



LAPORAN PENELITIAN DASAR
TAHUN ANGGARAN 2003

PAMERAN

11 APR 2005

**ANALISIS DIVERSITAS GENETIK GEN PENYANDI REGIO
OKTAMER ANTIGEN SERA Plasmodium Falciparum
DI DAERAH ENDEMIK MALARIA
PROPINSI NUSA TENGGARA TIMUR**

SELESAI

Oleh:

Prof. Dr. Indri Safitri, dr., M.S.
dr. Indah Setyawati T., M.Kes.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi
DIP Nomor : 005/XXIII/1/--/2003 Tanggal 1 Januari 2003
Kontrak Nomor : 21/P2IPT/DPPM/PID/III/2003
Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdiknas
Nomor Urut 1

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Nopember, 2003

- MALARIA, FALCIPARUM

- MALARIA VACCINES..



LAPORAN PENELITIAN DASAR
TAHUN ANGGARAN 2003

KK
KKA
614.532
Saf
a.

**ANALISIS DIVERSITAS GENETIK GEN PENYANDI REGIO
OKTAMER ANTIGEN SERA Plasmodium Falciparum
DI DAERAH ENDEMIK MALARIA
PROPINSI NUSA TENGGARA TIMUR**

Oleh:

Prof. Dr. Indri Safitri, dr., M.S.
dr. Indah Setyawati T., M.Kes.



006204141

006204141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi

DIP Nomor : 005/XXIII/1/--/2003 Tanggal 1 Januari 2003

Kontrak Nomor : 21/P2IPT/DPPM/PID/III/2003

Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut 1

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

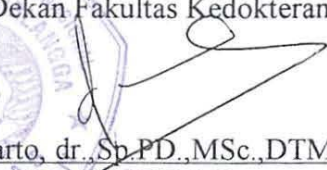
Nopember, 2003

IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DASAR

1. Judul Penelitian	: Analisis diversitas genetik gen penyandi regio ulangan oktamer antigen SERA <i>Plasmodium falciparum</i> di daerah endemik malaria Propinsi Nusa Tenggara Timur.
2. Kepala Proyek Penelitian	
a) Nama Lengkap dan Gelar	: Prof.Dr.Indri Safitri, dr., MS.
b) Jenis Kelamin	: Wanita
c) Pangkat/Golongan dan NIP	: Pembina Utama Muda/ Gol.IVc / 130 933 211
d) Jabatan Fungsional	: Guru Besar
e) Fakultas / Puslit / Jurusan	: Fakultas Kedokteran
f) Univ / Inst / Akademi	: Universitas Airlangga
g) Bidang Ilmu yang diteliti	: Biologi molekuler
3. Jumlah Tim Peneliti	: 2 (dua) orang
4. Lokasi Penelitian	:
a) Kab.Sikka dan Kab.Flores Timur Propinsi Nusa Tenggara Timur	
b) Tropical Disease Center (TDC) Unair	
5. Kerjasama dengan Instansi lain :	
a) Nama Instansi	: -
b) Alamat	: -
6. Masa Penelitian	: 5 (lima) bulan
7. Biaya yang diperlukan	: Rp. 15.000.000,00 (lima belas juta rupiah)

Surabaya, 11 Oktober 2003

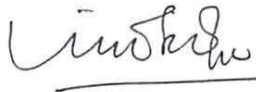
Mengetahui,
PLH Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. Suharto, dr., Sp.PD., MSc., DTM&H
NIP. 130 517 170

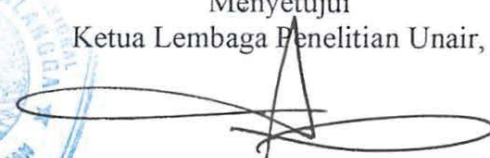


Ketua Peneliti,



Prof.Dr.Indri Safitri,dr.,MS.
NIP. 130 933 211

Menyetujui
Ketua Lembaga Penelitian Unair,



Prof.Dr.H.Sarmanu,M.S.
NIP. 130 701 125

RINGKASAN

ANALISIS DIVERSITAS GENETIK GEN PENYANDI REGIO ULANGAN OKTAMER ANTIGEN SERA *PLASMODIUM FALCIPARUM* DI DAERAH ENDEMIK MALARIA PROPINSI NUSA TENGGARA TIMUR (Indri Safitri, Indah Setyawati, 2003, 33 halaman).

Penyakit malaria sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan di dunia., termasuk di Indonesia. Penyakit malaria yang disebabkan oleh *P. falciparum* memberikan gejala yang paling berat jika dibandingkan dengan penyakit malaria yang disebabkan oleh *P. vivax*, *P. malariae* maupun *P. ovale*. Salah satu faktor yang menjadi penyebab kegagalan pemberantasan penyakit malaria, terutama terhadap penyakit malaria yang diakibatkan oleh *P. falciparum*, adalah belum ditemukan vaksin yang efektif.

Vaksin diperlukan untuk menginduksi timbulnya imunitas yang protektif terhadap terjadinya penyakit malaria, sehingga seseorang yang mendapat imunisasi menjadi kebal terhadap infeksi oleh *P. falciparum*. Vaksin sangat diperlukan di daerah endemis malaria, terutama untuk anak-anak kurang dari 5 tahun dan ibu hamil, maupun individu tidak kebal yang karena sesuatu hal harus mengunjungi daerah endemis malaria.

Selain kompleksnya siklus hidup *P. falciparum*, hambatan dalam pengembangan vaksin yang efektif adalah adanya polimorfisme protein antigen calon vaksin, sehingga saat ini dikembangkan *multistage* dan *multi allele vaccine*, suatu *cocktail vaccine*. Adanya variasi geografik *P. falciparum* menyebabkan perlu dilakukan analisis diversitas gen penyandi calon vaksin di suatu daerah endemis untuk mencari vaksin yang efektif.

Berdasarkan percobaan terdahulu dikatakan bahwa PfSERA merupakan salah satu calon *asexual blood stage vaccine* yang potensial, sehingga diharapkan dapat menjadi bagian dari *multistage vaccine*. Fragmen PfSERA yang sangat imunogenik adalah fragmen 47-kDa, yang selain mengandung regio ulangan serin juga mengandung regio ulangan oktamer. Bagian regio ulangan oktamer ini dikatakan banyak mengandung epitop limfosit B. Urutan nukleotida penyandi fragmen 47-kDa terletak pada ekson II gen PfSERA. Dalam rangka mengembangkan PfSERA sebagai bagian dari *multistage vaccine* yang efektif, perlu dilakukan analisis diversitas genetik ekson II gen PfSERA di daerah malaria. Sampai saat ini analisis diversitas genetik ekson II gen PfSERA, khususnya regio ulangan oktamer masih sangat sedikit dilakukan.

Propinsi Nusa Tenggara Timur merupakan salah satu daerah malaria di Indonesia bagian Timur yang mempunyai endemisitas yang tinggi. Hal ini berbeda dengan di Pulau Jawa dan Bali, karena di daerah tersebut API (Annual Parasite Incidence) pernah dapat ditekan sampai mencapai 0,12 ‰ pada tahun 1992, walaupun setelah tahun 1999 insidens penyakit malaria mulai meningkat kembali. Oleh karena itu daerah tersebut dipilih sebagai lokasi penelitian analisis diversitas genetik gen penyandi regio ulangan oktamer PfSERA, sebagai dasar dalam upaya menciptakan vaksin malaria yang efektif di Indonesia..

Penelitian ini bertujuan untuk mencari diversitas genetik gen penyandi PfSERA di daerah endemik malaria Propinsi Nusa Tenggara Timur. Tujuan khusus penelitian ini adalah mencari diversitas genetik gen penyandi regio ulangan oktamer PfSERA di daerah endemik malaria Propinsi Nusa Tenggara Timur.

Penelitian ini merupakan penelitian observasional laboratorik. Lokasi penelitian adalah di Propinsi Nusa Tenggara Timur. Analisis sampel dilakukan di Laboratorium TDC Universitas Airlangga. Populasi penelitian adalah semua *P.falciparum* yang menginfeksi penderita penyakit malaria di daerah endemik malaria di Propinsi Nusa Tenggara Timur. Sampel penelitian adalah *P.falciparum* yang menginfeksi penderita yang datang pada pengobatan cuma-cuma yang dilakukan pada penelitian ini.

Penapisan terhadap penyakit malaria dilakukan dengan membuat hapusan darah tipis dengan pengecatan AO. Terhadap spesimen yang positif mengandung *P.falciparum*, dilakukan isolasi DNA *P.falciparum* dengan metode Chelex-100, kemudian dilakukan amplifikasi gen penyandi regio ulangan oktamer PfSERA dengan menggunakan *primer* yang spesifik. Sampel yang diperoleh dalam penelitian ini sebanyak 13 yang berasal dari Kabupaten Sikka (6 sampel) dan dari Kabupaten Flores Timur (7 sampel).

Dengan mengamati panjang fragmen DNA hasil reaksi amplifikasi gen penyandi regio ulangan oktamer PfSERA yang tidak sama, maupun ditemukannya hasil amplifikasi berupa 2 pita, maka ditemukan adanya variasi genetik gen penyandi regio ulangan oktamer PfSERA, maupun terjadinya infeksi campuran dari 2 galur *P.falciparum* di daerah penelitian. Untuk mengetahui lebih jelas mengenai diversitas genetik gen penyandi regio ulangan oktamer PfSERA perlu dilakukan sekuensing hasil reaksi amplifikasi gen penyandi regio ulangan oktamer PfSERA di daerah penelitian.

Perlu juga dilakukan penelitian di daerah yang lebih luas dalam usaha pemetaan diversitas global gen penyandi regio ulangan oktamer PfSERA yang merupakan dasar dalam penggunaan PfSERA sebagai salah satu calon vaksin yang efektif.

(Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, No.kontrak 21/P2IPT/DPPM/PID/III/2003, tanggal 27 Maret 2003)



SUMMARY

GENETIC DIVERSITY OF OCTAMER REPEAT REGIONS OF PfSERA GENE IN MALARIA ENDEMIC AREA, EAST NUSA TENGGARA PROVINCE (Indri Safitri, Indah Setyawati, 2002, 32 pages).

Malaria is one of the most serious of all health problems faced by people of the developing world. *Plasmodium falciparum* is the main cause of severe clinical malaria and mortality, striking young children, non-immune adults, and women during their first pregnancies. Control of malaria is becoming increasingly difficult because of the rapid spread of resistance of both the parasite and the mosquito vector to currently available antimalarial drugs and insecticides. Therefore an effective malaria vaccine been more urgently required.

PfSERA, an asexual blood stage antigen is a soluble protein synthesized and secreted into the parasitophorous vacuole by the malaria parasite during the late erythrocyte stage. PfSERA is one of the five-candidate vaccine recommended by the World Health Organization for introduction into human immunization trials. A fragment of PfSERA (~47 kDa), encoded by exon II of the PfSERA gene is known to be highly immunogenic. One region within exon II, known as the octamer repeat region is known to be polymorphic and may show different genetic diversity between different geographic area, which may affect the effort to develop an effective vaccine to be applied to malaria patients within a certain geographic area such as Indonesia. Thus, it is highly important to ascertain the genetic diversity of octamer repeat regions of PfSERA found within endemic malaria areas in Indonesia.

The purpose of this study was to analyze the genetic diversity of the octamer repeat regions of PfSERA gene in selected endemic malaria area within Indonesia. For this purpose isolates from East Nusa Tenggara Province, once of the endemic malaria area in Indonesia, were selected for this study. We get six and seven samples from Sikka and East Flores regency respectively.

The octamer repeat regions of PfSERA gene from those isolates were amplified by polymerase chain reaction (PCR) using specific primer. The genetic diversity of the octamer repeat regions of PfSERA gene determined by evaluation of the PCR products. The different of the PCR products, indicated genetic diversity of the octamer repeat

regions of PfSERA gene in this study. The PCR product more than 1 band (2 bands in this study) in some samples indicated mixed infection from more than 1 strain of *Plasmodium falciparum*, and this is common in malaria endemic area. For more detail about the genetic diversity of the octamer repeat regions of PfSERA gene, sequencing of the PCR product were needed.

The result of this study must be considered to be preliminary and in order to obtain a broader picture the number of isolates should be increased and isolates from other endemic areas should be investigated.

(Airlangga University School of Medicine, Contract Number 21 / P2IPT / DPPM / PID / III / 2003, Marc 27th 2003).

KATA PENGANTAR

Pertama – tama penulis panjatkan puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dengan judul “Analisis diversitas genetik gen penyandi regio ulangan oktamer antigen SERA *Plasmodium falciparum* di daerah endemik malaria Propinsi Nusa Tenggara Timur”.

Dengan selesainya penelitian ini, perkenankanlah penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Rektor Unair Prof. Dr. Med. Puruhito, Ketua Lembaga Penelitian Unair Prof.Dr.H.Sarmanu,Drh,MS., Dekan Fakultas Kedokteran Unair Prof.Dr.H.M.S. Wiyadi, dr.,Sp.THT, Kepala Laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Unair Prof.Soetjipto,dr.,MS.,Ph.D., atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk melakukan penelitian ini. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Prof. Dr. H. Yoes Prijatna Dachlan, dr., MSc selaku Ketua TDC Unair atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan untuk melakukan penelitian ini.

Harapan penulis agar penelitian ini dapat bermanfaat sebagai tambahan pengetahuan bagi penelitian – penelitian di masa mendatang, maupun penggunaannya dalam masyarakat pada umumnya.

Sebagai akhir kata, semoga Tuhan selalu melimpahkan karunia dan rahmat-Nya kepada semua yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

Surabaya, Oktober 2003

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Permasalahan	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Penyakit Malaria	5
2.2.1. Situasi global penyakit malaria	5
2.1.2. Situasi malaria di Indonesia	7
2.2. Parasit Malaria	8
2.3. SERA <i>P. falciparum</i> (PfSERA)	12
2.3.1. Struktur molekul PfSERA	12
2.3.2. Fungsi PfSERA	13
2.3.3. Gen penyandi PfSERA	14
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	17
IV. METODE PENELITIAN	18
4.1. Jenis Penelitian	18
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian	18
4.3. Lokasi Penelitian	18
4.4. Teknik Pengambilan Sampel	18
4.5. Teknik Pemeriksaan	19
4.5.1. Pemeriksaan adanya <i>P. falciparum</i> dengan sistem AO	20
4.5.2. Isolasi DNA <i>P. falciparum</i> dengan metode Chelex-100	21
4.5.3. Reaksi amplifikasi regio ulangan oktamer antigen PfSERA	21
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	33