

## RESPON INTERFERON GAMMA TERHADAP *Plasmodium falciparum* RADIASI PADA KULTUR SEL LIMFOSIT MANUSIA

Darlina dan Siti Nurhayati

Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi - BATAN  
mdarlina@batan.go.id

### ABSTRAK

**RESPON INTERFERON GAMMA TERHADAP *Plasmodium falciparum* RADIASI PADA KULTUR SEL LIMFOSIT MANUSIA.** *Plasmodium falciparum* (*P.falciparum*) adalah parasit malaria yang terpenting karena penyebarannya luas, bersifat ganas, menyebabkan sebagian besar kematian akibat malaria. Interferon gamma merupakan komponen penting dalam respon imun terhadap parasit malaria. Sehingga mempelajari respon imun interferon gamma terhadap secara *in vitro* perlu dilakukan dalam penelitian awal bahan vaksin malaria. Respon interferon gamma dilakukan dengan menginokulasikan *P. falciparum* radiasi maupun infeksius dengan variasi volume inokulum 25  $\mu$ l dan 50  $\mu$ l dalam kultur limfosit diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 ° C. Kemudian ditambahkan 5 ug/mL phytohaemagglutinin (PHA, Sigma) dan diinkubasi kembali selama 48 jam. Setelah 48 jam inkubasi supernatan diambil untuk diukur kadar IFN- $\gamma$  dengan metode ELISA, dan pertumbuhan parasit dinilai dari Giemsa-apus darah tipis yang diperiksa dengan mikroskop cahaya. Pertumbuhan *P.falciparum* tanpa radiasi lebih tinggi dibandingkan dengan *P.falciparum* radiasi. Dari hasil pengukuran diperoleh kadar IFN gamma pada kultur yang diinokulasi dengan *P.falciparum* radiasi lebih tinggi daripada yang infeksius. Kadar IFN gamma yang tertinggi pada pada kultur yang diinokulasi dengan 50  $\mu$ l radiasi Kesimpulan radiasi lebih memicu respon imunitas selular dibandingkan infeksius.

Kata kunci : Interferon gamma, limfosit, *P.falciparum*, radiasi

### ABSTRACT

**INTERFERON GAMMA RESPONSES AGAINST *Plasmodium falciparum* RADIATION ON CELL CULTURE OF HUMAN LYMPHOCYTES.** *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) malaria parasites is important because its spread widely, are ferocious, causing most of the deaths from malaria. Interferon gamma is an important component in the immune response against malaria parasites. So that study the gamma interferon immune response against *P. falciparum* *in vitro* generally needs to be done in the initial research on materials of vaccine of malaria. Gamma interferon response is done by inoculated *P. falciparum* radiation or infectious with the variation of the inoculum volume 25  $\mu$ L and 50  $\mu$ l in lymphocyte cultures incubated for 24 hours at a temperature of 37 ° C. Then added to 5 ug/mL phytohaemagglutinin (PHA, Sigma) and incubated again for 48 hours. After 48 hours incubation supernatan is taken to measure the levels of IFN- $\gamma$  with methods of Elisa, and the growth of the parasite are obseved from Giemsa stained thin blood examined with a microscope. *P. falciparum* growth without radiation higher than the radiation of *P. falciparum* From the results of measurements of IFN gamma levels it was obtained in cultures inoculated with *P. falciparum* radiation higher than infectious. The highest levels of IFN gamma was formed in cultures inoculated in with 50  $\mu$ l of *P. falciparum*. The conclusion that *P. falciparum* radiation triggers cellular immunity response compared infectious *P. falciparum*.

Key words: Interferon gamma, lymphocyte, *P.falciparum*, radiation

## I. LATAR BELAKANG

Malaria adalah penyakit infeksi parasit yang disebabkan oleh *plasmodium* yang menyerang eritrosit dan ditandai dengan ditemukannya bentuk aseksual di dalam darah. Penyakit ini masih merupakan salah satu masalah kesehatan dunia terutama di negara sedang berkembang pada kawasan tropik dan subtropik. *Plasmodium falciparum* (*P.falciparum*) adalah parasit malaria yang terpenting karena penyebarannya luas, angka kesakitan tinggi serta bersifat ganas, hingga sering menyebabkan malaria berat dan menimbulkan lebih dari 2 juta kematian tiap tahun di seluruh dunia. Di Indonesia malaria telah menyebar ke seluruh kepulauan terutama di bagian timur [1], dan terdapat 15 juta kasus dan 42 ribu kematian akibat malaria tiap tahunnya [2]. Kondisi tersebut diperberat dengan semakin luasnya parasit yang resisten terhadap obat anti malaria yang selama ini digunakan dan nyamuk yang resisten terhadap insektisida. Adanya kemampuan parasit untuk tahan terhadap obat baru dan kemampuan vektor nyamuk untuk tahan terhadap insektisida, sehingga vaksin terhadap malaria sangat dibutuhkan. Salah satu alternatif untuk pembuatan vaksin adalah menggunakan teknik nuklir [3]. Young melaporkan bahwa iradiasi dapat mengubah agen patogen menjadi non patogen yang mampu menstimulasi sistem kekebalan dalam tubuh [4]. Smith NC melaporkan bahwa teknik nuklir (iradiasi) dapat melemahkan agen penyakit tanpa menghilangkan daya imunogeniknya dan mampu meningkatkan daya kekebalan pada hewan coba [5].

Vaksin dapat merangsang sistem imun pada inang untuk melawan infeksi organisme patogen mampu menstimulasi sistem kekebalan dalam tubuh. Tujuan pemberian vaksin stadium darah adalah untuk menekan keganasan parasit bukan menginduksi imunitas steril. Target pada vaksin stadium aseksual adalah merozoit. Imunitas pada stadium ini berupa antibodi yang mengaglutinasi merozoit sebelum skizon matang pecah, menghambat masuknya merozoit ke dalam sel eritrosit. Disamping antibodi, mekanisme imun yang diperantarai

sel juga sangat berperan dalam imunitas terhadap malaria [6].

Respon hospes terhadap infeksi malaria merupakan reaksi yang sangat kompleks yang melibatkan respon imunitas humoral yang diperantarai oleh antibodi dan imunitas selular yang diperankan oleh limfosit [7]. Sel ini menyebar keseluruh tubuh melalui sirkulasi darah dan limpa dan menetap secara permanen dalam organ limpa dan nodus limfa. Sel limfosit yang berperan terhadap respon imunitas adalah sel limfosit B sedangkan respon imunitas seluler diperankan sel T [8]. Reaksi imunitas selular yang terjadi dalam tubuh hospes baik yang imun maupun yang tidak imun selama infeksi malaria menyangkut aktivitas sel limfosit T dan sel makrofag yang merupakan kunci mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi malaria [9].

Limfosit merupakan sel yang berperan dalam respon imun karena mempunyai kemampuan untuk mengenali antigen melalui reseptor permukaan khusus dan membelah diri menjadi sejumlah sel dengan spesifitas yang identik serta masa hidup yang panjang menjadikan sel yang ideal untuk respons adaptif [10]. Sel limfosit T berperan dalam imunitas seluler. Limfosit T yang berperan dalam imunitas terhadap parasit stadium eritrosit adalah limfosit T CD4+. Limfosit T CD4+ membunuh Plasmodium intraeritrosit banyak melibatkan sitokin-sitokin baik sebagai efektor langsung maupun sebagai pemacu [11].

Sel limfosit yang diisolasi dengan menggunakan Histopak kemudian dikultur dengan medium kultur. Pengukuran sitokin yang disekresi pada kultur limfosit yang diinokulasi sporozoit radiasi dikultur dengan menggunakan metode the *immunosorbent assay supernatan enzyme-linked* (ELISA), telah dilakukan pada penelitian oleh John M dkk. Pada anak-anak di Kenya [12].

Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) merupakan sitokin yang berperan dalam respon imun bawaan maupun respon imun adaptif terhadap malaria. IFN- $\gamma$  akan disekresikan secara cepat oleh sel efektor seperti makrofag, monosit dan leukosit dalam

memberikan perlawanan terhadap infeksi parasit malaria yang masuk kedalam tubuh [13].

Aktivasi sel limfosit T dan sel makrofag dapat dilalukan dengan jalan imunisasi. Dengan demikian diharapkan selama infeksi malaria pada hospes yang imun akan disekresi IFN- $\gamma$  lebih besar daripada hospes yang tidak imun. Dengan meningkatnya aktivitas sel limfosit T dan sel makrofag diharapkan akan mempunyai efek proteksi selama infeksi malaria.

## II. METODOLOGI PENELITIAN

### Kultur

*P.falciparum* strain 3D7 dikultur secara kontinyu menurut metode Trager dan Jensen dengan modifikasi Van Huysen dan Rieckmann [14]. Parasit dikultur dalam medium RPMI 1640 (Gibco) yang ditambahkan 25mM HEPES (Sigma) dan 30mM NaHCO<sub>3</sub> (Merck) dan dilengkapi dengan serum manusia golongan AB 5% serta eritrosit golongan O dengan hematokrit 1%. Kultur parasit diinkubasi pada 37°C dalam *candle jar* dengan mengganti medium setiap hari. Pertumbuhan parasit diamati setiap hari dengan membuat apusan tipis. Setelah pertumbuhan mencapai 5%, kultur parasit dikumpulkan dalam tabung sentrifuge kemudian disentrifuge pada 1500 rpm selama 10 menit. Kemudian didekantasi lalu endapan dibagi menjadi 2 tabung mikrosentrifuge 1,5 ml untuk perlakuan radiasi dan kontrol.

### Iradiasi Kultur *P. falciparum*

Parasit kemudian diradiasi dengan sinar gamma, pada dosis 175 Gy dengan laju dosis 380,45 Gy/jam di fasilitas Iradiator IRPASANA Pusat Aplikasi Teknologi Isotop Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional

### Isolasi sel limfosit

Sepuluh ml darah diambil dari pembuluh darah vena dikumpulkan ke dalam tabung heparin steril (Becton Dickinson, Oxford, UK), dan sel limfosit dipisahkan secara sentrifugasi gradien dengan

menggunakan Histopaque 1077. Sel limfosit diresuspensi pada  $1 \times 10^6$  sel/mL di RPMI 1640 dengan glukosa 20 mm, 2 mm glutamin, 25 mm HEPES, 100 Unit / mL penicillin/100 mg / mL streptomisin dengan 10% dikumpulkan manusia normal AB serum

### Pengujian secara in vitro

Parasitemia parasit kontrol positif maupun radiasi dihitung kembali dan diencerkan dengan penambahan RPHS hingga diperoleh parasitemia 1-2%. Sel limfosit diencerkan  $5 \times 10^5$  sel/sumuran pada 24-sumuran dan diinkubasi dengan  $\pm 10^7$  eritrosit terinfeksi *P. falciparum* radiasi maupun infeksius dengan variasi volume inokulum 25  $\mu$ l dan 50  $\mu$ l diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Dalam semua sumuran ditambah 5 ug/mL phytohaemagglutinin (PHA, Sigma) dan  $\pm 10^7$  eritrosit terinfeksi dimasukkan sebagai kontrol positif dan diinkubasi kembali selama 48 jam. Setelah 48 jam inkubasi supernatan diambil untuk diukur kadar IFN- $\gamma$  dengan metode ELISA [15].

### Pengukuran kadar Interferon gamma

Konsentrasi IFN- $\gamma$  dalam supernatan dari kultur sel diukur dengan menggunakan standar capture dan deteksi Sandwich ELISA, sesuai rekomendasi dari produsen. Secara singkat, piring ELISA (Nunc) dilapisi semalam pada suhu 4 ° C dengan 1 mg / ml antibodi primer terhadap IFN- $\gamma$  (*kit* dari DRG ). Piring kemudian dicuci dua kali dengan penyangga wash (PBS + 0,05% Tween 20) dan diblokir selama dua jam pada suhu kamar dengan memblokir penyangga (mencuci penyangga + 5% susu non fat). Piring dicuci tiga kali, sampel dan standar sitokin ditambahkan, dan piring diinkubasi semalam pada suhu 4°C. Piring kemudian dicuci empat kali dan sekunder terbiotinilasi anti-manusia IFN- $\gamma$  antibodi monoklonal (*kit* dari DRG ) ditambahkan (0,5 mg/ml). Pelat diinkubasi pada suhu kamar selama 45 menit dan kemudian dicuci enam kali dengan mencuci penyangga. Sebuah reagen avidin peroksidase-conjugated (*kit* dari DRG) ditambahkan pada 1: 1.000 pengenceran di cuci penyangga. Pelat diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan kemudian dicuci

delapan kali. The chromogen mengandung campuran substrat (*kit* dari DRG) ditambahkan sebelum menghentikan reaksi dengan menambahkan 1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. dan dibaca dengan alat ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm [12,16].

### Pengamatan pertumbuhan parasit

Pertumbuhan parasit pada perlakuan tanpa penambahan PHA didalam sumuran, diamati selama 7 hari. Pengamatan jumlah parasit dilakukan pada awal inokulasi hingga hari ke-7 meliputi angka parasitemia. Pertumbuhan parasit diamati dengan membuat sediaan apus darah tipis. Apusan dibiarkan mengering kemudian difiksasi dengan metanol. Apusan diwarnai dengan 5 % larutan Giemsa dan dibiarkan selama 20 menit. Preparat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Jumlah parasit yang hidup dihitung di bawah mikroskop. Persentase pertumbuhan (parasitemia) dihitung dengan cara menghitung jumlah darah yang terinfeksi parasit pada zat uji dan kontrol terhadap 5000 sel darah merah [14]

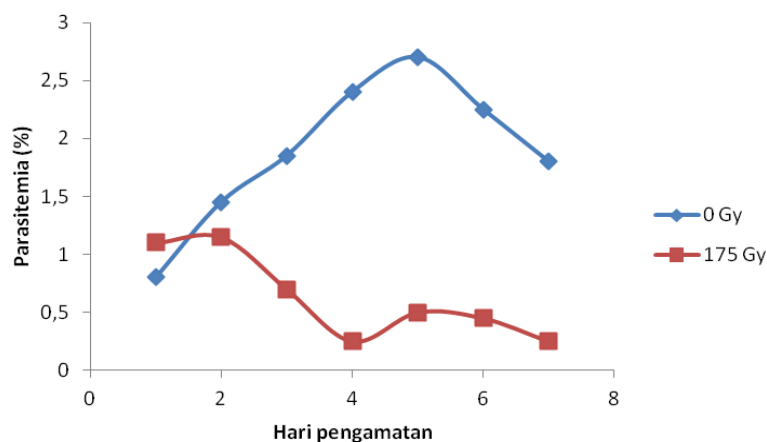
### Analisis data

Uji statistik yang digunakan untuk menentukan perbedaan pertumbuhan parasit pada kedua perlakuan adalah analisis varians satu jalan dengan batas kemaknaan 5%. Jika ada perbedaan yang bermakna dilanjutkan dengan Turkey's HSD test.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Radiasi pada parasit bertujuan untuk melemahkan parasit untuk digunakan sebagai bahan vaksin. Pertumbuhan parasit pada perlakuan tanpa penambahan PHA didalam sumuran, diamati selama 7 hari. Pengamatan jumlah parasit dilakukan pada awal inokulasi hingga hari ke-7 dengan membuat apusan tipis darah perifer dari ekor mencit dan diwarnai dengan giemsa. Pada Grafik pertumbuhan parasit terlihat pertumbuhan parasit yang tidak diradiasi terus meningkat hingga hari ke-5 kemudian menurun sampai hari ke-7. Parasit yang diradiasi pertumbuhannya sedikit meningkat di hari ke-2, setelah itu pertumbuhan parasit terus menurun hingga hari ke-7. Untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan parasit di kedua kelompok maka dilakukan uji Turkey'HSD. Hasil uji Turkey's terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kedua kelompok pada taraf signifikan di bawah 5%.

Pengujian respon imun terhadap manusia tidak dapat menggunakan hewan coba mencit karena parasit malaria adalah spesifik spesies. Oleh karena itu pengujian respon imun terhadap *P.falciparum* dilakukan secara *in vitro* pada kultur sel limfosit manusia [15]. Pengujian secara *in vitro* dalam kultur sel limfosit manusia dilakukan sebagai studi awal penelitian bahan vaksin.



Gambar 1. Pertumbuhan *P.falciparum* dengan perlakuan 0 Gy dan 175 Gy dalam kultur

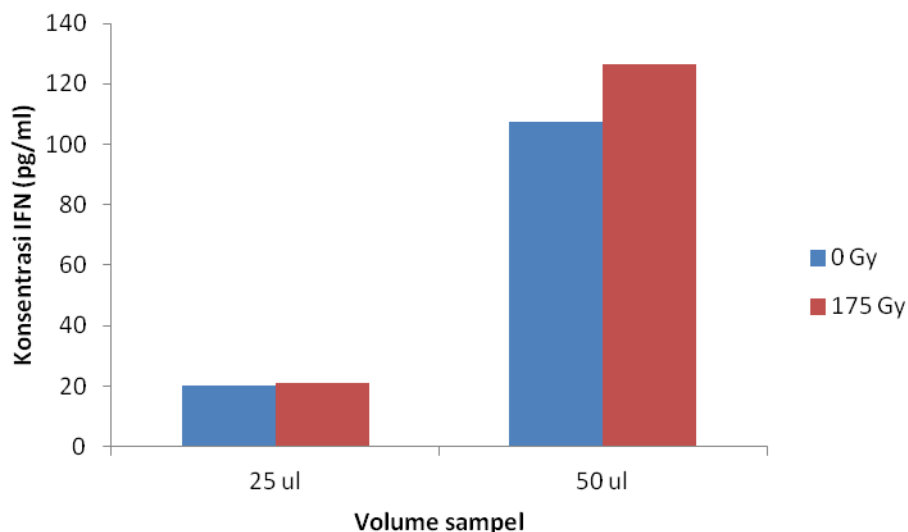
Respon limfosit dilihat dari konsentrasi sitokin yang dikeluarkan sel sebagai respon imun terhadap keberadaan parasit. IFN- $\gamma$  merupakan sitokin yang berperan dalam respon imun bawaan maupun respon imun adaptif terhadap malaria. IFN- $\gamma$  banyak berperan dalam imunitas terhadap malaria yang berfungsi baik sebagai efektor maupun penginduksi respon imun bawaan maupun yang didapat [13]. Sel limfosit diisolasi dari darah donor manusia sehat dengan metode sentrifugasi gradien menggunakan histopak kemudian sel limfosit dikultur dalam medium komplit [15]. *P.falciparum* radiasi maupun yang infeksius diinokulasi dengan variasi volume 25  $\mu$ l dan 50  $\mu$ l dengan penambahan 5 ug/mL phytohaemagglutinin. Setelah 48 jam inkubasi supernatan diambil untuk diukur kadar IFN- $\gamma$  dengan metode ELISA.

Dari pengukuran IFN- $\gamma$  dalam supernatan medium diperoleh hasil, konsentrasi IFN- $\gamma$  dalam kultur sel limfosit yang diinokulasi dengan *P.falciparum* radiasi lebih tinggi dibandingkan tanpa radiasi. Berdasarkan hasil uji Turkey's terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara

kedua kelompok pada taraf signifikan di bawah 5%. Konsentrasi IFN- $\gamma$  tertinggi (126,49 pg/ml) terdapat pada medium kultur limfosit yang diinokulasi dengan 50 $\mu$ l *P.falciparum* radiasi (Gambar 2).

Dari hasil tersebut diatas membuktikan radiasi membuat mikroorganisme tidak mampu melakukan replikasi sehingga tidak menimbulkan infeksi, tetapi tetap mempertahankan sifat-sifat parasit seperti hemaglutinasi dan antigenisitas. Hilangnya kemampuan infeksius dari parasit memungkinkan untuk memproduksi bahan yang layak untuk pembuatan vaksin [8].

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh parasit yang di radiasi dan tidak diradiasi dan jumlah parasit yang ditambahkan terhadap respon IFN- $\gamma$  dalam kultur limfosit. IFN- $\gamma$  merupakan salah satu sitokin proinflamasi yang disekresi sel T helper (Th1) pada saat terjadi infeksi parasit. IFN- $\gamma$  sangat berperan aktif melawan infeksi parasit baik pada stadium hepatosit maupun stadium eritrosit [17]. IFN- $\gamma$  memacu sekresi tomuor necrosis alfa (TNF- $\alpha$ ) untuk mengaktifkan fagosit dan juga meningkatkan daya bunuh netrofil [17].



Gambar 2. Konsentrasi IFN- $\gamma$  dalam kultur in vitro paska inokulasi dengan *P.falciparum* radiasi maupun yang infeksius dengan variasi volume

Pada fase *eritrositik*, eritrosit terinfeksi parasit yang pecah sewaktu proses skizogoni mengeluarkan berbagai toksin seperti *glycosylphosphatidylinositols* (GPI), hemazosin, atau mungkin antigen parasit lain seperti MSP-1, MSP-2, RAP-1 [9]. Toksin tersebut akan memicu makrofag dan limfosit T helper-1, menghasilkan berbagai sitokin proinflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, dan IFN- $\gamma$ ) dalam jumlah banyak, yang akan menimbulkan gangguan metabolisme sel, selanjutnya sitokin tersebut dapat memicu enzim *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), pada sel endotel vaskuler untuk menghasilkan NO [21]. *Oksida nitrit* (NO) dihasilkan makrofag melalui aktivasi sitokin IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  untuk membunuh parasit bila terjadi infeksi pada stadium eritrosit.

Pada penelitian ini hanya digunakan parasit satu strain yang digunakan dan tujuannya adalah untuk memeriksa aspek dari respon kekebalan tubuh manusia terhadap parasit yang diradiasi maupun yang tidak diradiasi dalam menginduksi respon sitokin awal hanya digunakan satu strain *P.falciparum* 3D7. Setelah 24 jam paska pengkulturan dengan eritrosit terinfeksi dengan variasi volume inokulum 25  $\mu$ l dan 50  $\mu$ l dilakukan pengkulturan kembali dengan penambahan 5 ug/mL phytohaemagglutinin (PHA, Sigma) dan diinkubasi kembali selama 48 jam. Setelah 48 jam inkubasi supernatan diambil untuk diukur kadar IFN- $\gamma$  dengan metode ELISA. Pada penelitian ini limfosit terpacu oleh PHA yang berperan sebagai mitogen dan selanjutnya limfosit berproliferasi mensekresi sitokin [18].

Lebih dari satu penelitian telah melaporkan limfosit donor dan jumlah parasit yang diinokulasi mempengaruhi jumlah IFN- $\gamma$  yang diinduksi. Tingkat konsentrasi IFN- $\gamma$  terlihat meningkat dengan meningkatnya parasitemia hingga 7%. Pada parasitaemia tinggi, ada kemungkinan bahwa parasit dan sel limfosit bersaing untuk sumber daya, dengan efek yang merugikan pada viabilitas sel limfosit sehingga sekresi sitokinnya menurun [15,21]. Pada penelitian ini membuktikan kultur limfosit yang diinokulasi dengan 50  $\mu$ l *P.falciparum* memberikan sekresi IFN- $\gamma$  yang lebih tinggi dibandingkan dengan 25  $\mu$ l. Inokulasi dengan 50  $\mu$ l

*P.falciparum* dalam kultur sel limfosit menghasilkan sekresi konsentrasi IFN- $\gamma$  tertinggi.

#### IV. KESIMPULAN

Radiasi membuat mikroorganisme tidak mampu melakukan replikasi sehingga pertumbuhannya menurun. Tetapi tetap mempertahankan sifat-sifat parasit seperti hemaglutinasi dan antigenisitas sehingga dapat respon imun. Pada penelitian ini parasit yang diradiasi pertumbuhannya menurun tetapi memicu sekresi IFN- $\gamma$  sel limfosit lebih tinggi dari yang infeksius. Jumlah parasit yang diinokulasi semakin besar akan membuat sekresi IFN- $\gamma$  semakin meningkat. Inokulum 50  $\mu$ l *P.falciparum* menghasilkan sekresi konsentrasi IFN- $\gamma$  126,49 pg/ml dalam kultur sel limfosit, lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya .

#### DAFTAR PUSTAKA

1. ARSIN, A.A. 2012. Malaria Di Indonesia : Tinjauan Aspek Epidemiolog, Masagena Press. Makassar
2. Depkes RI. 2003. Epidemiologi Malaria. Direktorat Jenderal PPM-PL. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
3. THOMAS C.LUKE, STEPHEN L.HOFFMAN., Rationale and plans for developing non-replicating, metabolically active, radiation attenuated Plasmodium falciparum sporozoites vaccine, The Journal of Experimental Biology, 206 (2003) 3803 – 3808.
4. YOUNG, B.A., Nuclear techniques in animal agriculture, IAEA Bul. 23, 47, (1981).
5. SMITH, N.C., Concepts and strategies for anti-parasite immunoprophylaxis and therapy, Int. J. For Parasite 22 (1992)., 1047
6. MCCARTHY JS, GOOD MF, Whole parasite blood stage malaria vaccines: a convergence of evidence. Hum Vaccin 6: 114–123, (2010).
7. MCCALL, M. B., NETEA, M. G., HERMSEN, C. C., JANSEN, T., JACOBS, L., GOLENBOCK, D., VAN

- DER VEN, A. J., SAUERWEIN, R. W., *Plasmodium falciparum* infection causes proinflammatory priming of human TLR responses. *J. Immunol.* 179, 162–171, (2007).
8. HARTGERS, F. C., OBENG, B. B., VOSKAMP, A., LARBI, I. A., AMOAH, A. S., LUTY, A. J., BOAKYE, D., YAZDANBAKHS, M., Enhanced Toll-like receptor responsiveness associated with mitogen-activated protein kinase activation in *Plasmodium falciparum*-infected children. *Infect. Immun.* 76, 5149–5157, (2008).
  9. FRANKLIN, B. S., PARROCHE, P., ATAIDE, M. A., LAUW, F., ROPERT, C., DEOLIVEIRA, R. B., PEREIRA, D., TADA, M. S., NOGUEIRA, P., DA SILVA, L. H., BJORKBACKA, H., GOLENBOCK, D. T., GAZZINELLI, R. T., Malaria primes the innate immune response due to interferon- $\gamma$  induced enhancement of Toll-like receptor expression and function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 5789–5794, (2009).
  10. TONGREN, J. E., CORRAN, P. H., JARRA, W., LANGHORNE, J., RILEY, E. M., Epitope-specific regulation of immunoglobulin class switching in mice immunized with malarial merozoite surface proteins. *Infect. Immun.* 73, 8119–8129. *J. Immunol.* 143, 2038–2044, (2005).
  11. CHAKRAVARTY, S., COCKBURN, I. A., KUK, S., OVERSTREET, M. G., SACCI, J. B., ZAVALA, F., CD8 $^+$  T lymphocytes protective against malaria liver stages are primed in skin-draining lymph nodes. *Nat. Med.* 13, 1035–1041, (2007).
  12. JOHN M. O. ONG'ECHA, ALTAFA LAL, DIANNE J. TERLOUW, FEIKO O. TER KUILE, SIMON K. KARIUKI, VENKATCHALAM UDHAYAKUMAR, ALLOYS S. S. ORAGO, ALLEN W. HIGHTOWER, BERNARD L. NAHLEN AND YAPING SHI, Association of interferon- $\gamma$  responses to pre-erythrocytic stage vaccine candidate antigens of *Plasmodium falciparum* in young Kenyan children with improved hemoglobin levels: xv. asembo bay cohort project, *Am J Trop Med Hyg* May vol. 68 no. 5 590-597, (2003)
  13. ROLAND, J., SOULARD, V., SELLIER, C., DRAPIER, A. M., DI SANTO, J. P., CAZENAVE, P. A., PIED, S., NK cell responses to *Plasmodium* infection and control of intrahepatic parasite development. *J. Immunol.* 177, 1229–1239, (2006).
  14. LJUNGSTROM I., PERLAMANN, H., SCHILCHTHERLE, M., SHERE, A., and WAHLGREEN, M., *Methods In Malaria Research*, MR4/ATCC, Manassas Virginia, 2004
  15. R A CORRIGAN and J A ROWE, Strain variation in early innate cytokine induction by *P. falciparum*, *Parasite Immunol*, July; 32(7): 512–527, (2010)
  16. DRG, Mouse TNF alfa kit procedure manual.
  17. BARATAWIDJAJA KG. 2006. *Imunologi vaskuler dalam imunologi dasar*. Edisi 7. Jakarta: BP.FKUI. p.384-428
  18. HARIJANTO, P., N., 2009, *Pengobatan Malaria Tanpa Komplikasi (Ringan) Dalam Malaria dari Molekuler ke Klinis*, Ed P.N., Harijanto, 2009, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, pp 145-155.
  19. VIVIER, E., TOMASELLO, E., BARATIN, M., WALZER, T., UGOLINI, S., Functions of natural killer cells. *Nat. Immunol.* 9, 503–510, (2008).
  20. BARBOSA, A., NANICHE, D., APONTE, J. J., MANACA, M. N., MANDOMANDO, I., AIDE, P., SACARLAL, J., RENOM, M., LAFUENTE, S., BALLOU, W. R., ALONSO, P. L., *Plasmodium falciparum*-specific cellular immune responses after immunization with the RTS,S/AS02D candidate malaria vaccine in infants living in an area of high

endemicity in Mozambique. *Infect. Immun.* 77, 4502–4509, (2009).

21. GOOD, M. F., XU, H., WYKES, M., ENGWERDA, C. R., Development and regulation of cell-mediated immune responses to the blood stages of malaria: implications for vaccine research. *Annu. Rev. Immunol.* 23, 69–99, (2005).

## TANYA JAWAB

### 1. Penanya : Diah Shanti - Unibraw

Pertanyaan :

- Apakah interferon gamma juga bisa digunakan untuk kultur sel

Jawaban :

- Interferon gamma tidak digunakan dalam kultur sel tetapi disekresikan oleh sel efektor seperti makrofag, monosit dan leukosit sebagai respon imun dalam memberikan perlawanan terhadap infeksi parasit malaria yang masuk kedalam tubuh.

### 2. Penanya : Purnami - Kemenkes

Pertanyaan :

- Sudah sejauh mana litbang vaksin malaria di BATAN ?
- Apakah bisa diperbaharui lagi kerja sama BATAN dengan P2L ?

Jawaban :

- Litbang vaksin malaria di BATAN sejauh ini masih tahap awal pengujian secara in vivo dengan menggunakan model hewan coba dengan *P.berghei*, dan pengujian secara in vitro menggunakan kultur sel limfosit manusia dengan *P.falciparum*. Tetapi untuk saat ini litbang vaksin dihentikan
- Mengenai kerjasama, bukan kapasitas kami dalam menjawab hal tersebut. Sebaiknya ibu dapat menghubungi Kepala PTKMR.