

ARTIKEL PENELITIAN

## Potensi Propolis dan Kombinasi Dengan Klorokuin Sebagai Antimalaria Pada Mencit (*Mus Musculus*) yang Terinfeksi *Plasmodium berghei*

\*Hendri Astuty<sup>1)</sup>, Muhamad Farhan<sup>2)</sup> Rawina Winita<sup>1)</sup>

<sup>1</sup> Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup> Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

\*Correspondence author: Hendri Astuty, [tutihendardi80@gmail.com](mailto:tutihendardi80@gmail.com), Jakarta, Indonesia

### Abstrak

Malaria masih merupakan masalah kesehatan Masyarakat baik di Asia Tenggara maupun wilayah lain di dunia. Munculnya resistensi pada beberapa obat malaria, diantaranya klorokuin. Dengan bertambahnya resistensi obat malaria banyak dilakukan berbagai penelitian untuk menemukan senyawa antimalaria yang baru. Salah satu nya adalah propolis yang mengandung *luteolin 7-O glucoside* dapat menghambat biosintesis asam lemak tipe 2 parasit dan *chalcone* menghambat proses hemolisis. Penelitian ini bertujuan melihat potensi terapi propolis secara tunggal dan kombinasi dengan klorokuin pada mencit (*Mus musculus*) jantan yang terinfeksi *Plasmodium berghei*. Dosis propolis tunggal yang diuji adalah 30 mg/kgBB dan 60 mg/kgBB dan kombinasi propolis dengan klorokuin. Penelitian bersifat eksperimental laboratorik dengan desain *post test control group only*. Perbandingan densitas parasitemia dengan metode *the 4 days suppression test* pada semua kelompok perlakuan dengan uji Kruskal-Wallis didapati nilai  $p < 0.001$ . Hasil penelitian menunjukkan terapi propolis tunggal dosis 30 mg/kg BB lebih baik dibandingkan dosis 60 mg/kg BB. Pada terapi kombinasi antara propolis dengan klorokuin baik pada dosis 30 mg/kg BB maupun 60 mg/kg BB mempunyai hasil yang signifikan. Kesimpulan penelitian ini terapi kombinasi propolis dosis 30 mg/kgBB maupun dosis 60mg/kgBB dengan klorokuin mempunyai potensi yang lebih baik sebagai anti malaria, sehingga propolis bersifat sinergis dengan klorokuin sebagai anti malaria.

**Kata kunci :** Propolis, Klorokuin, *Plasmodium berghei*, Parasitemia

### Abstract

Malaria is still a public health problem both in Southeast Asia and other regions of the world. The emergence of resistance to several malaria drugs, including chloroquine. With the increase in malaria resistance, including chloroquine. With the increase in malaria drug resistance, many studies have been conducted to find new antimalarial compounds. One of them is propolis which contains *luteolin 7-O glucoside* which can inhibit the biosynthesis of parasitic type 2 fatty acids and *chalcone* can inhibit the hemolysis process. This study aims to examine the therapeutic potential of propolis single and combination with chloroquine in male *Mus musculus* infected with *Plasmodium berghei*. The single propolis tested were 30 mg/kgBW, 60 mg/kgBW and a combination of propolis. This study is an experimental laboratory study with a post-test control group-only design. Comparison of parasitemia density with the 4-day suppression test method in all treatment groups with the Kruskal-Wallis test found a  $p$ -value  $< 0.001$ . The results study showed that single propolis at a dose of 30 mg/kg BW was better than a dose of 60 mg/kg BW. Combination therapy between propolis and chloroquine at doses of 30 mg/kg BB and 60 mg/kg BB had significant results. The conclusion of this study shows that combination therapy of propolis at a dose of 30 mg/kg WB or a dose of 60 mg/kg BB with chloroquine has better antimalarial potential, so propolis is synergistic with chloroquine as an antimalarial.

**Keywords:** Propolis, Chloroquine, *Plasmodium berghei*, Parasitemia

## PENDAHULUAN

Kasus Malaria masih menjadi permasalahan kesehatan di dunia. Hingga kini diperkirakan kasus malaria mencapai 212 juta dengan jumlah kematiannya sebanyak 429 ribu (WHO, 2023). Menurut WHO pada tahun 2022 terdapat 249 juta kasus malaria dan 608 ribu kematian di seluruh dunia (WHO, 2024), sehingga pada tahun 2023 terjadi penurunan kasus malaria dibandingkan 2022. Menurut WHO (2024), target di tahun 2030 nanti bertujuan untuk mengurangi angka kejadian dan kematian malaria secara global dengan target sekitar 90%, memberantas malaria di 35 negara dan mencegah malaria muncul kembali di semua negara yang bebas malaria. Berdasarkan laporan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas, 2013), prevalensi malaria di Indonesia sebesar 6% (Kemenkes RI, 2023). Dari 33 provinsi di Indonesia, 15 provinsi masih mempunyai prevalensi malaria di atas angka nasional (Kemenkes RI, 2023).

Salah satu tantangan dalam menghadapi malaria adalah munculnya resistensi terhadap beberapa obat antimalaria, salah satunya klorokuin. laporan pertama tentang resistensi klorokuin (CQ) *P. falciparum* muncul secara independen di Amerika Selatan dan Asia Tenggara. Dalam dua dekade, resistensi CQ pada *P. falciparum* menyebar ke seluruh dunia di wilayah tropis dan subtropis, selanjutnya resistensi obat malaria terjadi pada sulfadoksin-pirimetamin (SP), namun resistensi terhadap SP muncul dengan cepat. Munculnya obat malaria yang resistensi terhadap *P. falciparum* di wilayah di Afrika sub-Sahara sangat tinggi sehingga banyak menimbulkan 2–3 kali lebih banyak kasus malaria dan kematian akibat malaria (Ippolito *et al*, 2021). Di Indonesia kasus resistensi klorokuin terhadap *Plasmodium falciparum* pertama kali ditemukan tahun 1973 di Kalimantan. dan semakin hingga tahun ahun 1990 (Kemenkes RI, 2022). Terjadinya resistensi obat dapat disebabkan antara lain penggunaan obat anti malaria yang tidak rasional. Sejak tahun 2004 obat pilihan utama untuk pengobatan malaria falciparum adalah ACT (*Artemisinin Combination Therapy*), selanjutnya pada tahun 2010 penggunaan ACT semakin meluas yang dipakai untuk semua jenis malaria. Kombinasi artemisinin dipilih untuk meningkatkan mutu pengobatan malaria yang sudah resisten terhadap klorokuin dimana artemisinin ini mempunyai efek terapeutik yang lebih baik (Kemenkes RI, 2023).

Resistensi obat antimalaria yang semakin meningkat menjadikan banyaknya penelitian dengan bahan herbal untuk menemukan pengobatan alternatif yang digunakan dalam terapi malaria. Salah satunya adalah Propolis yang merupakan ekstrak resin tanaman yang tercampur

dengan madu, lilin lebah, dan enzim lebah (Syamsudin *et al*, 2009; Azizah *et al*, 2010). Terdapat dua komponen dalam propolis yang bermanfaat sebagai antimalaria yaitu *luteolin 7-O glucoside* dan *chalcone*. *Luteolin 7-O glucoside* mempunyai kemampuan menghambat enzim Fab I, yang merupakan enzim penting dalam biosintesis asam lemak tipe 2 *Plasmodium falciparum*. Sedangkan *chalcone* dapat meredakan gejala malaria dengan menghambat proses hemolisis (Azizah *et al*, 2010). Kombinasi dua senyawa antimalaria yang mempunyai dua mekanisme yang berbeda berpotensi menginhibisi resistensi dari senyawa tersebut (WHO, 2001) Salah satu contohnya adalah kombinasi obat antimalaria golongan 4-aminokuinolon seperti klorokuin dengan pirimetamin/sulfadoksin (WHO, 2001; (Kemenkes RI, 2023). Kombinasi artemisin yang disintesis dari tanaman *Artemisia annua* dengan mefloquine juga dilaporkan dapat menginhibisi resistensi dan mengurangi transmisi malaria (WHO, 2001). Dengan banyaknya permasalahan resistensi obat antimalaria di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat efektifitas kombinasi propolis dan klorokuin sebagai obat antimalaria.

## **METODE PELAKSANAAN**

Desain dari penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan *post control group only* menggunakan mencit (*Mus musculus*) jantan yang diinfeksi *Plasmodium berghei* sebagai subjek penelitian. Mencit jantan yang digunakan dengan berat badan sekitar 21-35 gram. Penelitian ini telah lolos kaji etik yang diberikan oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dengan nomor surat 344/H2.F1/ETIK. Penelitian dilakukan di Laboratorium Departemen Parasitologi FKUI, Laboratorium Hewan PUSLITBANGKES Kementerian Kesehatan RI. Pemilihan Sampel dilakukan dengan menggunakan sampel mencit (*Mus musculus*) terinfeksi *Plasmodium berghei* yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pengumpulan data yang digunakan pada penelitian merupakan data primer yang diambil dari hasil penghitungan tingkat parasitemia sebelum dan setelah diberi perlakuan. Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus Feederer (Budijanto, 2013) ,jumlah masing-masing kelompok yang digunakan adalah 6, maka jumlah penggunaan mencit sebanyak 30 ekor. Propolis yang digunakan pada penelitian ini dalam bentuk kemasan komersial bermerek *High Desert Bee Propolis* yang tidak mencantumkan komposisinya. Propolis yang digunakan dengan dosis 30 mg/kg BB dan 60 mg/kg BB.

Pada prosedur penelitian pemeliharaan hewan coba mencit dibiarkan beradaptasi di Laboratorium Hewan PUSLITBANGKES Departemen Kesehatan RI selama sekitar 1 minggu. pemberian makanan dalam bentuk pelet dan minuman serta kondisi kandang yang terjaga kebersihannya akan ditempati oleh 5-6 mencit.

Pengelompokkan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Kontrol negatif (K (-)): Mencit terinfeksi *P. berghei* tanpa terapi, Kontrol positif (K (+)): Mencit terinfeksi *P. berghei* dengan terapi klorokuin standar. Terapi 1 (T1): Mencit terinfeksi *P. berghei* dengan terapi tunggal propolis 30 mg/kg BB, Terapi 2 (T2): Mencit terinfeksi *P. berghei* dengan terapi tunggal propolis 60 mg/kg BB, Terapi 3 (T3): Mencit terinfeksi *P. berghei* dengan terapi kombinasi propolis 30 mg/kgBB dan klorokuin, Terapi 4 (T4): Mencit terinfeksi *P. berghei* dengan terapi kombinasi propolis 60 /kgBB dan klorokuin. Sebelum memulai penelitian, semua mencit akan diukur berat badannya. Mencit yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi akan dimasukkan ke kelompok perlakuan. Pemberian terapi dilakukan oral dengan alat bernama sonde. Pemiakkan *Plasmodium berghei* dilakukan pada mencit donor. Pertama, parasit *Plasmodium berghei* diperoleh dari Departemen Parasitologi FKUI. Parasit akan diinjeksi intraperitoneal sebanyak 1 ml yang dibagi untuk 5 mencit donor masing-masing sebanyak 0,2 ml. Parasit lalu diinkubasi hingga tingkat parasitemia mencit donor sekitar 10%-20%. Injeksi Darah Parasitemia pada mencit Perlakuan darah mencit donor akan diambil dari pembuluh darah okular dan dihitung tingkat parasitemianya. Darah mencit kemudian akan diencerkan pada RPMI hingga konsentrasi 1%.

Setelah darah sudah diencerkan, setiap mencit percobaan akan diinjeksi secara intraperitoneal sebanyak 0,1ml dan pengamatan tingkat parasitemia dapat dilakukan setelah 24 jam. Pengambilan darah dilakukan pengamatannya setiap hari sampai hari ke 4 dihitung *growth inhibition* (penghambatan pertumbuhan parasit malaria) dengan menghitung selisih tingkat parasitemia mencit pada hari ke-4 dan hari ke-0 karena pengobatan obat standar malaria hanya 3 hari, Sediaan darah tipis dan tebal yang sudah dibuat dengan objek glass, dikeringkan dan fiksasi dengan metil alkohol untuk yang sediaan dar0h tipis akan di buat pewarnaan dengan Giemsa 3% selama 45 menit (Nurul Asmawati dkk, 2023)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Penelitian ini ditemukan beberapa mencit memenuhi kriteria drop out. Satu mencit dari kelompok kontrol negatif mati pada hari ke-7. Tiga mencit dari kelompok terapi 2 mati

pada hari ke-7. Karena data yang digunakan hanya mencapai hari ke-4, maka data mencit tersebut tetap digunakan. Pada hasil tingkat parasitemia dari mencit, didapatkan nilai parasitemia per hari sampai hari ke empat. Selisih tingkat parasitemia antara hari H1 dan H4 dihitung dan digunakan pada uji SPSS (Tabel 1).

**Tabel 1. Tingkat Parasitemia (TP) mencit dan Growth Inhibition (GI) parasit perhari (%)**

Kelompok Perlakuan	H0	H1		H2		H3		H4		TP H4-H0
	TP	TP	GI	TP	GI	TP	GI	TP	GI	
Kontrol negatif	0.80	10.60	0.00	28.96	0.00	48.44	0.00	55.26	0.00	54.5
Kontrol positif	0.60	0.66	93.77	0.46	98.41	0.58	98.80	0.62	98.88	0.0
Terapi 1	0.56	6.06	42.83	20.00	30.94	38.76	19.98	47.62	13.83	47.1
Terapi 2	0.74	5.20	50.94	30.86	-6.56	41.34	14.66	64.96	-17.55	64.2
Terapi 3	0.64	0.96	90.94	0.66	97.72	0.50	98.97	0.60	98.91	0.0
Terapi 4	0.58	0.76	92.83	0.56	98.07	0.48	99.01	0.50	99.10	-0.1

**Keterangan:**

H0: 1 hari setelah terinfeksi sebelum terapi

H1: 1 hari setelah mulai terapi

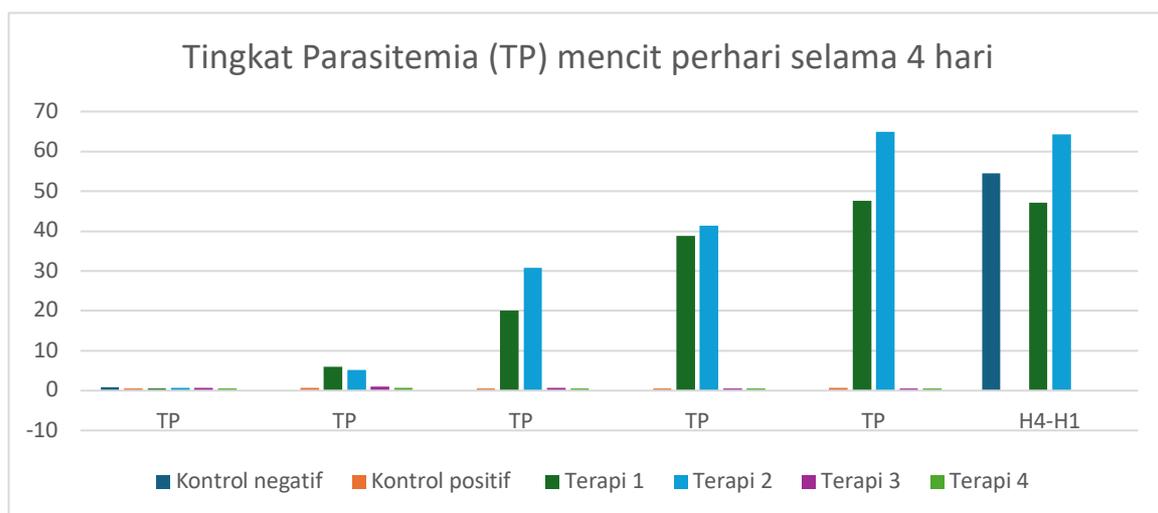
H2: 2 hari setelah mulai terapi

H3: 3 hari setelah mulai terapi

H4: 4 hari setelah mulai terapi

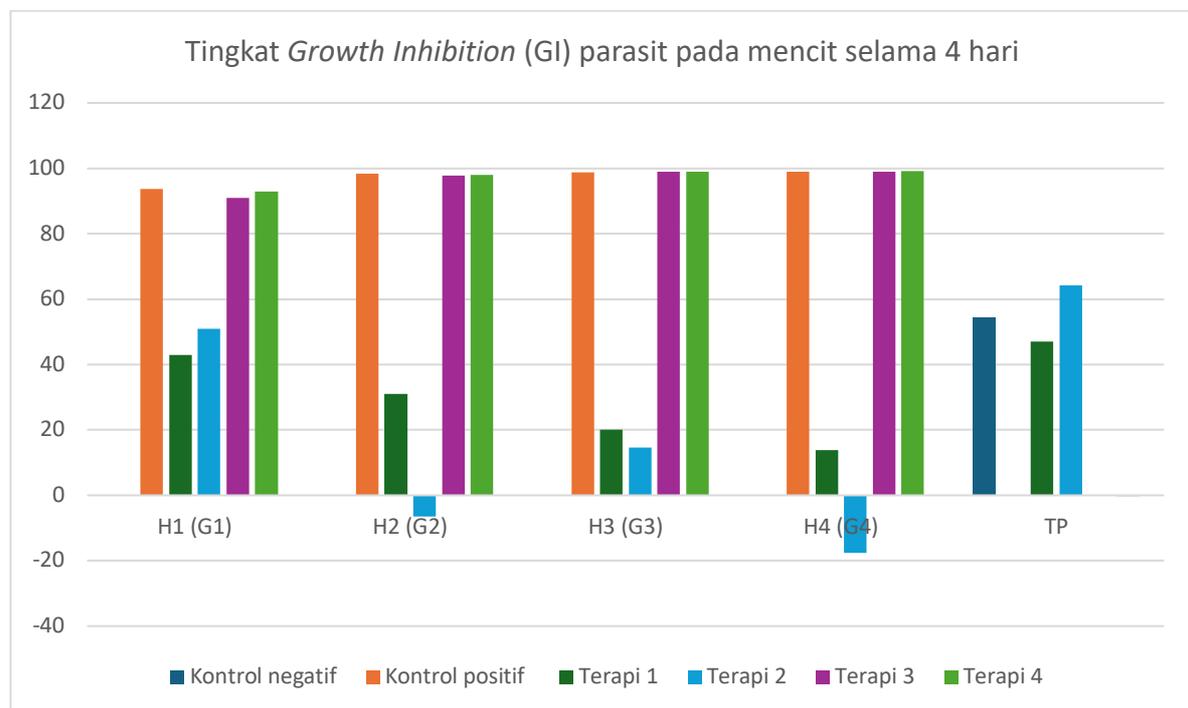
TP: tingkat parasitemia

GI: *growth inhibition* (persentase selisih antara TP kelompok dan TP kontrol negatif)



**Gambar 1. Tingkat Parasitemia (TP) parasit pada mencit mencit perhari (%) selama 4 hari**

Dari hasil tingkat parasitemia memperlihatkan adanya pertumbuhan parasit yang semakin meningkat dari H1 sampai H4, karena tidak diberi pengobatan (treatment), hanya diberi minum air saja tanpa obat antimalaria (54,5%) Sebaliknya pada kontrol positif (klorokuin) tidak terjadi kenaikan angka parasitemia dari H1 sampai H4, (0%) ini menunjukkan kontrol positif masih baik responnya sebagai antimalaria terhadap *P. berghei* (0%) . Dari hasil terapi yang menggunakan kombinasi dengan propolis, hasil yang baik adalah pada T3 (0,6%) dan T4 (0,5%) .



**Gambar 2. Tingkat *Growth Inhibition* (GI) parasit pada mencit perhari (%) selama 4 hari**

Hasil Analisis Statistik tingkat parasitemia mencit dengan menggunakan metode *4-day suppressive test* yaitu dengan mengetahui selisih densitas parasitemia mencit pada hari ke-4 dan hari ke-0 (WHO, 2015; Derebe *et al*, 2021). Hasil data diolah dengan SPSS untuk melakukan uji normalitas dan uji hipotesis. Uji normalitas yang digunakan adalah uji Saphiro-Wilk karena jumlah data yang sedikit. Uji normalitas menunjukkan data tidak terdistribusi normal sehingga uji hipotesis menggunakan uji Kruskal-Wallis (Tabel. 2).

**Tabel 2. Hasil analisis Kruskal-Wallis**

<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>n</b>	<b>Indeks Brinkman</b>	<b>Nilai p</b>
Kontrol negatif	5	28,2 (49-69)	<0,001*
Kontrol positif	5	10,2 (-0,2-0,4)	
Terapi 1	5	23,6 (38,2-51,6)	
Terapi 2	5	32,3 (55,1-91,2)	
Terapi 3	5	11,2 (-0,5-0,3)	
Terapi 4	5	8,6 (-0,3-0)	

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis di atas, didapat nilai p kurang 0,05 ( $P < 0.05$ ) yang memperlihatkan perlakuan memberikan pengaruh yang signifikan pada densitas parasitemia mencit. Untuk mengetahui perbandingan antar kelompok mana yang signifikan maka selanjutnya akan dilakukan uji *post hoc* Mann-Whitney. Hasil analisis *post hoc* Mann-Whitney terdapat pada Tabel 3.

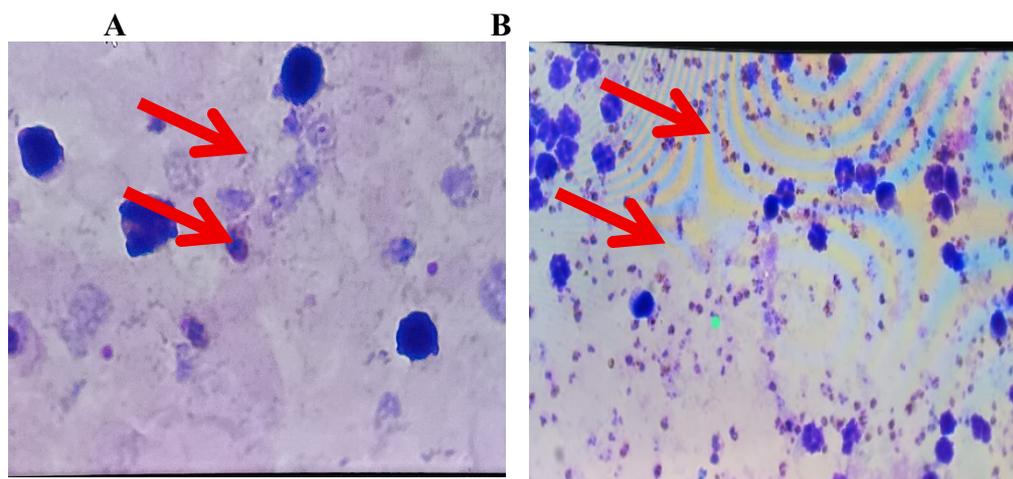
**Tabel 3 Hasil analisis *post hoc* Mann-Whitney**

<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>Nilai p</b>	<b>Keterangan</b>
<b>Kontrol negatif</b>	Kontrol positif	<b>0,009*</b> Signifikan
	Terapi 1	<b>0,047</b> Signifikan
	Terapi 2	0,076 Tidak Signifikan
	Terapi 3	<b>0,008*</b> Signifikan
	Terapi 4	<b>0,008*</b> Signifikan
<b>Kontrol positif</b>	Terapi 1	<b>0,009*</b> Signifikan
	Terapi 2	<b>0,009*</b> Signifikan
	Terapi 3	0,916 Tidak Signifikan
	Terapi 4	0,748 Tidak Signifikan
<b>Terapi 1</b>	Terapi 2	<b>0,009*</b> Signifikan
	Terapi 3	<b>0,008*</b> Signifikan
	Terapi 4	<b>0,008*</b> Signifikan
<b>Terapi 2</b>	Terapi 3	<b>0,008*</b> Signifikan
	Terapi 4	<b>0,008*</b> Signifikan
<b>Terapi 3</b>	Terapi 4	0,480 Tidak Signifikan

Hasil *post hoc* Mann-Whitney yang diperoleh pada Tabel 3 menunjukkan perbandingan yang signifikan ditunjukkan dengan nilai  $p < 0,15$ . Sebagian besar dari perbandingan antarkelompok signifikan. Perbandingan antarkelompok yang tidak signifikan adalah kontrol negatif dengan kelompok terapi 2, kontrol positif dengan kelompok terapi 3, kontrol positif dengan kelompok terapi 4, dan kelompok terapi 3 dengan kelompok terapi 4. Berdasarkan hasil penelitian sampai hari ke-4, terapi tunggal propolis baik pada dosis 30 mg/kgBB maupun 60 mg/kgBB menunjukkan nilai *growth inhibition* yang lebih rendah dibandingkan terapi klorokuin. Hasil ini menunjukkan klorokuin mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan parasit lebih baik secara signifikan daripada propolis. Hal ini dikarenakan klorokuin dapat membunuh parasit sedangkan senyawa yang terkandung dalam propolis seperti *luteolin 7-O glucoside* dan *chalcone* hanya menekan pertumbuhan parasit.

*Luteolin 7-O glucoside* mempunyai efek menghambat pertumbuhan, perkembangan, dan homeostasis parasit dan *chalcone* hanya dapat mengurangi manifestasi klinis malaria (Azizah et al, 2010). Kemungkinan yang lain adalah variasi kadar dan kandungan senyawa yang terkandung dalam propolis. Senyawa yang terkandung dalam propolis berbeda-beda, dipengaruhi oleh spesies lebah, letak geografis, dan jenis tanaman yang digunakan (Huang.S. et al, 2014). Usaha peningkatan dosis propolis dari dosis 30 mg/kgBB menjadi 60 mg/kgBB dalam terapi tunggal propolis menghasilkan menurunnya nilai *growth inhibition* parasit yang bermakna. Jika dilakukan perbandingan dengan kelompok yang tidak diberikan terapi, terapi propolis dosis 30 mg/kgBB masih menghasilkan efek yang lebih baik dibandingkan propolis dosis 60 mg/kgBB yang menghasilkan peningkatan pertumbuhan parasit. Walaupun demikian, peningkatan pertumbuhan yang terjadi pada terapi tunggal propolis dosis 60 mg/kgBB hasilnya tidak bermakna. Hasil ini menggambarkan terapi propolis dengan dosis kecil mempunyai efek antimalaria, namun peningkatan dosis dapat menurunkan efek antimalaria. Penyebab dari fenomena ini diduga disebabkan oleh adanya senyawa *caffeic acid phenethyl ester* (CAPE) pada propolis yang mempunyai efek antiinflamasi (Draganova-Filipova et al, 2010). Penelitian pada senyawa CAPE menunjukkan propolis pada dosis yang kecil mempunyai efek immunomodulator yaitu efek protektif pada proliferasi dan aktifitas sel B. Sebaliknya, propolis pada dosis yang besar dapat menginduksi apoptosis pada berbagai jenis sel darah tepi (Draganova-Filipova et al, 2010). Walaupun demikian hasil pada penelitian ini tidak dapat dikonfirmasi karena komposisi kimiawi dari propolis komersial yang digunakan tidak dapat diketahui.

Penggunaan propolis yang dikombinasi dengan klorokuin mempunyai efek pada tingkat parasitemia yang jauh lebih baik dan bermakna dibandingkan terapi tunggal propolis. Fenomena ini kemungkinan propolis mempunyai efek yang sinergis pada klorokuin. Senyawa pada propolis dapat menghambat peningkatan tingkat parasitemia dengan mengganggu proses biosintesis parasit, sedangkan klorokuin dapat membunuh parasit dalam tubuh mencit (Azizah *et al*, 2010). Terapi kombinasi propolis dan klorokuin menghasilkan peningkatan nilai *growth inhibition* jika dilakukan peningkatan dosis propolis. Efek peningkatan jumlah propolis pada klorokuin dalam meningkatkan efek antimalarinya juga terlihat dengan nilai *growth inhibition* yang lebih besar dibandingkan terapi klorokuin saja. Namun perbandingan antara ketiga terapi tersebut tidak bermakna setelah dilakukan uji analisis SPSS. Walaupun begitu, tidak menutup kemungkinan adanya perbandingan yang bermakna jika dilakukan pada dosis propolis yang lebih besar.



**Keterangan:** A. stadium trofozoit, dan gametosit *Plasmodium berghei* sediaan darah tipis.  
B. Stadium trofozoit, skizon *Plasmodium berghei* pada sediaan darah tebal  
Pewarnaan Giemsa

**Gambar 3. Hasil pewarnaan Giemsa 3% dari sediaan darah *Plasmodium***

## SIMPULAN

Terapi kombinasi propolis dosis 30 mg/kgBB maupun dosis 60mg/kgBB dengan klorokuin mempunyai potensi antimalaria yang lebih baik, sehingga propolis dapat bersifat sinergis dengan klorokuin sebagai anti malaria.

## REFERENSI

- Azizah N, Wungu CDK, Viradella J.(2010). Potensi propolis pada sarang lebah madu dalam menghambat infeksi *P. falciparum* sebagai terapi penunjang malaria tropikana.IMKI. Vol.I(01):48-51.
- Asmawati N, Nulaeman, Kurniawan E, Mulia,Y.S. (2023).Pengaruh lama simpan larutan giemsa 3% terhadap kualitas preparat malaria. J. Kes.Siliwangi. (4) : 1 Des. <https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1457>
- Budijanto, D. (2013). Populasi, Sampling dan Besar Sampel, Jakarta : Pusat Data dan Informasi KementerianKesehatanRI.[http://WWWada:http://www.risbinkes.litbang.depkes.go.id/015/wp-content/uploads/2013/02/Sampling dan – besar sampel](http://WWWada:http://www.risbinkes.litbang.depkes.go.id/015/wp-content/uploads/2013/02/Sampling%20dan%20besar%20sampel)
- Derebe, D., Wubetu, M., & Alamirew, A. (2021). Evaluation of Antimalarial Activity of 80% Methanolic Root Extract of *Dorstenia barnimiana* Against *Plasmodium berghei*-Infected Mice. *Clinical Pharmacology : Advances and Applications*, 13, 157. <https://doi.org/10.2147/CPAA.S313847>
- Huang S, Zhang CP, Wang K, Li GQ, Hu FL.(2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*. Vol.19:19610-19632
- Ippolito,M.M, Moser K.A, Kabuya J.B.B, Cunningham C, Juliano JJ. (2021). Antimalarial Drug Resistance and Implication for the WHO Global Technical Strategy. *Current Epidemiology Repor*. 8: 46- 62. <https://doi.org/10.1007/s40471-021-00266-5>
- Kemendes RI. (2022). Laporan Tahunan Malaria.Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Kementerian Kesehatan RI. 2023. Laporan Tahunan 2022
- Kemendes RI. (2023). Situasi Malaria terkini di Indonesia:8 -21
- Kemendes RI.(2023). Buku Saku Tata Laksana Kasus Malaria.Standar Tata laksana Malaria. Maret 2023: 7-48
- Khairani D, Ilyas S, Yurnadi. (2024). Prinsip dan Praktik Hewan Percobaan Mencit (*Mus musculus*). USU Press. ISBN 978-602-465-555-6.
- Laksemi D.A.A, Damayanti P.A.A, Sudarmaja I.M, Tonas I.K, Sundari L.P.R, Rustini N.L *et al.* (2024). In vivo antimalarial activity of *Holothuria Scabra simplicia* in *Plasmodium berghei*-Infected mice. *Universa MedicinaPissn*:1907-3062/eISSN: e407-2230.Vol (43): 195-201
- Parasutaman S, Raveendran R, Kesavan R. (2010). Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*. Vol.1: 87-93
- Syamsudin, Dewi RM, Kusmardi. (2009). Immunomodulatory and *in vivo* antiplasmodial activities of propolis extracts. *Am J Pharm & Toxicol*.Vol.4(3):75-79. ISSN 1557-4962 © 2008 Science Publications
- WHO. (2001). Peter B. Bloland. Drug Resistance in Malaria. *Epidemiology Branch Centers for Disease Control and Prevention Chamblee, GA, United States of America*: 1-24
- WHO. (2014). Guidelines for Treatment of Malaria. Guidelines on malaria chemotherapy and management of patients with malaria. General Circular No: 02-112/2014. Department of Health Services “Suwasiripaya” No: 385, Rev. Baddegama Wimalawansa Thero Mawatha Colombo 10: 1-10
- WHO. (2023). World Malaria Report.ISBN 978-92-4-008617-3 (electronic version) ISBN 978-92-4-008618-0 (print version): 1-67
- WHO. (2024). Guidelines for Malaria.30 November 2024.WHO Global Malaria Programme Appia Avenue 20, 1202 Geneva, Switzerland [gmpfeedback@who.int](mailto:gmpfeedback@who.int) <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme>
- WHO.(2024). Global Malaria Program Operational Strategy 2024-2030.: 1-49. ISBN 978-92-4-009014-9 (electronic version) ISBN 978-92-4-009015-6 (print version).