

Hewan Model Pada Penelitian Penemuan Kandidat Antimalaria Sebagai Upaya Percepatan Pengendalian Malaria

Animal Models in Antimalarial Research Candidates as an Effort to Accelerate Malaria Control

Risqa Novita^{1,2}

¹Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, Organisasi Kesehatan, BRIN, Jalan Raya Bogor-Jakarta KM. 46, Cibinong

²Program Studi Primatologi, IPB University, Jl. Lodaya II/5 Bogor
risq001@brin.go.id

Abstrak

Malaria merupakan penyakit yang sangat lama dari seabad yang lalu, namun masih ditemukan hingga saat ini dan menjadi penyebab kematian tertinggi di dunia, terutama pada anak-anak. Indonesia juga masih belum terbebas dari malaria. Parasit protozoa penyebab malaria di Indonesia adalah *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*, namun saat ini penanggulangan malaria di Indonesia ditambah dengan adanya Malaria Simian yang bersifat zoonosis dan disebabkan oleh *Plasmodium knowlesi*. Penanggulangan malaria membutuhkan penelitian di hewan coba untuk menentukan pencegahan yang efektif, mengetahui patogenesis penyakit, sifat protozoa dan dapat menentukan antimalaria yang sesuai. Tulisan ini merupakan kajian literatur yang mengulas tentang hewan model malaria. Hasil pencarian literatur menunjukkan bahwa, dibutuhkan dua hewan model yang berbeda ordo untuk dapat menentukan antimalaria yang sesuai dan dapat mengetahui sifat protozoa di berbagai hewan model berbeda.

Kata kunci: Balbc, *Macaca fascicularis*, malaria simian, *Plasmodium knowlesi*, zoonosis

Abstract

Malaria is a disease that is very old from a century ago but is still found today and is the highest cause of death in the world, especially in children. Indonesia is also still not free from malaria. The protozoan parasites that cause malaria in Indonesia are Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax, but currently the prevention of malaria in Indonesia is coupled with the presence of Simian Malaria which is zoonotic and is caused by Plasmodium knowlesi. Malaria prevention requires research in experimental animals to determine effective prevention, to know the pathogenesis of the disease, and the nature of the protozoa, and to be able to determine the appropriate antimalarial. This paper is a literature review that reviews animal models of malaria. The results of a literature search indicated that two animal models of different orders were needed to be able to determine the appropriate antimalarial and to be able to determine the nature of the protozoa in different animal models.

Keywords: Balbc, *Macaca fascicularis*, malaria simian, *Plasmodium knowlesi*, zoonotic

Pendahuluan

Sejarah sains seyogyanya dimulai pada akhir abad 16 melalui revolusi sains, yaitu cara berpikir kritis dan kreatif untuk menyelesaikan masalah. Masalah dapat diatasi dengan menggunakan metode eksperimental dan menghasilkan data untuk menjawab masalah tersebut, sehingga dapat diketahui apakah konsep ilmiah tersebut dapat diterima atau ditolak. Menurut ontologi, Malaria adalah penyakit infeksius yang disebabkan oleh protozoa *Plasmodium sp* dan ditularkan melalui vektor nyamuk

Anopheles sp. Malaria termasuk penyebab kematian tertinggi di dunia, dan terutama menyerang anak-anak. Kematian akibat Malaria di dunia mencapai 409.000 jiwa dari 229 juta kasus (Lewinsca and Raharjo, 2021; Tosepu, 2018).

Menurut epistemiologi, demam yang disebabkan oleh Malaria telah dilaporkan sejak 5000 tahun lalu di dalam Nei Ching (Kedokteran Cina) yang terdeteksi adanya pembesaran limpa pada penderita Malaria. Sejarah Mesir juga mencatat adanya demam, kekakuan dan pembesaran limpa pada 1500 tahun sebelum masehi. Kitab suci India pada 3000 tahun lalu menuliskan adanya demam yang disebabkan oleh Malaria dan juga dilaporkan adanya kasus yang sama di Mesopotamia pada abad ke 6 sebelum masehi. Hipocrates juga telah menulis adanya demam tertier yang terjadi tiap hari ketiga dan demam kuartan yang terjadi tiap empat hari. Dilaporkan juga bahwa demam tersebut terjadi pada akhir musim panas dan gugur, dan banyak terjadi di daerah bersuhu lembab, dataran rendah dan berawa. Hipocrates juga menemukan bahwa demam tersebut disebabkan oleh *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium malariae*. *Plasmodium falciparum* ditemukan di Yunani yang berasal dari penderita demam periodik saat musim gugur, dan seringkali kasus demam yang disebabkan oleh Malaria berakhir fatal. *Plasmodium falciparum* menyebabkan Malaria serebral yang tidak disebabkan oleh spesies plasmodium lainnya. Hipocrates juga menyebutkan bahwa pembesaran limpa terjadi di kasus Malaria yang berhubungan dengan meminum air yang tergenang (Chwatt, 1988).

Pertengahan abad 1 Masehi, penulis Roma menulis mengenai Malaria di *De Medicina*, yang juga menuliskan pentingnya kondisi musim dan iklim karena adanya hubungan dengan Malaria yang berkaitan dengan kondisi wilayah yang berawa dan air tergenang. Malaria menjadi endemik di Roma dan wilayah sekitarnya hingga abad ke 20. Hingga saat ini Malaria masih menjadi penyebab kematian tertinggi di dunia, termasuk di Indonesia.

Indonesia belum bebas Malaria hingga saat ini. Data Kemenkes menyebutkan bahwa jumlah kasus Malaria tahun 2020 sebanyak 226.364 kasus dan tahun 2021 sebanyak 94.610 kasus, dan kasus tertinggi terdapat di wilayah Indonesia bagian timur yaitu Papua, Papua Barat, Nusa Tenggara Timur dan Kalimantan Timur (Dit.P2PTVZ Kemenkes, 2022). Munculnya Plasmodium knowlesi yang dapat menginfeksi satwa primata dan manusia juga merupakan tantangan penanggulangan malaria di Indonesia.

Tulisan ini mengkaji

Metode Penelitian

Tulisan ini merupakan review literatur yang bertujuan untuk mencari literatur yang sesuai dengan kriteria inklusi sehingga dapat menjawab pertanyaan penelitian yaitu mencari hewan model yang sesuai untuk penelitian *in vivo* antimalaria. Kriteria inklusi literatur adalah berusia maksimal 10 tahun terakhir dan membahas mengenai hewan model malaria. Kriteria eksklusi literatur adalah berusia lebih dari 10 tahun terakhir, membahas malaria secara umum dan tidak membahas mengenai hewan model malaria.

Hasil Penelitian

Hasil pencarian literatur menunjukkan bahwa dari 25 literatur yang membahas tentang malaria, sebanyak 13 literatur tidak sesuai dengan kriteria inklusi penelitian sehingga dieksklusi di dalam pelaksanaan penelitian. Sebanyak 12 literatur sesuai dengan kriteria inklusi penelitian sehingga dilanjutkan dengan pendalaman semua literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian mengenai hewan model yang sesuai untuk penelitian *in vivo* antimalaria.

Pembahasan

Malaria adalah penyakit menular yang terkenal dengan demam periodik dan pembesaran limpa sejak 2700 tahun sebelum masehi. Malaria terdapat di benua Eropa pada abad ke 14, dan terdapat di seluruh dunia pada tahun 1800. Malaria memiliki dampak tertinggi dibandingkan dengan penyakit infeksi lainnya. Lebih dari 500 juta penduduk dunia terinfeksi oleh Malaria yang terutama menyerang anak-anak (Lou, 2001). Kematian tertinggi malaria terjadi di Afrika, karena terkait dengan kemiskinan. Malaria termasuk penyakit menular yang menyebabkan tingkat fatalitas tinggi, seperti tuberculosis (WHO, 2014). Nama malaria berasal dari bahasa Italia yaitu *air-mal aria* yang berarti udara yang

buruk. Hal ini dikarenakan Malaria didukung adanya infrastruktur yang kurang baik seperti air tergenang, banjir maupun genangan air lainnya yang dapat menjadi tempat perindukan nyamuk.

Beberapa tantangan terbesar penanggulangan Malaria adalah negara Indonesia beriklim tropis sehingga menjadi tempat ideal untuk perindukan bagi vektor Malaria yaitu nyamuk *Anopheles*, munculnya resistensi terhadap obat Malaria, jumlah penduduk dan migrasi penduduk yang tinggi. Spesies *Plasmodium* yang banyak menyebabkan Malaria di Indonesia adalah *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*. *Plasmodium falciparum* sering berakibat fatal karena menyerang otak (Bria, Yeh and Beding, 2021). Mayoritas penderita yang meninggal adalah anak-anak di bawah umur 5 tahun.

Distribusi Malaria di Dunia

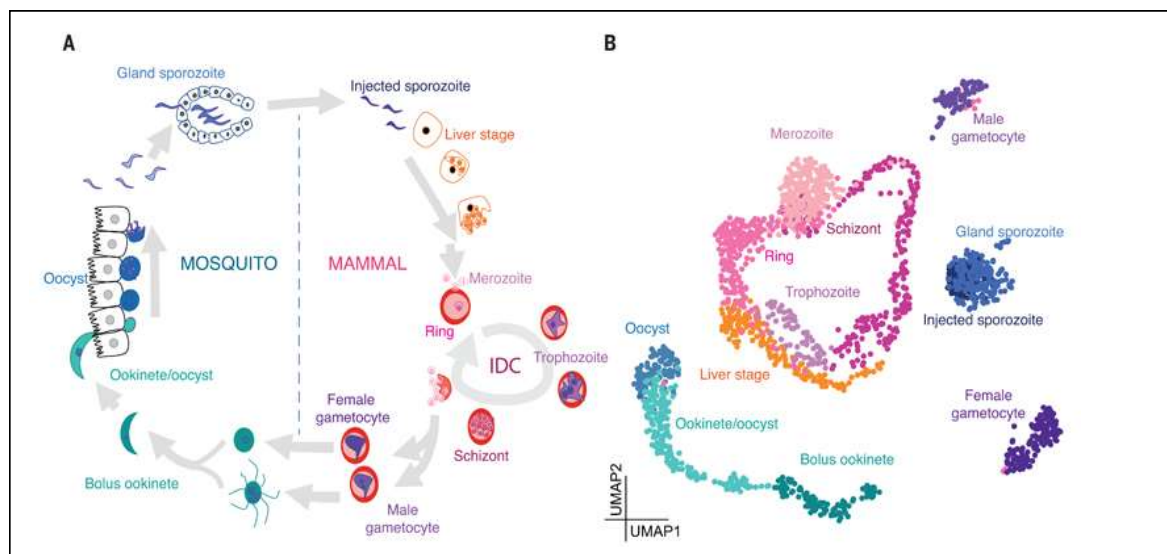
Malaria adalah penyakit menular infeksius yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium sp* yang ditularkan melalui perantara nyamuk *Anopheles sp* betina. Terdapat empat spesies *Plasmodium sp* yang menyerang manusia, yaitu *P. vivax* dan *P. falciparum* yang menyebabkan 95% infeksi malaria. *Plasmodium vivax* memiliki wilayah distribusi yang luas yaitu di daerah tropis, sub tropis dan sedang. *Plasmodium falciparum* umum terdapat di daerah tropis. *Plasmodium malariae* terdistribusi secara sporadik, dan *Plasmodium ovale* yang terutama terdapat di bagian tengah Afrika barat dan beberapa di pulau Pasifik Selatan. Saat ini telah diketahui terdapat di Malaysia Borneo, Thailand, Myanmar, dan Philippina yaitu *Plasmodium knowlesi* (Jongwutiwes, 2004) (Lewinsca and Raharjo, 2021).

Malaria pertama kali ditemukan di Indonesia pada tahun 1900 oleh Robert Koch, dan hingga saat ini Indonesia belum bebas dari Malaria, padahal Kemenkes menargetkan Indonesia akan bebas dari Malaria pada tahun 2030. Data Kemenkes menyebutkan bahwa jumlah kasus Malaria tahun 2020 sebanyak 226.364 kasus dan tahun 2021 sebanyak 94.610 kasus, dan kasus tertinggi terdapat di wilayah Indonesia bagian timur yaitu Papua, Papua Barat, Nusa Tenggara Timur dan Kalimantan Timur (Dit.P2PTVZ Kemenkes, 2022).

Protozoa Penyebab Malaria

Malaria disebabkan oleh Protozoa genus *Plasmodium*. Terdapat empat spesies *Plasmodium* yang dapat menyerang manusia yaitu: 1. *Plasmodium falciparum*, menyebabkan Malaria falciparum atau Malaria tertiana maligna/Malaria tropika/Malaria pernisiosa 2. *Plasmodium vivax*, menyebabkan Malaria vivax atau Malaria tertiana benigna. 3. *Plasmodium ovale*, menyebabkan Malaria ovale atau Malaria tertiana benigna ovale 4. *Plasmodium Malariae*, menyebabkan Malaria Malariae atau Malaria kuartana. 5. *Plasmodium knowlesi*, yang merupakan plasmodium zoonosis yang sumber infeksiusnya adalah kera, dan mayoritas terdapat di Kalimantan. Penyebab Malaria terbanyak di Indonesia adalah *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*, yaitu masing-masing sebesar 63% dan 37% pada tahun 2017 (Lee and Ryu, 2019; Bria, Yeh and Beding, 2021).

Plasmodium memiliki 2 tahapan siklus hidup, yaitu seksual (gametogonia) yang terdapat di tubuh nyamuk, dan siklus aseksual (pembelahan) yang terjadi di tubuh induk semang. Siklus hidup *Plasmodium* dapat dilihat pada gambar berikut ini. Siklis hidup seksual terjadi di dalam tubuh nyamuk, yaitu perkembangan dari sporozoit yang berasal dari air liur nyamuk, kemudian melalui fase gametogonia yang terdiri dari oogoni dan sporogony, kemudian perpadua keduanya menjadi sporozoit, dan berkembang menjadi merozoit. Fase aseksual terjadi pada saat merozoite yang terdapat di dalam tubuh nyamuk, berpindah ke tubuh host atau induk semang saat nyamuk menggigit tubuh host. Merozoit kemudian melalui fase sporogoni di organ liver, dan berubah menjadi schizon yang matang dan beredar ke pembuluh darah host, dan sebagian schizon berubah menjadi tropozoit dan ada yang tetap menjadi schizon hingga saatnya tergigit kembali oleh nyamuk, sebagaimana terlihat pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Siklus Hidup *Plasmodium sp* (Howick et al., 2019)

Anti Malaria

Antimalaria merupakan obat-obatan yang digunakan untuk mencegah dan mengobati infeksi *Plasmodium sp*. Tujuan utama pemberian antimalaria adalah menghilangkan parasit pada stadium eritrosit. Antimalaria yang ideal adalah obat yang efektif pada semua jenis stadium, memiliki efek samping rendah dan memiliki toksisitas rendah.

Antimalaria yang ditemukan pertama kali adalah Cinchoin yang ditemukan oleh seorang dokter berkebangsaan Portugis di abad ke 19, kemudian seorang kimiawan Perancis menemukan Quinine dari kulit tanaman *Cinchona cordifolia*. Penemuan Quinine ini sangat bermanfaat di dalam pengobatan Malaria karena terbukti efektif terhadap parasite *Plasmodium sp*. Namun hingga saat ini, Quinine telah terbukti resisten di dalam pengobatan Malaria sehingga membutuhkan penemuan obat yang efektif terhadap Malaria (Sneider, 2006).

Parasit Malaria saat ini resisten terhadap pengobatan Malaria yang mengandung chloroquine, mefloquine, quinine, sulfadoxine/pyrimethamine dan halofantrin. Saat ini yang menjadi rekomendasi World Health Organization (WHO) untuk pengobatan Malaria adalah Artemisinin kombinasi terapi (ACT). (Ishiyama et al., 2011). Artemisin termasuk generasi pertama Endoperoksida. Namun golongan Endoperoksida kurang efektif terhadap *Plasmodium* fase hati, yaitu pada saat sporozoit yang memasuki darah manusia masuk ke dalam hati dan mengalami tahapan perubahan hingga menjadi merozoit. Laporan dari Kamboja menyebutkan bahwa sudah terjadi resistensi terhadap Artemisin (Saint-léger, Sinadinos and 2 Pouplana, 2016), sehingga penemuan obat Malaria baru yang efektif terhadap dua fase perkembangan parasit sangat dibutuhkan untuk menurunkan kasus Malaria.

Salah satu antimalaria yaitu klorokuin yang memiliki sifat antiplasmodium dan berkerja pada stadium gametosit. Namun saat ini telah banyak terjadi resistensi dan klorokuin tidak menjadi obat pilihan utama. Sebagai pengganti klorokuin, WHO merekomendasikan terapi Malaria menggunakan Artemisinin Combination Therapy (ACT). Artemisinin direkomendasikan dalam pengobatan Malaria untuk semua jenis spesies *Plasmodium*. Artemisinin memiliki kemampuan mengeliminasi parasit intraeritrosit tersebut secara cepat terutama jika diberikan dalam bentuk kombinasi. Namun saat ini telah dilaporkan kejadian resistensi artemisin, yaitu di Thailand dan Vietnam. Kementerian Kesehatan juga merekomendasikan penggunaan ACT dan DHP (dihydroartemisinin-piperazine) sebagai pilihan pertama pengobatan karena telah dilaporkan adanya resistensi *P.vivax* terhadap kloroquine (Elyazar, Hay and Baird, 2011).

Sebelum menentukan suatu kandidat obat dapat digunakan pada manusia, memerlukan uji toksisitas tersebut di hewan coba. Diantara hewan model, satwa primata memiliki hubungan fisiologi yang lebih dekat dengan manusia dibandingkan tikus dan anjing, sehingga hasil yang didapatkan pada kera, akan memiliki kesamaan di manusia (Ebeling et al., 2011).

Hewan model Malaria

Terdapat beberapa hewan yang dapat digunakan sebagai model penelitian Malaria, seperti tercantum pada tabel berikut ini.

Tabel 1. Perbandingan hewan model Malaria (Inigo Angulo-Barturen, 2013)

Jenis Hewan	Penelitian yang lengkap	Mebutuhkan fasilitas	Akses teknologi	Manipulasi hewan	Biaya riset
Tikus	+	+	++++	+	++
Mencit	+++	+++	++	++++	+++
<i>Non Human Primata</i>	+++++	+++++	Sangat terbatas	++	+++++

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa penggunaan *Non Human Primata* (NHPs) sebagai hewan model malaria dapat menghasilkan data penelitian yang lengkap, hal ini mungkin disebabkan memiliki kesamaan fisiologi dengan manusia dan ada plasmodium di satwa primata yang juga dapat menginfeksi manusia. Namun penggunaan NHPs membutuhkan fasilitas yang besar dan biaya riset yang mahal, berbeda halnya jika menggunakan rodensia sebagai hewan model.

Tujuan utama uji di hewan coba adalah untuk mengetahui keamanan obat yang biasanya dilakukan pada dua jenis hewan yang berbeda. Uji ini untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi bahaya hazard yang mungkin terjadi yang diakibatkan oleh obat baru tersebut. Uji keamanan bertujuan untuk mengetahui efek samping yang ditimbulkan obat pada kedua jenis hewan

Beberapa plasmodium yang terdapat di NHPs memiliki potensi untuk menimbulkan penyakit pada manusia yaitu *Plasmodium knowlesi* dan *Plasmodium inui*, sehingga untuk menginokulasi Plasmodium ke NHPs membutuhkan infrastruktur laboratorium yang memadai, setidaknya *Animal Biosafety level 2* untuk melindungi peneliti dari kemungkinan bahaya zoonosis yang diakibatkan oleh NHPs.

NHPs atau termasuk monyet secara filogeni memiliki kedekatan dengan manusia sehingga penggunaan monyet seringkali dibutuhkan di dalam riset penerobosan medis dan ilmiah baru. Saat ini, penelitian toksikologi obat sering menggunakan tiga spesies NHPs yaitu monyet ekor panjang, monyet Rhesus dan marmoset.

Untuk menguji keamanan obat Malaria, maka diperlukan dua jenis hewan yang berbeda. Hewan pertama yang dipilih untuk uji keamanan adalah rodensia, dalam hal ini mencit dipilih karena alasan mudah didapatkan, mudah untuk dihandling, tidak menimbulkan bahaya zoonosis pada peneliti akibat Plasmodium yang diinokulasikan dan *Plasmodium berghei* yang digunakan untuk inokulasi ke mencit belum terbukti dapat menular ke manusia. Selama ini mayoritas uji keamanan obat dilakukan di rodensia, dan hanya beberapa kandidat obat yang dapat dilakukan uji di macaca. Penggunaan hewan di dalam uji toksisitas obat harus merujuk pada Deklarasi Helsinki yang merupakan prinsip-prinsip etik hewan coba.

Penggunaan NHPs pada uji toksisitas obat didasarkan persamaan dengan manusia pada farmakodinamik. NHPs digunakan untuk mengetahui efek samping obat, yang kemungkinan akan terjadi hal yang sama di manusia, sehingga uji farmakologi dan farmakokinetik termasuk biotransformasi obat dapat diketahui. NHPs dapat digunakan sebagai hewan coba jika belum diketahui data keamanan pada obat baru tersebut.

Rodensia yang dapat digunakan sebagai hewan coba malaria adalah mencit strain Balbc karena memiliki daya susceptibilitas terhadap Plasmodium berghei yang akan diinokulasi ke mencit.

Plasmodium berghei adalah plasmodium yang dapat berkembang di dalam tubuh mencit dan memiliki tahapan perkembangan aseksual yang sama seperti Plasmodium pada manusia yaitu Plasmodium vivax, Plasmodium ovale dan Plasmodium malariae.

Inokulasi Plasmodium berghei pada mencit akan lebih mudah karena tidak membutuhkan fasilitas laboratorium Animal Biosafety level 3 karena belum adanya publikasi ilmiah yang menunjukkan jika Plasmodium berghei dapat menular ke manusia. Data yang dapat diambil setelah menggunakan mencit adalah dapat berupa data toksisitas akut antimalaria tersebut dan data dosis tertinggi yang dapat membuat setidaknya setengah dari jumlah mencit tetap hidup. Parameter yang diamati antara lain ; 1) Histologi sel hati, ginjal, paru dan limpa, 2) Berat badan, 3) Nafsu makan dan minum, 4) Kematian.

Penelitian in vivo di hewan coba dapat dilanjutkan ke tahap kedua yaitu menggunakan hewan yang memiliki ordo lebih tinggi dari rodensia, misalnya NHPs. Salah satu contoh NHPs adalah *Macaca fascicularis* karena beberapa pertimbangan yaitu ; 1) Didapatkan data farmakodinamik obat yaitu *binding site* dan reseptor, 2) Memiliki kesamaan dengan toksisitas pada manusia dan profil farmakokinetik berdasarkan pada data in vitro, 3) Memiliki kesamaan dengan manusia pada anatomi dan fisiologi organ spesifik, 4) Dapat mengetahui efek toksik yang spesifik, yang kemungkinan sama dengan manusia namun tidak ditemukan pada hewan jenis lain

Kekurangan penggunaan *Macaca fascicularis* pada uji antimalaria adalah sebagai berikut ini; 1) Mahal, 2) Jumlah yang dapat dipakai hanya sedikit sehingga tidak dapat memakai rumus statistic, 3) Membutuhkan keahlian khusus untuk meng-handling *M.fascicularis*, 4) Dapat menularkan penyakit ke manusia, sehingga sebelum digunakan sebagai hewan coba, *M.fascicularis* harus dilakukan uji terhadap penyakit dasar yang berpotensi menular ke manusia seperti Hepatitis C, Tuberkulosis dan Entamoebiasis, 5) Persetujuan etik yang tidak mudah karena saat ini status *Macaca fascicularis* menurut indeks di IUCN adalah *Endangered*, yaitu satwa yang harus dilindungi.

Kesimpulan

Malaria adalah penyakit menular yang hingga saat ini belum berhasil untuk dieradikasi, sehingga hal ini merupakan tantangan yang besar bagi peneliti malaria untuk dapat menemukan pengobatan Malaria yang dapat menekan angka kesakitan akibat malaria. Keberhasilan penekanan kasus Malaria dapat disebabkan oleh berbagai faktor, seperti level transmisi penularan (besarnya dosis penularan ke seseorang), resistensi obat, keberadaan nyamuk Anopheles sebagai vektor penyakit termasuk tingkah laku vektor dan kualitas pelayanan kesehatan setempat. Faktor yang paling berperan terhadap kesembuhan malaria adalah penemuan anti malaria yang efektif, sehingga membutuhkan penelitian yang komprehensif yang dapat menemukan antimalaria yang efektif terhadap primata dan manusia, terutama dalam penanggulangan terhadap *Plasmodium knowlesi*. Penentuan hewan model yang sesuai sangat penting agar penelitian antimalaria dapat berjalan efektif dan mendapatkan antimalaria yang dapat diaplikasikan secara klinis pada manusia.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan Kepala Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, BRIN atas kesempatan yang diberikan sehingga dapat menyelesaikan tulisan ini.

Daftar Pustaka

- Bria, Y. P., Yeh, C. and Beding, S. (2021). International Journal of Infectious Diseases Significant symptoms and nonsymptom-related factors for malaria diagnosis in endemic regions of Indonesia. *International Journal of Infectious Diseases*, 103, pp. 194–200. doi: 10.1016/j.ijid.2020.11.177.
- Chwatt Bruce, L. J. (1988). *Malaria: Principles and Practice of Malariology*; Wernsdorfer, W. H.; McGregor, I., Eds.; Churchill Livingstone: Edinburgh. pp. 1-59
- Ebeling, M. et al. (2011). Genome-based analysis of the nonhuman primate *Macaca fascicularis* as a model for drug safety assessment. pp. 1746–1756. doi: 10.1101/gr.123117.111.

- Elyazar, I. R. F., Hay, S. I. and Baird, J. K. (2011). Malaria Distribution , Prevalence , Drug Resistance and Control in Indonesia. *Adv Parasitol*, 74, pp. 41–175. doi: 10.1016/B978-0-12-385897-9.00002-1.
- Inigo Angulo-Barturen, S. F. (2013). Humanised models of infection in the evaluation of anti-malarial drugs. *Drug discovery today: Technologies*, 10(3), pp. 351–357. doi: 10.1016/j.ddtec.2012.07.003.
- Lee, J. and Ryu, J. (2019). Current Status of Parasite Infections in Indonesia : A Literature Review. *Korean J Parasitol*, 57(4), pp. 329–339.
- Lewinsca, M. Y. and Raharjo, M. (2021). Risk Factors Affecting the Incidence of Malaria in Indonesia : A Literature Review. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 11(1), pp. 16–28. doi: 10.47718/jkl.v10i2.1168.
- Lewinska MY, M Raharjo, N Nurjazuli. (2021). Risk Factors Affecting the Incidence of Malaria in Indonesia: A Literature Review 2016-2020. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 11(1):1-13
- Malaria. Hu, C. et al. (2018). Design, synthesis and antifungal evaluation of borrelidin derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26(2018), pp. 6035–6049. doi: 10.1016/j.bmc.2018.11.005.
- Sneider, W. (2006). *Drug Discovery: A History* John Wiley and Sons Ltd.: West Sussex.
- Talisuna Ambrose O, Peter Bloland and Umberto A'Alessandro. (2004). History, Dynamics, and Public Health Importance of Malaria Parasite Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 17(1): 235-254.
- Tosepu Ramadhan. (2018). Ontology and Epistemology of Malaria. *Public Health of Indonesia*. 4(4):170-172.