

ANALISIS MOLEKULER KEBERADAAN PATOGEN MALARIA PADA SAMPEL KLINIS DARI LABKESDA ACEH BARAT BERBASIS *REAL-TIME* PCR

Siti Aisyah^{1*}, Arif Sardi², Raudah Hayatillah³, Abidah Nur⁴, & Veny Wilya⁵

^{1,2,&3}Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry, Jalan Syekh Abdur Rauf, Banda Aceh, Aceh 23111, Indonesia

^{4&5}Laboratorium Kesehatan Masyarakat Banda Aceh, Jalan Biomedis Nomor 9, Aceh Besar, Aceh 23371, Indonesia

*Email: sitiaisyahelabdy@gmail.com

Submit: 31-03-2026; Revised: 09-04-2026; Accepted: 10-04-2026; Published: 28-04-2026

ABSTRAK: Malaria masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di wilayah pra-eliminasi, terutama akibat meningkatnya kasus dengan parasitemia rendah yang kerap tidak terdeteksi melalui pemeriksaan mikroskopis dan berpotensi mempertahankan transmisi tersembunyi. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keberadaan patogen malaria pada sampel klinis dari Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Aceh Barat dengan menggunakan metode *real-time Polymerase Chain Reaction* (qPCR) sebagai pendekatan konfirmasi molekuler. Studi ini menggunakan desain deskriptif kuantitatif berbasis *surveilans* diagnostik dengan sampel berupa *Dried Blood Spot* (DBS) dari pasien yang menunjukkan gejala malaria yang dianalisis di Laboratorium Kesehatan Masyarakat (Labkesmas) Banda Aceh. Hasil menunjukkan bahwa 4 dari 5 sampel terdeteksi positif *Plasmodium* dan seluruhnya teridentifikasi sebagai *Plasmodium knowlesi* dengan nilai Ct <40. Temuan ini mengindikasikan adanya infeksi malaria yang berpotensi tidak terdeteksi melalui mikroskop konvensional. Dengan demikian, qPCR memiliki potensi sebagai metode konfirmasi yang sensitif dalam mendukung deteksi kasus malaria pada kegiatan *surveilans*.

Kata Kunci: Malaria, Parasitemia rendah, *Plasmodium knowlesi*, *Real-Time* PCR.

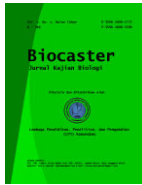
ABSTRACT: Malaria remains a public health problem in pre-elimination areas, primarily due to the increase in cases with low parasitemia, which often go undetected by microscopic examination and potentially maintain hidden transmission. This study aims to identify the presence of malaria pathogens in clinical samples from the West Aceh Regional Health Laboratory (Labkesda) using *real-time Polymerase Chain Reaction* (qPCR) as a molecular confirmation approach. This study employed a quantitative descriptive design based on diagnostic surveillance. Dried Blood Spot (DBS) samples from patients exhibiting malaria symptoms were analyzed at the Banda Aceh Public Health Laboratory (Labkesmas). The results showed that four of the five samples tested positive for *Plasmodium*, and all were identified as *Plasmodium knowlesi* with Ct values <40. This finding indicates the presence of malaria infections that could potentially go undetected by conventional microscopy. Thus, qPCR has the potential to be a sensitive confirmation method to support malaria case detection in surveillance activities.

Keywords: Malaria, Low Parasitemia, *Plasmodium knowlesi*, *Real-Time* PCR.

How to Cite: Aisyah, S., Sardi, A., Hayatillah, R., Nur, A., & Wilya, V. (2026). Analisis Molekuler Keberadaan Patogen Malaria pada Sampel Klinis dari Labkesda Aceh Barat Berbasis *Real-Time* PCR. *Biocaster : Jurnal Kajian Biologi*, 6(2), 855-862. <https://doi.org/10.36312/biocaster.v6i2.1200>



Biocaster : Jurnal Kajian Biologi is Licensed Under a CC BY-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

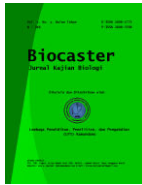


PENDAHULUAN

Malaria masih menjadi masalah kesehatan masyarakat global yang signifikan, terutama di wilayah tropis dan subtropis. Penyakit ini disebabkan oleh parasit *Plasmodium* yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina (Raslina *et al.*, 2016; WHO, 2023). Berdasarkan World Malaria Report 2025, pada tahun 2024 diperkirakan terdapat sekitar 282 juta kasus malaria di 80 negara endemis, meningkat dibandingkan tahun sebelumnya, dengan beban terbesar berada di Afrika Sub-Sahara dan Asia Tenggara. Di Indonesia, jumlah kasus malaria juga mengalami peningkatan dari 418.546 kasus pada tahun 2023 menjadi 543.965 kasus pada tahun 2024, dengan kontribusi terbesar berasal dari wilayah Papua (Kemenkes RI, 2024). Meskipun beberapa provinsi telah mencapai status eliminasi, wilayah lain seperti Aceh masih menunjukkan adanya transmisi aktif, sehingga menjadi tantangan dalam pencapaian target eliminasi malaria nasional tahun 2030 (WHO, 2025).

Pada tingkat lokal, Kabupaten Aceh Barat masih melaporkan kasus malaria setiap tahunnya, khususnya di wilayah pesisir dan daerah yang berbatasan dengan hutan (Dinas Kesehatan Aceh Barat, 2023). Malaria disebabkan oleh lima spesies utama *Plasmodium*, yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium knowlesi* yang memiliki karakteristik biologis dan tingkat virulensi berbeda (Haryanty *et al.*, 2025). Namun, metode diagnosis konvensional seperti mikroskop dan *Rapid Diagnostic Test* (RDT) masih memiliki keterbatasan dalam mendeteksi parasitemia rendah dan membedakan spesies yang morfologinya serupa, terutama antara *Plasmodium knowlesi* dan *Plasmodium malariae*. Akibatnya, infeksi submikroskopik berpotensi tidak terdeteksi dan tetap berkontribusi terhadap rantai penularan. Faktor lingkungan seperti curah hujan tinggi, keberadaan genangan air, serta aktivitas masyarakat di sekitar hutan mendukung keberlangsungan siklus hidup vektor. Identifikasi parasitemia rendah serta dalam membedakan spesies yang memiliki kemiripan morfologi, khususnya antara *Plasmodium knowlesi* dan *Plasmodium malariae* (Val *et al.*, 2017). Keterbatasan ini berpotensi menyebabkan terjadinya infeksi submikroskopik yang tidak terdiagnosis dan tetap berkontribusi terhadap rantai penularan.

Metode molekuler seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR), khususnya *real-time* PCR, memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan metode konvensional, serta mampu mendeteksi DNA parasit pada tingkat parasitemia rendah (Jamil *et al.*, 2021). Selain itu, pendekatan ini memungkinkan identifikasi spesies secara lebih akurat dan memberikan informasi terkait karakteristik genetik parasit yang beredar. Meskipun demikian, pemanfaatan metode molekuler untuk deteksi dan identifikasi *Plasmodium* pada sampel klinis di Kabupaten Aceh Barat masih terbatas. Akibatnya, data mengenai distribusi spesies *Plasmodium* dan potensi infeksi submikroskopik di wilayah tersebut belum terdokumentasi secara memadai. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi spesies *Plasmodium* pada sampel klinis di Kabupaten Aceh Barat menggunakan metode *real-time Polymerase Chain Reaction* (*real-time* PCR), guna meningkatkan akurasi diagnosis dan menyediakan bukti ilmiah yang mendukung strategi eliminasi malaria di tingkat lokal.



METODE

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif dengan desain *surveilans* diagnostik berbasis konfirmasi molekuler. Pemeriksaan dilakukan di Labkesmas Banda Aceh dengan sampel dari Labkesda Aceh Barat. Proses amplifikasi untuk kit deteksi menggunakan *real-time* PCR (qPCR) kit abTEST™ malaria. Analisis didasarkan pada kurva amplifikasi dan nilai Ct dan kondisi siklus standar, dimana proses amplifikasi dilakukan menggunakan mesin *real-time* PCR BIO-RAD CFX96. Sampel dinyatakan positif jika menunjukkan kurva eksponensial dengan Ct <40. Hasil disajikan dalam kurva dan tabel rekapitulasi.

Bahan dan Sampel Penelitian

Sampel penelitian berupa 5 sampel darah kering (*Dried Blood Spot/DBS*) yang diperoleh dari kegiatan *surveilans* malaria yang dilaksanakan oleh Dinas Kesehatan melalui Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Aceh Barat. Sampel berasal dari pasien yang menunjukkan gejala malaria. Darah pasien diteteskan pada kertas saring (*filter paper*) steril hingga membentuk bercak darah kering, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Sampel DBS selanjutnya disimpan dan dirujuk ke Laboratorium Kesehatan Masyarakat (Labkesmas) Banda Aceh dalam kondisi baik, kering sempurna, tidak terkontaminasi, serta memiliki ukuran bercak yang mencukupi, sehingga layak untuk dilakukan analisis molekuler berbasis *real-time* PCR.

Tahap Ekstraksi DNA dan *Mixing*

Ekstraksi DNA dilakukan dengan cara sampel darah kering pada kertas saring dipotong menjadi bagian-bagian kecil, kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikro berkapasitas 1,5 mL. Sebanyak 180 µL *buffer* ATL ditambahkan, lalu campuran dihomogenkan menggunakan *vortex* dan diinkubasi pada suhu 85°C selama 30 menit (Simon *et al.*, 2020). Setelah disentrifugasi selama 1 menit, sebanyak 20 µL Proteinase K ditambahkan, campuran di-*vortex* kembali, dan diinkubasi pada suhu 56°C selama 3-4 jam untuk melisiskan protein. Proses dilanjutkan dengan penambahan 200 µL *buffer* AL, penghomogenan ulang, serta inkubasi pada suhu 70°C selama 30 menit, kemudian etanol (96-100%) ditambahkan agar DNA dapat terpresipitasi.

Campuran tersebut dipindahkan ke kolom *QIAamp* dan disentrifugasi pada kecepatan 6.000 rpm selama 1 menit, lalu kolom dipindahkan ke tabung baru dan dicuci berturut-turut menggunakan 500 µL *buffer* AW1 pada 8.000 rpm selama 1 menit, serta *buffer* AW2 pada 14.000 rpm selama 3 menit. Setelah sentrifugasi tambahan selama 1 menit dilakukan untuk menghilangkan sisa cairan, kolom dipindahkan ke tabung mikro baru, dibiarkan pada suhu ruang selama 1 menit, dan disentrifugasi pada 8.000 rpm selama 1 menit untuk memperoleh hasil akhir. DNA hasil ekstraksi kemudian disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan untuk analisis lebih lanjut.

Campuran reaksi *real-time* PCR disiapkan dalam volume total 12,5 µL untuk setiap reaksi, terdiri atas 6 µL *Nuclease Free Water* (NFW), 1 µL *primer/probe mix*, dan 3 µL *enzyme mix* yang berisi komponen *buffer*, *taq polymerase*, dan dNTP. *Master mix* kemudian didistribusikan ke masing-masing tabung PCR, dilanjutkan dengan penambahan 2,5 µL komponen *template*, yaitu tanpa penambahan DNA target (*No Template Control/NTC*) sebagai kontrol

negatif, DNA hasil ekstraksi sampel untuk sampel uji, dan DNA kontrol positif. Seluruh tabung ditutup rapat, disentrifugasi singkat (*spin down*), dan kemudian diamplifikasi menggunakan mesin *real-time* PCR sesuai protokol yang ditetapkan.

Amplifikasi RT-PCR

Proses amplifikasi DNA dilakukan sesuai dengan prosedur yang terdapat pada kit abTES™ malaria 5 qPCR II untuk mendeteksi spesies *Plasmodium* secara spesifik. Tahap amplifikasi diawali dengan aktivasi enzim *taq* pada suhu 95°C selama 2 menit, kemudian dilanjutkan dengan 40 siklus amplifikasi yang terdiri atas denaturasi pada 95°C selama 5 detik dan tahap *annealing/extension* pada 60°C selama 20 detik (Inderiati *et al.*, 2022).

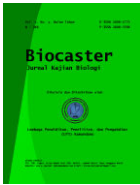
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan molekuler menggunakan metode *real-time Polymerase Chain Reaction (real-time PCR)*, analisis terhadap sampel darah kering yang berasal dari kegiatan *surveilans* malaria di Kabupaten Aceh Barat menunjukkan adanya variasi pola amplifikasi pada masing-masing target spesies *Plasmodium*. Evaluasi hasil amplifikasi dilakukan melalui interpretasi kurva fluoresensi dan nilai *Cycle threshold (Ct)* pada setiap kanal yang mewakili gen target spesifik. Hasil lengkap pemeriksaan patogen malaria disajikan dalam tabel hasil pemeriksaan laboratorium.

Tabel 1. Analisis Hasil Pemeriksaan Molekuler Patogen Malaria.

Sampel	FAM (<i>Plasmodium falciparum</i>)	HEX (<i>Plasmodium malariae</i>)	ROX (<i>Plasmodium vivax</i>)	Cy5 (<i>Plasmodium ovale</i>)	Quasar (<i>Plasmodium knowlesi</i>)	Hasil
KP	31.17	18.20	13.69	29.69	34.14	OK
KN	NA	NA	NA	6.74	NA	OK
446	6.93	9.51	NA	6.97	25.27	Positif <i>Plasmodium knowlesi</i>
447	9.45	42.59	NA	9.64	23.26	Positif <i>Plasmodium knowlesi</i>
448	7.07	4.37	7.59	6.70	25.10	Positif <i>Plasmodium knowlesi</i>
449	44.82	5.72	NA	6.18	21.50	Positif <i>Plasmodium knowlesi</i>
562	3.53	4.13	NA	2.74	NA	Negative

Sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 1, data hasil amplifikasi mencakup nilai Ct pada kanal FAM, ROX, HEX, Cy5, dan Quasar yang masing-masing merepresentasikan *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium knowlesi*. Secara teknis, kanal fluoresensi yang digunakan dalam sistem *multiplex* terdiri atas FAM (*Plasmodium falciparum*), HEX (*Plasmodium malariae*), ROX (*Plasmodium vivax*), Cy5 (*Plasmodium ovale*), dan Quasar (*Plasmodium knowlesi*). Tabel tersebut juga menampilkan hasil Kontrol Positif (KP) dan Kontrol Negatif (KN) sebagai parameter validitas pemeriksaan. Kontrol positif harus menunjukkan amplifikasi pada kanal target, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan amplifikasi, sebagai indikator tidak adanya kontaminasi. Keberadaan kurva amplifikasi eksponensial dengan nilai Ct di bawah ambang batas interpretasi menjadi dasar



penentuan status positif atau negatif suatu sampel. Nilai Ct yang sangat rendah (<10) pada beberapa kanal kemungkinan mencerminkan sinyal non-spesifik atau *baseline fluorescence* yang tidak optimal, sehingga tidak digunakan dalam interpretasi. Dengan merujuk pada Tabel 1, interpretasi hasil dilakukan secara sistematis untuk menentukan spesies yang terdeteksi pada masing-masing sampel penelitian, serta menilai konsistensi dan keandalan hasil pemeriksaan molekuler yang diperoleh.

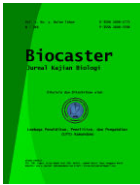
Nilai Ct (*Cycle threshold*) merupakan jumlah siklus saat sinyal fluoresensi melampaui ambang batas dan terdeteksi pada fase eksponensial amplifikasi. Pada pemeriksaan ini digunakan batas siklus ke-40 sebagai *cut off* analitik, sehingga sampel dengan nilai Ct < 40 dan menunjukkan kurva amplifikasi eksponensial yang jelas dinyatakan positif, karena mengindikasikan adanya DNA target yang masih berada dalam batas sensitivitas metode, sedangkan sampel dengan nilai Ct > 40 atau yang tidak menunjukkan amplifikasi hingga siklus ke 40 dinyatakan negatif.

Berdasarkan hasil pemeriksaan *real-time* PCR, empat sampel (kode 446, 447, 448, dan 449) menunjukkan amplifikasi spesifik pada kanal Quasar (PK) diinterpretasikan sebagai positif *Plasmodium knowlesi*. Rentang nilai Ct menunjukkan adanya DNA parasit dalam jumlah yang terdeteksi dengan baik dan masih berada dalam batas sensitivitas optimal metode qPCR. Interpretasi hasil qPCR yang valid harus memperhatikan kurva amplifikasi eksponensial dan ambang Ct sesuai pedoman pelaporan internasional (Huggett *et al.*, 2020). Sementara itu, satu sampel (kode 562) tidak menunjukkan amplifikasi pada kanal target dan dinyatakan negatif. Kontrol positif dan kontrol negatif memberikan hasil sesuai harapan, sehingga proses amplifikasi dapat dinyatakan valid dan bebas kontaminasi.

Temuan dominasi *Plasmodium knowlesi* pada penelitian ini sejalan dengan perubahan epidemiologi malaria di Asia Tenggara dalam beberapa tahun terakhir. Laporan terbaru menunjukkan bahwa *Plasmodium knowlesi* semakin sering teridentifikasi sebagai penyebab utama malaria pada manusia di wilayah berhutan (Cooper *et al.*, 2020). Peningkatan kasus ini berkaitan dengan faktor lingkungan, termasuk deforestasi dan perubahan penggunaan lahan yang meningkatkan kontak antara manusia, vektor, dan primata sebagai *reservoir* alami (Fornace *et al.*, 2019). Kajian regional juga menegaskan bahwa malaria zoonotik menjadi tantangan baru dalam program eliminasi malaria di kawasan Asia Tenggara.

Secara diagnostik, identifikasi molekuler menjadi krusial karena *Plasmodium knowlesi* memiliki kemiripan morfologi dengan *Plasmodium malariae* pada pemeriksaan mikroskopis, sehingga berpotensi menimbulkan salah klasifikasi spesies. Studi klinis menunjukkan bahwa kesalahan identifikasi dapat berdampak pada pemantauan epidemiologi dan tata laksana kasus, terutama karena *Plasmodium knowlesi* memiliki siklus eritrositik 24 jam yang memungkinkan peningkatan parasitemia secara cepat. Penatalaksanaan klinis malaria zoonotik juga memerlukan kewaspadaan, karena risiko komplikasi berat tetap ada pada infeksi dengan parasitemia tinggi (Barber *et al.*, 2021)

Dalam interpretasi hasil *multiplex real-time* PCR, penentuan spesies didasarkan pada kanal fluoresensi spesifik, dimana sampel dinyatakan sebagai *Plasmodium knowlesi* apabila hanya kanal Quasar menunjukkan amplifikasi



eksponensial dengan nilai $Ct \leq 40$, sementara kanal lain tidak menunjukkan amplifikasi, sedangkan spesies lain diinterpretasikan sesuai kanal fluoresensi masing-masing. Penggunaan sampel darah kering (*dried blood spot*) dalam penelitian ini mendukung implementasi *surveilans* berbasis molekuler di daerah. Evaluasi metode qPCR pada DBS menunjukkan bahwa pendekatan ini tetap memiliki sensitivitas yang baik untuk mendeteksi DNA *Plasmodium* pada pengaturan lapangan (Holzschuh & Koepfli, 2022). Studi lain juga menegaskan bahwa stabilitas DNA pada DBS memungkinkan deteksi yang akurat meskipun terjadi keterbatasan dalam rantai penyimpanan (Li *et al.*, 2024). Dengan demikian, integrasi pemeriksaan molekuler di Labkesmas terhadap sampel *surveilans* dari Labkesda menjadi strategi yang relevan dalam mendukung penguatan sistem deteksi dini malaria di Aceh Barat.

SIMPULAN

Pemeriksaan molekuler menggunakan *real-time Polymerase Chain Reaction* (qPCR) mampu mendeteksi *Plasmodium knowlesi* melalui pola amplifikasi spesifik dengan nilai Ct dalam batas deteksi. Metode ini menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas tinggi dalam membedakan spesies *Plasmodium*, termasuk spesies zoonotik yang sulit diidentifikasi secara mikroskopis. Temuan ini mengindikasikan potensi malaria zoonotik di wilayah Aceh Barat, serta menegaskan pentingnya penggunaan qPCR dalam meningkatkan akurasi diagnosis dan mendukung pemetaan epidemiologi serta *surveilans* malaria.

SARAN

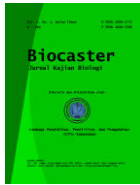
Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan memperluas jumlah serta cakupan wilayah sampel agar hasil yang diperoleh lebih representatif. Pengembangan analisis gen yang berkaitan dengan virulensi dan resistensi obat juga penting untuk memahami dinamika parasit secara lebih mendalam. Selain itu, integrasi temuan molekuler dengan data epidemiologi diharapkan dapat memperkuat perencanaan dan evaluasi strategi pengendalian malaria yang lebih efektif dan berkelanjutan.

UCAPAN TERIMA KASIH

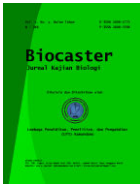
Penulis menyampaikan terima kasih kepada Laboratorium Kesehatan Masyarakat (Labkesmas) atas dukungan fasilitas laboratorium, bantuan teknis, serta kerja sama yang diberikan selama proses penelitian ini berlangsung. Dukungan tersebut meliputi penyediaan sarana dan prasarana pemeriksaan, pendampingan dalam proses analisis sampel, serta kontribusi tenaga profesional yang kompeten, sehingga seluruh tahapan penelitian dapat terlaksana secara sistematis, akurat, dan sesuai dengan standar yang berlaku.

DAFTAR RUJUKAN

Barber, B. E., Grigg, M. J., Cooper, D. J., van Schalkwyk, D. A., William, T., Rajahram, G. S., & Anstey, N. M. (2021). Chapter Two - Clinical Management of *Plasmodium knowlesi* Malaria. *Advances in Parasitology*, 113(1), 45–76. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2021.08.004>



- Cooper, D. J., Rajahram, G. S., William, T., Jelip, J., Mohammad, R., Benedict, J., Alaza, D. A., Malacova, E., Yeo, T. W., Grigg, M. J., Anstey, N. M., & Barber, B. E. (2020). *Plasmodium knowlesi* Malaria in Sabah, Malaysia, 2015-2017 : Ongoing Increase in Incidence Despite Near- elimination of the Human-only Plasmodium Species. *Clinical Infectious Diseases*, 70(3), 361-367. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz237>
- Dinas Kesehatan Kabupaten Aceh Barat. (2023). *Laporan Tahunan Kasus Malaria Kabupaten Aceh Barat tahun 2023*. Meulaboh: Dinas Kesehatan Aceh Barat.
- Fornace, K. M., Brock, P. M., Abidin, T. R., Grignard, L., Herman, L. S., Chua, T. H., Daim, S., William, T., Patterson, C. L. E. B., Hall, T., Grigg, M. J., Anstey, N. M., Tetteh, K. K. A., Cox, J., & Drakeley, C. J. (2019). Articles Environmental Risk Factors and Exposure to the Zoonotic Malaria Parasite *Plasmodium knowlesi* Across Northern Sabah, Malaysia : A Population-Based Cross-Sectional Survey. *The Lancet Planetary Health*, 3(4), 179-186. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(19\)30045-2](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(19)30045-2)
- Haryanty, N., Raharjo, M., & Hanani, Y. (2025). Vector of Malaria Receptivity Mapping at Melolo Health Center, Umalulu District, East Sumba Regency. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 11(1), 584-593. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v11i1.9916>
- Holzschuh, A., & Koepfli, C. (2022). Tenfold Difference in DNA Recovery Rate: Systematic Comparison of Whole Blood vs. Dried Blood Spot Sample Collection for Malaria Molecular Surveillance. *Malaria Journal*, 21(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12936-022-04122-9>
- Huggett, J. F., Whale, A. S., De Spiegelaere, W., Trypsteen, W., Abdel Nour, A., Bae, Y.-K., Benes, V., Burke, D., Cleveland, M., Corbisier, P., Devonshire, A. S., Dong, L., Drandi, D., Foy, C. A., Garson, J. A., He, H.-J., Hellemans, J., Kubista, M., Lievens, A., Makrigiorgos, M. G., Milavec, M., Mueller, R. D., Nolan, T., O'Sullivan, D. M., Pfaffl, M. W., Roediger, S., Romsos, E. L., Shipley, G. L., Taly, V., Untergasser, A., Wittwer, C. T., Bustin, S. A., & Vandesompele, J. (2020). The Digital MIQE Guidelines Update: Minimum Information for Publication of Quantitative Digital PCR Experiments for 2020. *Clinical Chemistry*, 66(8), 1012-1029. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa125>
- Inderiati, D., Handayani, S., Syaeptiani, D., & Aryadnyani, N. P. (2022). Identifikasi *Plasmodium vivax* Menggunakan Metode Nested PCR di Wilayah Endemis Malaria Provinsi Nusa Tenggara Timur. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 3(1), 38-50. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v3i1.96>
- Jamil, K. F., Pratama, N. R., Marantina, S. S., Harapan, H., Kurniawan, M. R., Zanaria, T. M., Hutagalung, J., & Rozi, I. E. (2021). Allelic Diversity of Merozoite Surface Protein Genes (MSP1 and MSP2) and Clinical Manifestations of *Plasmodium falciparum* Malaria Cases in Aceh, Indonesia. *Malaria Journal*, 20(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03719-w>



- Kemenkes. (2024). *Laporan Situasi Terkini Perkembangan Program Pengendalian Malaria di Indonesia Tahun 2024*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Li, J., Ulloa, G. M., Mayor, P., Robles, M. L. S., & Greenwood, A. D. (2024). Nucleic Acid Degradation after Long-Term Dried Blood Spot Storage. *Molecular Ecology Resources*, 24(1), 1-14. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13979>
- Raslina, H., Dharmawibawa, I. D., & Safnowandi, S. (2016). Diversity of Medicinal Plants in National Park of Rinjani Mountain in Order to Arrange Practical Handout of Phanerogamae Systematics. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 4(1), 1-6. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v4i1.210>
- Simon, N., Shallat, J., Williams Wietzikoski, C., & Harrington, W. E. (2020). Optimization of Chelex 100 Resin-Based Extraction of Genomic DNA from Dried Blood Spots. *Biology Methods and Protocols*, 5(1), 1-7. <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpaa009>
- Val, F., Avalos, S., Gomes, A. A., Zerpa, J. E. A., Fontecha, G., Siqueira, A. M., Bassat, Q., Alecrim, M. G. C., Monteiro, W. M., & Lacerda, M. V. G. (2017). Are Respiratory Complications of *Plasmodium vivax* Malaria an Underestimated Problem?. *Malaria Journal*, 16(1), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-2143-y>
- WHO. (2023). *World Malaria Report 2023*. Geneva: World Health Organization.
- WHO. (2025). *World Malaria Report 2025: Addressing the Threat of Antimalarial Drug Resistance*. Geneva: World Health Organization