



**Pengaruh Pemberian Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus*) Sebelum dan Selama Infeksi
Plasmodium berghei ANKA terhadap Sel Leukosit Mononuklear Mencit *Swiss***

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

**Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan dalam menyelesaikan Program Pendidikan Sarjana
Fakultas Kedokteran**

disusun oleh :

Herwinda Geraldine

G2A 002 078

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2006

**The Effect of Red Fruit oil (*Pandanus conoideus*) Before and During
Plasmodium berghei ANKA Infection
With Leukocyte Mononuclear Cells in *Swiss* Mice**

Herwinda Geraldine ¹, Edi Dharmana ²

ABSTRACT

Background: *Lymphocyte is a mononuclear cell which has important roles in malaria parasite elimination but recent studies have shown that the apoptosis level of mononuclear cells in peripheral blood increased during acute malaria. Consumption of 30-60 milligrams beta-carotene each day in two months will increase lymphocyte's activities. Red fruit oil contains high levels of beta-carotene. This study compared the effect of red fruit oil with the percentage of mononuclear cells between treated and control group before and during infection.*

Methods: It was a Pre and Post Test Control Group Design experimental study. The samples were 14 mice with specific criteria and divided into two groups: control group and treated group (treated by 0,05 cc/day *P. conoideus* oil). Both groups were infected with 0,1 cc mice blood which contained 1×10^4 *P. berghei* ANKA. The percentage was counted each day by thin blood smear examination using 400x microscope.

Results: On day 10 and 13, treated group's percentage was significantly higher than control (day 10 $p=0,003$; day 13 $p=0,002$). The treated group's percentage was lower than control on day 15 and 18. It was significant on day 15 ($p=0,006$) but not on day 18 ($p=0,345$).

Conclusion: *P. conoideus* oil significantly increases the mononuclear cells' percentage in treated group before infection but not during infection.

Keyword: *Pandanus conoideus*, mononuclear cell, *Plasmodium berghei* ANKA

¹ Undergraduate Student. Medical Faculty Diponegoro University.

² Lecture. Department of Parasitology. Medical Faculty of Diponegoro University.

**Pengaruh Pemberian Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus*)
Sebelum dan Selama Infeksi *Plasmodium berghei* ANKA
Terhadap Sel Leukosit Mononuklear Mencit Swiss**

Herwinda Geraldine ¹, Edi Dharmana ²

ABSTRAK

Latar Belakang: Limfosit adalah sel mononuklear yang memiliki peran penting dalam eliminasi parasit namun beberapa penelitian menunjukkan adanya peningkatan apoptosis sel-sel mononuklear di peredaran darah tepi selama infeksi malaria akut. Konsumsi 30-60 miligram betakaroten tiap hari selama dua bulan akan meningkatkan aktivitas limfosit. Buah merah mengandung betakaroten dalam jumlah tinggi. Penelitian ini bertujuan membandingkan pengaruh pemberian minyak buah merah terhadap presentase sel mononuklear antara kelompok perlakuan dan kontrol sebelum dan selama infeksi

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *Pre and Post Test Control Group Design*. Sampel berjumlah 14 ekor mencit dengan kriteria spesifik dan dibagi menjadi 2 kelompok: kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (diberi minyak *P. conoideus* 0,05 cc/hari). Keduanya diinfeksi dengan 1×10^4 *P. berghei* ANKA yang terkandung dalam 0,1 ml darah mencit. Setiap hari, presentase sel mononuklear dihitung dengan pembacaan preparat apus darah tepi menggunakan mikroskop perbesaran 400x.

Hasil: Pada hari ke-10 dan ke-13, presentase kelompok perlakuan lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol (hari ke-10 $p=0,003$; hari ke-13 $p=0,002$). Presentase kelompok perlakuan lebih rendah pada hari ke-15 dan ke-18 dibandingkan kelompok kontrol. Perbedaan pada hari ke-15 dinyatakan bermakna ($p=0,006$) namun tidak bermakna pada hari ke-18 ($p=0,345$).

Kesimpulan: *P. conoideus* meningkatkan presentase sel mononuklear kelompok perlakuan secara bermakna sebelum infeksi namun hal ini tidak terjadi selama infeksi.

Kata kunci: *Pandanus conoideus*, sel mononuklear, *Plasmodium berghei* ANKA

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

² Dosen Parasitologi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Artikel Karya Tulis Ilmiah

Pengaruh Pemberian Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus*) Sebelum dan Selama Infeksi *Plasmodium berghei* ANKA terhadap Sel Leukosit Mononuklear Mencit Swiss

Telah dipertahankan di depan tim penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 28 Juli 2006 dan telah diperbaiki sesuai saran yang diberikan

Semarang, 08 Agustus 2006

Pembimbing,

dr. Edi Dharmana, M.Sc, Ph.D, Sp.ParK
NIP. 130 529 451

Ketua Penguji,

Penguji,

dr. Kusmiyati DK, M.Kes

NIP. 131 252 961

DR. dr. Tri Nur Kristina DMM, M.Kes

NIP. 131 610 344

PENDAHULUAN

Malaria adalah salah satu penyakit tua yang masih dinyatakan sebagai *emerging disease*, terutama di daerah tropis. Tiap tahun diperkirakan ratusan juta orang terserang penyakit malaria dan 1 sampai 2,5 juta di antaranya meninggal.¹ Di Indonesia, daerah endemis malaria antara lain meliputi Jepara (Jawa Tengah), Sulawesi Utara, Maluku, dan Papua.²

Infeksi malaria oleh protozoa darah genus *Plasmodium* ini menginduksi respon imun tubuh yang antara lain melibatkan monosit/makrofag, sel endotel, sel *Natural Killer*, sitokin, komplemen, dan limfosit.^{3,4,5} Antigen parasit malaria yaitu lipopolisakarida (LPS) akan menstimulasi makrofag. Makrofag kemudian akan mensekresi sitokin-sitokin dan memfagositosis eritrosit berparasit. Secara khusus, eliminasi parasit malaria stadium darah diperankan oleh limfosit.

Imunitas seluler melalui aktivitas limfosit subset T_{H-1} lebih dominan pada stadium darah sedangkan limfosit T_{H-2} yang berkaitan dengan imunitas humoral lebih efektif pada infeksi stadium lainnya.⁴ Subset T_{H-1} melalui sekresi IFN (interferon) dan TNF (*Tumor Necrosis Factor*) akan mengaktifkan monosit/makrofag dan neutrofil. Fagosit-fagosit ini

akan menghasilkan radikal bebas yang akan menghambat pertumbuhan dan mempercepat degenerasi parasit melalui *stress* oksidan. Disimpulkan subset T_{H-1} akan mengaktifkan mekanisme imunitas seluler baik spesifik maupun nonspesifik untuk membunuh *Plasmodium sp* intraeritrosit.

Limfosit, yang mencapai kira-kira 90 % dari populasi sel mononuklear, dibuktikan mengalami penurunan jumlah pada infeksi malaria akut.^{6,7,8} Penurunan jumlah ini adalah akibat adanya apoptosis spontan.^{6,7} Apoptosis sel mononuklear dipicu oleh agen infeksi yaitu parasit malaria dalam rangka memperlemah respon imun. Namun patofisiologi dari penurunan jumlah ini masih belum jelas.⁷

Berbagai upaya telah ditempuh untuk menemukan pemecahan masalah yang ditimbulkan oleh malaria, salah satunya adalah dengan menggunakan tumbuhan alami untuk meningkatkan kinerja sistem imun. Buah merah (*Pandanus conoideus*) yang berasal dari Papua mengandung banyak senyawa aktif kaya manfaat seperti betakaroten.^{9,10} Suatu studi membuktikan bahwa dengan mengonsumsi betakaroten 30-60 mg per hari dalam dua bulan akan meningkatkan jumlah sel-sel pembunuh alami dalam tubuh dan merangsang aktivitas sel-sel limfosit.^{11,12} Penelitian lain juga menunjukkan adanya penurunan derajat parasitemia yang bermakna pada kelompok mencit *Swiss* yang diinfeksi malaria dan diberi minyak *P. conoideus*. Penduduk Papua yang mengonsumsi buah merah ini secara rutin memiliki ketahanan tubuh tinggi terhadap penyakit termasuk malaria.^{9,12,13}

Penelitian ini bertujuan membandingkan pengaruh pemberian minyak *P. conoideus* sebelum dan selama infeksi terhadap presentase sel mononuklear antara kelompok perlakuan dan kontrol.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dan berlangsung selama dua bulan. Disiplin ilmu yang terkait adalah Parasitologi dan Imunologi.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *Pre and Post Test Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan hewan coba sebagai subjek dengan jumlah yang tidak dibatasi untuk uji pengaruh.¹⁴ Sampel penelitian berjumlah 14 ekor mencit *Swiss* betina berumur 8-12 minggu dengan berat badan 25-30 gram. Mencit strain *Swiss* terbukti sebagai strain terbaik untuk penelitian malaria.¹⁵ *P. berghei* ANKA digunakan karena memiliki kesamaan molekuler dengan parasit malaria pada manusia.¹⁶

Bahan dan alat yang digunakan adalah sebagai berikut: minyak *Pandanus conoideus*, *Plasmodium berghei* ANKA, kandang hewan coba, spuit disposabel, pipet Eppendorf, tabung reaksi, kapas, pinset, gunting, gelas objek, mikroskop, alkohol 70 %, dan sarung tangan.

Sampel diadaptasikan selama tujuh hari. Selama pemeliharaan mencit diberi pakan standar dan aquadest. Setelah

menjalani masa adaptasi, sampel dibagi menjadi dua kelompok secara acak (*Simple Randomization*), masing-masing 7 ekor mencit. Kelompok Kontrol (K): tujuh ekor mencit yang diinfeksi *P. berghei* ANKA pada hari ke-13. Kelompok Perlakuan (P): tujuh ekor mencit yang diberi minyak *P. conoideus* dari hari ke-8 sampai hari ke-18 dan diinfeksi *P. berghei* ANKA pada hari ke-13 setelah pembuatan preparat apus darah tepi.

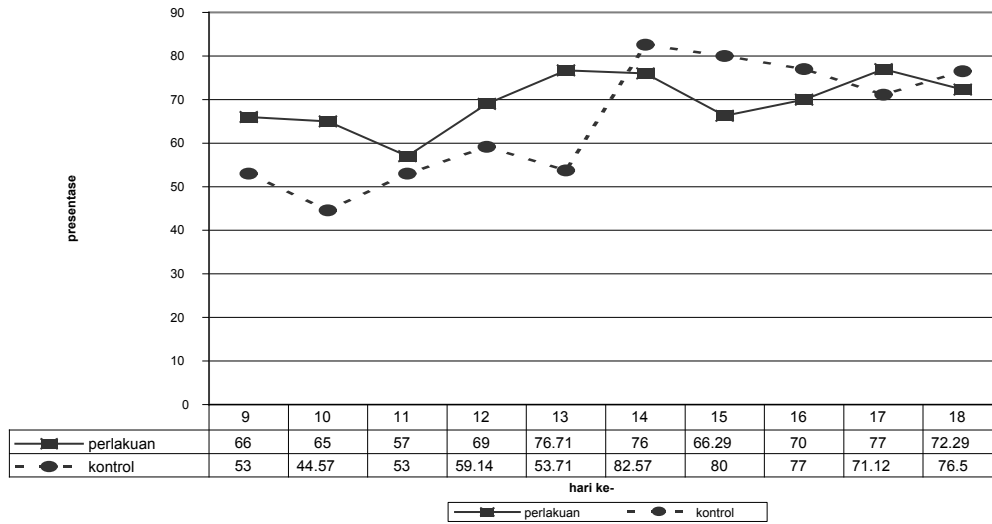
Minyak *P. conoideus* sebanyak 300 ml diolah secara tradisional dan didapatkan langsung dari Papua. Minyak ini disimpan dalam wadah gelap untuk menghindari paparan sinar matahari. Dosis minyak *P. conoideus* yang diberikan adalah sebesar 0,05 ml/hari. *P. berghei* ANKA didapatkan dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UNDIP Semarang. *P. berghei* ANKA disuntikkan secara intraperitoneal sebanyak 1×10^4 parasit dalam 0,1 ml darah.

Darah diambil dari ekor mencit pada hari ke-9 sampai hari ke-18 dan dibuat sediaan preparat apus darah tepi. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah sel mononuklear dalam seratus leukosit.

Data yang diperoleh berupa presentase sel mononuklear pada pembacaan preparat apus darah tepi ini merupakan data primer. Selanjutnya data diolah dengan program SPSS 13.0 *for windows*.

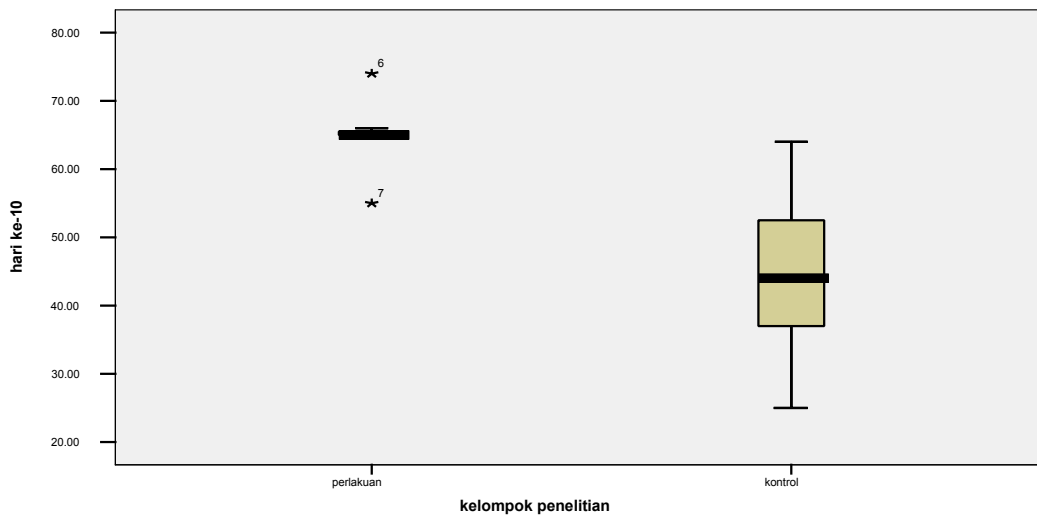
HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa presentase sel mononuklear pada kelompok P (perlakuan) sebelum infeksi lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K (kontrol). Sedangkan presentase sel mononuklear kelompok P setelah infeksi relatif berada di bawah kelompok K. Berdasarkan uji *Shapiro-Wilk* hasil penelitian pada hari ke-10, ke-13, ke-15, dan ke-18 menunjukkan sebaran data normal (lampiran 2), sehingga analisis data dilanjutkan dengan uji *T-test Independent* (lampiran 3). Perbedaan dinyatakan bermakna jika $p < 0,05$.



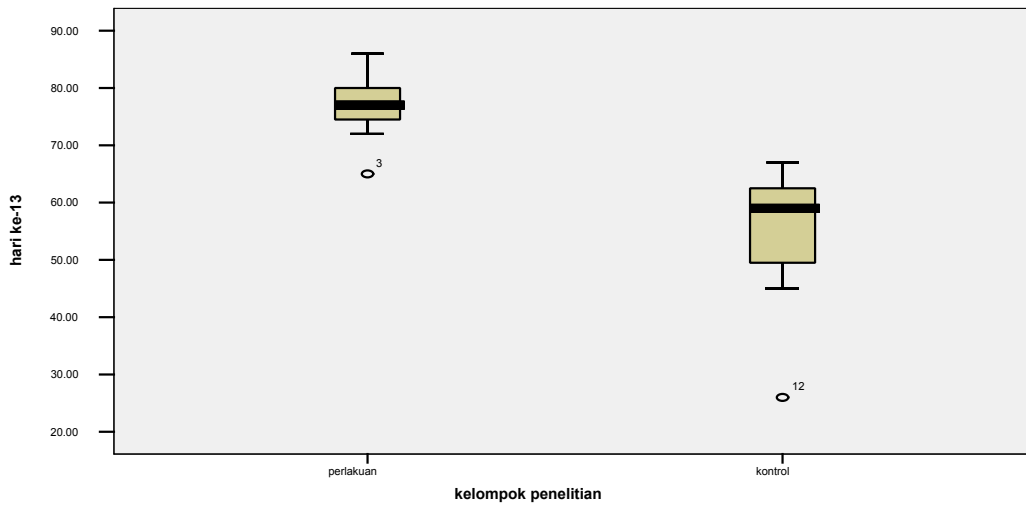
Presentase Sel Leukosit Mononuklear

Gambar 1. Grafik Garis Presentase Sel Leukosit Mononuklear kelompok K dan kelompok P hari ke-9 sampai ke-18



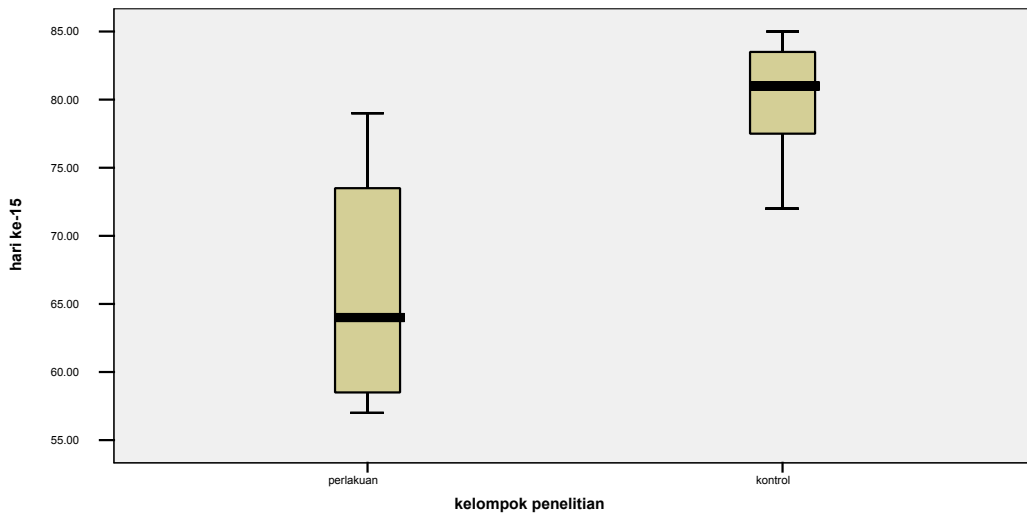
Pada hari ke-10, rata-rata presentase sel mononuklear kelompok P dan kelompok K berturut-turut adalah 65 % dan 44,57 %. Distribusi data normal. Perbedaan antar kelompok dikatakan bermakna karena $p = 0,003$.

Gambar 2. Grafik *Boxplot* Presentase Sel Mononuklear hari ke-10



Pada hari ke-13, rata-rata presentase sel mononuklear kelompok P dan kelompok K berturut-turut adalah 76,71 % dan 53,71 %. Distribusi data normal dan perbedaan antar kelompok dikatakan bermakna karena $p = 0,002$.

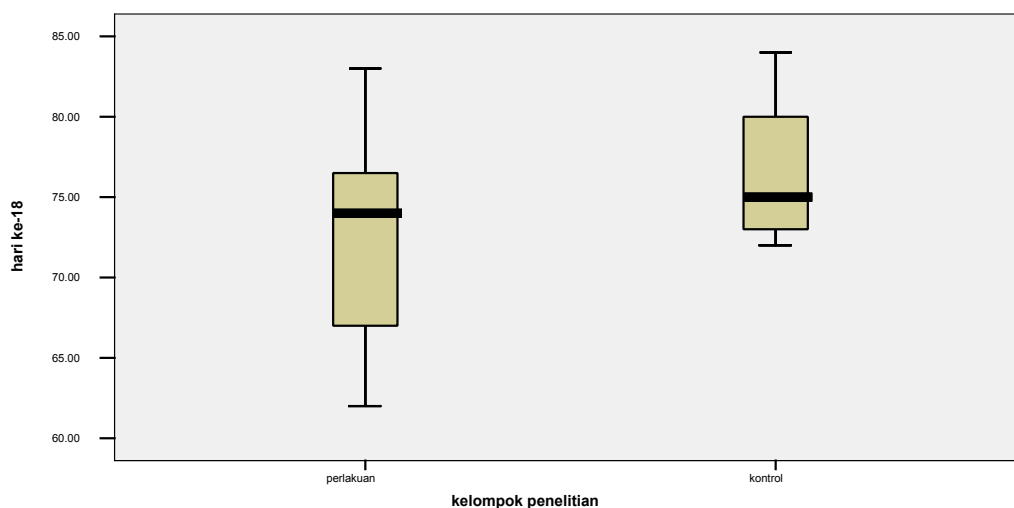
Gambar 3. Grafik *Boxplot* Presentase Sel Mononuklear hari ke-13



Pada hari ke-15, rata-rata presentase sel mononuklear kelompok P dan kelompok K berturut-turut adalah 66,29 % dan 80 %. Distribusi data normal dan perbedaan antar kelompok dikatakan bermakna karena $p = 0,006$.

Gambar 4. Grafik *Boxplot* Presentase Sel Mononuklear hari ke-15

Pada hari ke-18, rata-rata presentase sel mononuklear kelompok P dan kelompok K berturut-turut adalah 72,29 % dan 76,5 % . Distribusi data normal dan perbedaan antar kelompok dikatakan tidak bermakna karena $p = 0,345$.



Gambar 5. Grafik *Boxplot* Presentase Sel Mononuklear hari ke-18

PEMBAHASAN

Plasmodium berghei ANKA yang menginfeksi mencit *Swiss* akan menginduksi respon imun tubuh melalui antigen lipopolisakarida (LPS). Respon ini antara lain melibatkan monosit/makrofag, neutrofil, sel endotel, sel *Natural Killer*,

sitokin, komplemen, dan limfosit.^{4,5} Secara khusus peran limfosit dalam eliminasi parasit malaria stadium darah diperankan oleh subset T_{H-1} . Melalui berbagai cara, T_{H-1} akan mengaktifkan mekanisme imunitas seluler baik spesifik maupun nonspesifik untuk membunuh parasit malaria intraeritrosit. Namun ada beberapa hal yang diduga mempengaruhi sistem imun dalam penelitian ini antara lain pakan standar, umur, jenis kelamin, dan berat badan mencit. Keempat hal ini dikendalikan dengan menyamakannya pada kelompok K maupun kelompok P.

Sebelum infeksi *P. berghei* ANKA, yaitu dari hari ke-9 sampai ke-13, presentase sel mononuklear kelompok P lebih tinggi dari kelompok K. Pemberian minyak *P. conoideus* sebelum infeksi ini terbukti dapat meningkatkan imunitas berupa presentase sel mononuklear yang lebih tinggi pada kelompok P. Hasil penelitian ini diperkuat oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa konsumsi betakaroten, salah satu senyawa aktif dalam *P. conoideus*, sebanyak 30-60 miligram per hari dalam dua bulan dapat meningkatkan jumlah sel-sel pembunuh alami dalam tubuh dan merangsang aktivitas sel-sel limfosit berupa proliferasi dan diferensiasi. Pemberian minyak *P. conoideus* sebelum infeksi ini diharapkan dapat menyediakan jumlah sel limfosit yang cukup dalam menghadapi malaria akut terlebih dengan adanya apoptosis sel-sel limfosit pada periode akut.

Setelah infeksi *P. berghei* ANKA, yaitu hari ke-14 sampai ke-16 yang termasuk periode infeksi akut, didapatkan presentase sel mononuklear kelompok P yang tidak lebih tinggi dari kelompok K. Bahkan perbedaan pada hari ke-15 dinyatakan bermakna. Pada hari ke-17 presentase kelompok P lebih tinggi namun perbedaannya tidak bermakna. Pada hari ke-18 kembali presentase kelompok P tidak lebih tinggi dari kelompok K.

Pada kelompok K terjadi peningkatan presentase sel mononuklear yang cukup mencolok setelah infeksi. Peningkatan ini dapat menggambarkan keterlibatan sel limfosit, yang mencapai kira-kira 90 % dari populasi sel mononuklear, pada infeksi malaria akut. Banyak sumber menyebutkan bahwa imunitas spesifik terhadap malaria selalu terbentuk lambat namun penelitian ini menunjukkan bahwa tidak selalu demikian. Penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa terjadi penurunan jumlah sel limfosit pada infeksi malaria akut juga terbukti pada penelitian ini, melalui perhitungan presentase sel mononuklear pada kelompok K. Penurunan presentase sel mononuklear terjadi dari hari ke-15 sampai ke-17. Sedangkan hari ke-18 terjadi peningkatan. Penurunan ini merupakan mekanisme homeostasis tubuh sebagai respon dari peningkatan sel limfosit pada malaria akut.

Dari penelitian ini dapat dilihat adanya pengaruh pemberian minyak *P. conoideus* 0,05 ml/hari sebelum infeksi berupa presentase sel mononuklear yang lebih tinggi dari kontrol. Hal ini menunjukkan peran *P. conoideus* dalam peningkatan sistem imun tubuh. Setelah infeksi, presentase kelompok perlakuan tidak lebih tinggi dari kontrol meskipun apoptosis sel mononuklear selama periode malaria akut terbukti terjadi. Namun bukan berarti pemberian minyak *P. conoideus* tidak bermanfaat dalam perjalanan infeksi malaria. Pemikiran ini didasarkan pada beberapa alasan. Pertama, presentase apoptosis sel limfosit tampak lebih nyata pada mereka yang hidup di daerah holoendemis malaria

dibandingkan yang hidup di daerah non-endemis.⁶ Diharapkan dengan peningkatan apoptosis yang lebih tinggi ini, pemberian minyak *P. conoideus* dapat meningkatkan aktivitas sel limfosit sebagai salah satu imunitas tubuh terhadap malaria. Kedua, pada hari ke-16 terdapat satu ekor mencit kelompok kontrol yang mati dan pada hari ke-18 mencit yang hidup pada kelompok ini hanya empat ekor.

Sedangkan sampai hari ke-18 semua mencit kelompok P tetap bertahan hidup. Ketiga, terbukti terjadi penurunan derajat parasitemia yang bermakna sebagai akibat pemberian minyak *P. conoideus* 0,05 ml/hari sebelum dan sesudah infeksi pada mencit strain *Swiss* dengan kriteria spesifik yang sama dengan penelitian ini. Alasan kedua dan ketiga ini membawa kita pada kemungkinan adanya komponen lain dalam sistem imun terhadap malaria yang ditingkatkan oleh *P. conoideus* ini sehingga terjadi peningkatan ketahanan hidup mencit dan penurunan derajat parasitemia. Selain itu perbedaan bermakna pada hari ke-15 mengarah pada kemungkinan peran minyak *P. conoideus* yang menyeimbangkan kerja sistem imun mengingat sel leukosit polimorfonuklear pun diperlukan dalam eliminasi parasit malaria.

Berdasarkan hasil penelitian ini diperlukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian minyak *P. conoideus* dengan dosis bertingkat untuk mengetahui dosis letal dan dosis efektif. Disarankan untuk memperpanjang waktu pemberian minyak *P. conoideus* sebelum dan setelah infeksi. Selain itu perlu penelitian lebih lanjut tentang komponen sistem imun terhadap malaria yang ditingkatkan oleh minyak *P. conoideus*.

KESIMPULAN

Pemberian minyak *P. conoideus* meningkatkan presentase sel mononuklear kelompok perlakuan secara bermakna sebelum infeksi namun hal ini tidak terjadi selama infeksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat, kasih setia, dan penyertaan-Nya dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini sebagai persyaratan dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro juga kepada kedua orang tua atas dukungan doa, semangat, cinta, dan dana. Terima kasih kepada dr. Edi Dharmana, M.Sc, Ph.D, Sp.ParK sebagai pembimbing yang senantiasa mengarahkan penulis, dr. Helmia Farida, M.Kes, Sp.A, dr. Kis Djamiatun, M.Sc, dr. Sri Hendratno, Sp. ParK dan semua staf Laboratorium Parasitologi. Akhirnya kepada Kelompok Buah Merah dan Setiadi atas kerja sama dan dukungannya untuk penulis.

DAFTAR PUSTAKA

1. White N J. Malaria. In: Cook Gordon C, Zumla Alimuddin, editors. Manson's tropical disease: protozoan infections. Philadelphia: Saunders with ELST, 2003: 1205-35.
2. Tambajong E H. Patobiologi malaria. Dalam buku: Harijanto P N, editor. Malaria epidemiologi, patogenesis, manifestasi klinis, dan penanganan. Jakarta. EGC, 2000: 54-117.
3. David John R, Liu Leo X. Molecular biology and immunology of parasitic infection. In: Isselbacher Kurtz J, Braunwald Eugene, Wilson Jean D, Martin Joseph B, Fauci Anthony S, Kasper Denis L, editors. Harrison's principles of internal medicine. New York: McGraw Hill, 1994: 865-71.
4. Nugroho H, Harijanto P N, Datau E A. Imunologi pada malaria. Dalam buku: Harijanto PN, editor. Malaria epidemiologi, patogenesis, manifestasi klinis, dan penanganan. Jakarta. EGC, 2000: 128-50.
5. Sher Alan, Wyann Thomas A, Sacks David L. The immune response to parasites. In: Paul William E, editor. Fundamental immunology. Philadelphia: Lippincott Wiliam & Wilkins, 2003: 1171-85.
6. Toure-Balde A, Sarthou J L, Aribot G, Michel P, Trape J F, Rogier C, Roussilhon C. *Plasmodium falciparum* induces apoptosis in human mononuclear cells. *Infect Immun* 1996 March; 64(3): 744-50.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1732832>
7. Kern Peter, Dietrich Manfred, Hemmer Christoph Wellinghausen Nele. Increased levels of soluble fas ligand in serum in *Plasmodium falciparum* malaria. *American Society for Microbiology* 2000 May; 68(5): 3061-63. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=97531>
8. M Lisse I, P Aaby, H Whittle, K Knudsen. A community study of T lymphocyte subsets and malaria parasitaemia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994 Nov-Dec; 88(6): 709-10. <http://www.aegis.com/aidsline/1995/jun/mq560574.html>
9. Budi I Made, Hartanto Rudi, Setyanova Isna. Tanya jawab seputar buah merah. Ed 1. Jakarta: Agromedia Pustaka, 2005.
10. Redaksi Agromedia, editor. Pro dan kontra buah merah. Jakarta: Agromedia Pustaka, 2005.
11. Redaksi Trubus, editor. Panduan praktis buah merah : bukti empiris dan ilmiah. Jakarta: Penebar Swadaya, 2005.
12. Khomsan Ali. Kanker versus buah merah. Jakarta: Penebar Swadaya, 2005.
13. Yahya H Machmud, Wahyu Bernard T. Khasiat dan manfaat buah merah. Ed 1. Jakarta: Agromedia Pustaka, 2005.
14. World Health Organization. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine. Manila: Regional Office for The Western Pacific, 1993.
15. Bagot S, Boubou M Idrissa, Campino S, Behrschmidt, Gorgette O, Guenet J L, et al. Susceptibility to experimental cerebral malaria induced by *Plasmodim berghei* ANKA in inbred mouse strains recently derived from wild stock. *American Society for Microbiology* 2002 Apr; 70(4): 2049-56. <http://www.iai.asm.org/cgi/content/full/68/9/5364>.

16. Janse Chris, Waters Andy. The *Plasmodium berghei* research model for malaria. Leiden University Medical Center
2005 May. <http://www.lumc.nl/1040/research/malaria/model.html>