mRNA kit for further isolation of RNA from *A. sundaicus*. Protein profile investigation showed that there were protein bands corresponding with the putative immunomodulatory proteins which are previously published from Anopheles Salivary Glands. This indicated the possibility of the existence of immunomodulatory factors from SG of *A. sundaicus*.

