

Multipleks PCR Konvensional Untuk Mendeteksi *Soil Transmitted Helminths* (STH)

Sanely Risti (1), Dalilah (2), Iche Andriyani Liberty (3)

¹ Program Studi Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

² Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

³ Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

sanelyristi28@gmail.com (1), dalilah@fk.unsri.ac.id (2), Icheandriyaniliberty@fk.unsri.ac.id (3)

ABSTRAK

Soil Transmitted Helminths (STH) merupakan parasit usus yang paling umum menginfeksi manusia dan masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di banyak negara berkembang, terutama terjadi di daerah sub tropis dan tropis termasuk Indonesia. Cacing STH yang paling umum menginfeksi manusia yaitu *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* dan cacing tambang. Infeksi ini menyebabkan berbagai dampak, deteksi dini dan akurat sangat penting untuk mendukung program pengendalian dan eliminasi STH yang efektif. Seiring dengan perkembangan teknologi, metode *polymerase chain reaction* (PCR), khususnya **multipleks PCR**, mulai menarik perhatian karena dapat mendeteksi DNA beberapa spesies parasit sekaligus dalam satu reaksi. Tujuan penelitian untuk mendeskripsikan hasil penelitian terkait dengan metode Multipleks PCR Konvensional mendeteksi STH dibandingkan metode lain. Metode pada penelitian ini adalah *Systematic Review* dengan menggunakan metode PRISMA, basis data dicari dan mencakup Pubmed, Cochrane, Science Direct, dan Elsevier Clinicalkey.

Kata kunci: Multipleks Polimerase Chain Reaction, Soil Transmitted Helminths

ABSTRACT

Soil Transmitted Helminths (STH) are among the most common intestinal parasites that infecting humans and remain a public health problem in many developing countries, particularly in subtropical and tropical regions, including Indonesia. The most common STH species infecting humans are *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, and hookworms. These infections cause various health impacts, making early and accurate detection crucial for supporting effective control and elimination programs. With advancements in technology, polymerase chain reaction (PCR), particularly multiplex PCR, has gained attention as it allows for the simultaneous detection of multiple parasite species' DNA in a single reaction. The purpose of this study to describe research findings on the use of conventional multiplex PCR in detecting STH infections compared to other methods. The study employed a systematic review approach using the PRISMA method. Data sources included PubMed, Cochrane, ScienceDirect, and Elsevier ClinicalKey.

Keywords: Multiplex Polimerase Chain Reaction, Soil Transmitted Helminths

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Soil Transmitted Helminths (STH) adalah penyebab penyakit infeksi yang paling umum di seluruh dunia, merupakan sekelompok cacing parasit golongan Nematoda yang menginfeksi manusia dan hewan melalui kontak dengan telur atau larva cacing yang ada di dalam tanah (George et al., 2016; WHO, 2024). Tiga jenis STH yang paling umum menginfeksi manusia adalah cacing tambang (*Ancylostoma duodenale*, dan *Necator americanus*), *Trichuris trichiura*, dan *Ascaris lumbricoide* (Moser et al., 2018). Sekitar 1,5 miliar lebih orang atau 24% dari penduduk global terinfeksi cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH) terutama terjadi di daerah tropis dan subtropis (WHO, 2024). Salah satu atau lebih spesies STH mempengaruhi sekitar 2 miliar individu. Terdapat risiko infeksi pada sekitar 4 miliar orang dengan jumlah kematian tahunan sebanyak 135,000 individu. Infeksi *A. lumbricoide*s, spesies cacing tambang, serta *T. trichiura* masing-masing mempengaruhi sekitar 819, 439, dan 465 juta orang di seluruh dunia (Moser et al., 2018; Alemu et al., 2022). Infeksi tersebut merupakan penyakit terkait kemiskinan dan masyarakat yang terpinggirkan secara sosial ekonomi dengan prevalensi lebih tinggi di negara berkembang. Prevalensi tertinggi di Afrika sub-Sahara, Cina, Amerika Selatan dan Asia (WHO, 2024). Prevalensi kecacingan di Indonesia pada umumnya masih sangat tinggi, dengan prevalensi bervariasi antara 2,5% - 62% (Permenkes, 2017). Lebih dari 260 juta anak usia pra sekolah, 654 juta anak usia sekolah, 108 juta remaja putri dan 138,8 juta wanita hamil dan menyusui merupakan populasi yang paling berisiko terinfeksi STH, memiliki dampak yang parah pada lansia, lebih dari 450 juta orang, terutama pada anak-anak mengalami morbiditas yang signifikan. 44 juta wanita hamil mengalami kelainan klinis akibat anemia yang terkait dengan cacing tambang (Alemu et al., 2022; Moser et al., 2018; WHO, 2024). Penyebaran infeksi parasit ini dibantu oleh tanah yang lembab, sanitasi dan kebersihan pribadi yang buruk, kurangnya akses air yang bersih, kondisi tinggal yang padat, tidak menggunakan alas kaki, dan kurangnya akses ke perawatan medis, serta kurangnya pengetahuan mengenai kesehatan (Jourdan et al., 2018; Lamberton et al., 2015). Teknik yang paling umum digunakan dalam identifikasi kecacingan pada feses adalah Kato-Katz. Teknik Kato-Katz merupakan *Gold standar* yang di rekomendasikan oleh WHO dan banyak digunakan untuk menilai prevalensi dan insidensi infeksi STH dan sangat berguna sebagai uji skrining atau sebagai langkah awal untuk memetakan daerah endemis di suatu negara atau wilayah (Mbong et al., 2020; WHO, 2020). Teknik ini sering digunakan untuk menilai efektivitas terapi STH dalam studi survei dan epidemiologi, meskipun metode ini mudah dioperasikan dan hemat biaya tapi sensitivitas dipengaruhi oleh jumlah telur yang dikeluarkan, keahlian operator, dan jumlah sampel feses dan preparat yang diperiksa, serta sensitivitas yang menurun pada infeksi ringan dan kurang mendeteksi infeksi (Barda et al., 2020). Dalam meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas dalam mengidentifikasi cacing di intestinal, teknik diagnosis molekuler telah dikembangkan selama beberapa dekade terakhir untuk aplikasi dalam parasitologi manusia. Teknik molekuler yang paling populer adalah pemeriksaan berbasis PCR untuk mendeteksi RNA ribosom atau DNA cacing dalam feses. Lebih banyak kemajuan dalam proses isolasi DNA telah dilakukan belakangan ini, dan metode multiplex telah diciptakan untuk mengidentifikasi target parasit dalam satu proses (Keller et al., 2020). Dengan adanya beberapa metode yang tersedia dalam melakukan diagnosis mengenai STH sehingga penting untuk mengetahui kelebihan kelemahan dari masing-masing metode..

1. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, rumusan masalah pada penelitian ini adalah Bagaimana penelitian dengan judul Multipleks PCR Konvensional Untuk Mendeteksi *Soil Transmitted Helminths* (STH) dapat dilaksanakan dengan baik dan lancar.

2. Tujuan Penelitian

Tujuan dalam pelaksanaan penelitian ini yaitu: mendapatkan hasil penelitian dari Multipleks PCR Konvensional Untuk Mendeteksi *Soil Transmitted Helminths* (STH), mendeskripsikan hasil penelitian terkait dengan metode Multipleks PCR untuk mendeteksi Infeksi STH dibandingkan metode lainnya.

3. Manfaat Penelitian

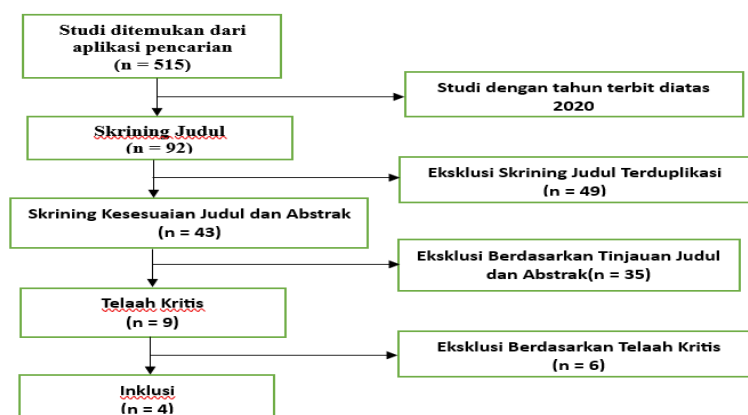
Melalui penelitian ini dapat memberikan justifikasi empiris terhadap judul penelitian Multipleks PCR Konvensional Untuk Mendeteksi *Soil Transmitted Helminths* (STH).

II. METODE PENELITIAN

Sebuah tinjauan pustaka secara sistematis dilakukan dalam rangkaian tahap yang berurutan. Protokol tinjauan dikembangkan sesuai dengan panduan PRISMA. Pertama, basis data dicari dan mencakup Pubmed, Cochrane, Science Direct, dan Elsevier Clinicalkey. Istilah dan kata kunci yang digunakan dalam pencarian PCR termasuk: "PCR" atau "Multiplex PCR" atau "*polymerase chain reaction*" atau "*Conventional Polymerase chain reaction*". Pada STH sendiri digunakan kata kunci berupa: "*Soil-transmitted helminthiasis*" atau "STH". Mengingat jumlah temuan yang besar, dilakukan pembatasan pencarian berdasarkan tahun terbit studi yang ditelaah. Studi tambahan diidentifikasi melalui daftar referensi. Kedua, dilakukan telaah artikel melalui pembacaan teliti judul dan abstrak. Ketiga, studi dieksklusi berdasarkan naskah lengkap. Keempat, semua studi disimpulkan dan disajikan dalam teks

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 515 studi telah dicari dari Pubmed, Cochrane, Science Direct, Scopus dan Elsevier Clinicalkey. Sebanyak 423 di antaranya dieksklusikan karena merupakan penelitian yang lebih lama dari tahun 2020. Sebanyak 49 studi yang dikeluarkan terkait judul yang terduplikasi. Sebanyak 35 studi dikecualikan melalui seleksi manual berdasarkan judul yang memungkinkan untuk ditelaah, yang kemudian diikuti oleh tinjauan abstrak. Setelah membaca abstrak, ada lima studi yang dieksklusikan karena dianggap tidak memenuhi syarat untuk dilanjutkan ke pembacaan teks penuh. Empat studi memenuhi kriteria inklusi dalam tinjauan sistematis. Diagram alur PRISMA yang menggambarkan proses eksklusi dan inklusi dalam penelitian ini ditampilkan dalam gambar 1.



Gambar 1. Alur PRISMA

Evaluasi kualitas studi yang dimasukkan ditampilkan dalam pencarian literatur. Aplikabilitas dalam penelitian ini tidak dinilai karena jumlah studi yang terbatas dan perbedaan sosial-ekonomi yang tidak merata di negara peneliti. Bias selektif dalam penelitian ini dikatakan cukup tinggi pada tes indeks utama karena semua studi yang

dimasukkan juga memotong tahun penelitian terkait keterbatasan waktu penelitian. Hasil penelitian terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Performa Diagnostik Masing-masing Penelitian.

Penulis	Jumlah Sampel	Metode	Jumlah Telur Cacing Yang Positif					Sensitivitas dan spesifisitas
			<i>A.lumbricoides</i>	<i>T.trichiura</i>	<i>N.Americanus</i>	<i>A.duodenale</i>	<i>S. Stercoralis</i>	
Badi <i>et al.</i> , 2022	100	PCR	20%	18%	5%	3%	-	100% & 100%
		Mikroskopik	10%	10%	5%	3%	-	71,6% & 100%
Ghada <i>et al.</i> , 2022	850	PCR	9%	8%	-	5%	-	AL: 95% & 87% TT: 90% & 85% AD: 94% & 100%
		KK	7%	6%	-	4%	-	
Ulaganeethi <i>et al.</i> , 2023	650	PCR	2,6%	-	6,3%	-	-	43,7% & 100%
		Mikroskopik	5,4%	-	1,8%	-	-	22,4% & 94%
Fleitas <i>et al.</i> , 2021	287	PCR	-	-	Cacing Tambang : 28%		39%	CT: 90,3% & 87,6% SS: 97,4% & 100%
		Mikroskopik	-	-	Cacing Tambang : 13%		19%	CT:43,7% & 100% SS: 46,6% & 100%

Pembahasan

Sampai saat ini, pemeriksaan mikroskopis seperti apusan langsung, Kato-Katz, teknik konsentrasi formalin eter (FETC) dan teknik pengapungan untuk mendiagnostik telur atau larva cacing pada sampel tinja telah digunakan sebagai metode untuk mendiagnostik infeksi STH. Metode yang sangat umum dalam melakukan diagnosis infeksi STH adalah metode Kato-Katz. WHO menyarankan untuk menggunakan metode Kato-Katz karena tidak memerlukan biaya yang mahal serta merupakan metode yang sederhana dengan peralatan yang dapat digunakan kembali. Pada metode ini dilakukan skrining terhadap sampel feses (sekitar 41,7 mg, 20 mg, atau 50 mg bergantung pada ukuran template) (Mbong, et al., 2020). Meskipun sederhana digunakan dan harganya cukup terjangkau, Kato-Katz mungkin tidak mampu mengidentifikasi banyak STH secara bersamaan dalam sampel yang mempunyai intensitas infeksi yang rendah serta durasi disintegrasi telur yang bervariasi juga mempengaruhi metode Kato-Katz ini (Khurana et al., 2021). Dalam biologi molekuler, PCR adalah teknik yang digunakan untuk mengamplifikasi atau menggandakan segmen DNA yang diinginkan secara in vitro. Kary Mullis adalah penemu pertama kali metode ini pada tahun 1985. Segmen DNA target dapat diperbanyak menjadi jutaan menggunakan teknik PCR dalam hitungan jam. Teknik PCR mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi sehingga pada sekuens DNA khusus dapat terdeteksi walaupun jumlah sampel yang digunakan sedikit. Beberapa komponen yang dibutuhkan untuk PCR adalah target DNA, dNTPs (deoxy ribo nukleotida trifosfat, yaitu dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP), serta enzim DNA polimerase. Terdapat tiga langkah dalam proses PCR adalah denaturasi (suhu tinggi 94 °C), pengikatan utama (annealing) pada 45–55 °C, serta elongasi pada 72 °C (Zhu et al., 2020). Parasit pada intestinal kini dapat diidentifikasi serta dibedakan dalam sampel feses menggunakan metode berbasis DNA.

Metode tersebut meliputi PCR kuantitatif, nested PCR, Polymerase Chain Reaction (PCR), dan PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) (Papaiakovou et al., 2019). Metode PCR mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi namun penggunaan metode ini mempunyai beberapa kelemahan yaitu kelemahan lainnya adalah amplifikasi dari polutan, destruksi DNA dari sampel feses, kurangnya infrastruktur di lokasi dengan sumber daya yang terbatas, serta membutuhkan staf yang terlatih dengan baik. Namun, seiring dengan penyempurnaan prosedur-prosedur ini, permasalahan terkait

dengan kontaminasi sudah menurun secara signifikan dikarenakan terdapat banyak profesional yang tereduksi dalam melakukan diagnostik molekuler dan kemajuan teknologi saat ini melibatkan otomatisasi pada berbagai tahap proses PCR) (Mbong et al., 2020). Beberapa tahun kebelakang, multipleks DNA digunakan dalam mengevaluasi parasitologi karena efisien, akurasi yang tinggi dan dapat mendeteksi ko-infeksi. Keuntungan ini sangat efektif dimanfaatkan dalam praktik klinis kesehatan. Meskipun multipleks DNA dipengaruhi beberapa faktor, seperti konsentrasi DNA dan kualitasnya, temperature, konsentrasi MgCl₂, konsentrasi primer dan kualitas, jumlah siklus PCR dan konsentrasi Dntp dan material pendukung lainnya (Sooai et al., 2020). Studi di Indonesia untuk menguji optimalisasi diagnosis STH pada feses dalam penyimpanan 3 tahun. *A. lumbricoides*, *T. trichiura* dan *N. americanus* berturut-turut ditemukan dalam 13 (86,7%), 15 (100%) dan 6 (40%) spesimen. Hal ini menunjukkan Keberhasilan deteksi menggunakan metode multipleks PCR dipengaruhi oleh persiapan sampel sebelum isolasi DNA, yang meliputi beberapa langkah seperti homogenisasi sampel menggunakan *bead beaters* dan penanganan cepat sampel dengan nitrogen cair (Sooai et al., 2020). Uji PCR kuantitatif multipleks berdasarkan studi terbaru, menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, namun cenderung membutuhkan biaya yang tinggi dan butuhnya instrument khusus sehingga masih menjadi hambatan yang membatasi aplikasi mereka dalam diagnosis rutin. Oleh karena itu, uji multipleks PCR konvensional, dengan biaya lebih rendah dan kesederhanaan yang lebih besar, dikembangkan, untuk deteksi simultan cacing tambang dalam sampel tinja (Phuphisut et al., 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Badi, dkk (2022) Untuk memvalidasi kinerja uji multipleks PCR konvensional, total 100 sampel tinja diperiksa menggunakan mikroskopik dan uji multipleks PCR. Berdasarkan mikroskopis pemeriksaan, 60% (60/100) sampel tinja dilaporkan positif dengan setidaknya satu spesies STH. Sebaliknya, uji PCR multipleks menunjukkan bahwa 88% (88/100) sampel dilaporkan positif mengidap infeksi STH. Sensitivitas dan spesifisitas uji PCR multipleks dan metode mikroskop Kato-Katz juga dievaluasi dalam penelitian ini. Kedua metode tersebut melaporkan spesifisitas 100% dan sehubungan dengan sensitivitas, pengujian PCR konvensional multipleks (100%) melaporkan sensitivitas yang lebih tinggi, dibandingkan dengan metode mikroskopik (71,6%) (Badi et al., 2022). Penelitian lainnya oleh Ghada, dkk (2022) Uji Pcr multipleks konvensional digunakan untuk mendeteksi STH dalam sampel tinja. 850 sampel yang di kumpulkan dari pasien yang datang ke lab O&P di Rumah Sakit Pendidikan Bersalin dan Anak serta Rumah Sakit Pendidikan Umum di Provinsi Al-Dewanyia. Berdasarkan pemeriksaan mikroskopis hasil penelitian menunjukkan 275/850 pada infeksi tripel, double, dan single, sedangkan 365/850 pada infeksi tripel, double dan single. Tes ini sangat spesifik pada infeksi tunggal (100%) sedangkan pada infeksi ganda dan tripel masing-masing (87% dan 98%), sehingga menghasilkan tes positif palsu yang rendah (7,1%). Sensitivitas dan spesifisitas mikroskopik buruk untuk ineksi STH terutama intensitas infeksi rendah. Disisi lain mikroskopik mampu membedakan subjek-subjek yang mengalami infeksi berat (Alomashi et al., 2024). Penelitian yang dilakukan Ulaganeethi, dkk (2023) hasil diantara 650 perempuan hamil yang dilibatkan terdeteksi *A. lumbricoides* dengan mikroskopik dan PCR masing-masing 35 (5,4%) dan 17 (2,6%).

IV. KESIMPULAN / CONCLUSION

Berdasarkan tinjauan literatur yang telah dilakukan penelitian menyimpulkan penggunaan PCR dalam melakukan diagnosis cacing pada intestinal lebih unggul terutama bila intensitas infeksi rendah, dibandingkan dengan pendekatan mikroskopik yang bergantung pada operator yang akan berpengaruh pada sensitivitas dan skalabilitasnya. Selain itu, pemeriksaan ini lebih menguntungkan karena yang sangat sensitif dan cepat.

Sehingga Multipleks PCR ini memberikan metode alternatif untuk diagnosis dalam mengidentifikasi infeksi *Soil Transmitted helminths* (STH)”.

DAFTAR PUSTAKA / REFERENCE

- Alemu Y, Degefa T, Bajiro M, Teshome G., (2022) Prevalence and intensity of soil-transmitted helminths infection among individuals in model and non-model households, South West Ethiopia: A comparative cross-sectional community based study. Yaro CA, editor. PLoS One. 2022 Oct 17;17(10):e0276137.
- Alomashi, G. B. A., Khudhur, H. R., & Jebur, L. S., (2024), Conventional Multiplex PCR for Identifying Soil Transmitted Helminthes (*Ascaris Lumbricoides*, *Trichuris Trichura*, and *Ancylostoma Duodenale*) in Fecal Specimens.
- Badi, N., Yusoff, W., & Omar, S., (2022), A conventional multiplex PCR for the detection of four common soil-transmitted nematodes in human feces: development and validation ARTICLE HISTORY ABSTRACT. Tropical Biomedicine, 39(1), 135–143. <https://doi.org/10.47665/tb.39.1.016>
- Barda B, Schindler C, Wampfler R, Ame S, Ali SM, Keiser J., (2020), Comparison of real-time PCR and the Kato-Katz method for the diagnosis of soil-transmitted helminthiasis and assessment of cure in a randomized controlled trial. BMC Microbiol. 2020;20(1):1–9.
- Fleitas, P. E., Vargas, P. A., Caro, N., Almazan, M. C., Echazu, A., Juarez, M., Cajal, P., Krolewiecki, A. J., Nasser, J. R., & Cimino, R. O., (2021), Scope and limitations of a multiplex conventional PCR for the diagnosis of *S. stercoralis* and hookworms. *braz j infect dis.* 2021;25(6):101649. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2021.101649>
- George, S., Geldhof, P., Albonico, M., Ame, S. M., Bethony, J. M., Engels, D., Mekonnen, Z., Montresor, A., Hem, S., Tchuem-Tchuenté, L. A., Huong, N. T., Kang, G., Vercruyss, J., & Levecke, B., (2016), Molecular speciation of soil-transmitted helminths egg isolates collected during six drug efficacy trials in endemic countries. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 110(11), 657. <https://doi.org/10.1093/TRSTMH/TRW078>ourdan PM,
- Jourdan, P. M., Lamberton, P. H. L., Fenwick, A., & Addiss, D. G. (2018), Soil-transmitted helminth infections. *The Lancet*, 391(10117), 252–265. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31930-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31930-X)
- Keller L, Patel C, Welsche S, Schindler T, Hürlimann E, Keiser J., (2020), Performance of the Kato-Katz method and real time polymerase chain reaction for the diagnosis of soil-transmitted helminthiasis in the framework of a randomised controlled trial: treatment efficacy and day-to-day variation. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2020;13(1):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04401-x>
- Khurana S, Singh S, Mewara A., (2021), Diagnostic Techniques for Soil-Transmitted Helminths – Recent Advances. *Res Rep Trop Med.* 2021 Aug;Volume 12:181–96.
- Lamberton, P. H. L., & Jourdan, P. M. (2015), Human Ascariasis: Diagnostics Update. *Current Tropical Medicine Reports*, 2(4), 189–200. <https://doi.org/10.1007/s40475-015-0064-9>
- Mbong Ngwese M, Prince Manouana G, Nguema Moure PA, Ramharther M, Esen M, Adégnika AA. Diagnostic Techniques of Soil-Transmitted Helminths: Impact on Control Measures. *Trop Med Infect Dis.* 2020 Jun 5;5(2):93.
- Momecilovic, S., Cantacessi, C., Arsic´ -Arsenijevic´ , V., Otranto, D. & Otašević´ , S.T., (2019), Rapid diagnosis of parasitic diseases: current scenario and future needs. *Clinical Microbiology and Infection* 25: 290-309. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.04.028>.

Risty S, Dalilah, Andriyani Liberty I : Multipleks PCR Konvensional Untuk Mendeteksi *Soil Transmitted Helminths* (STH)

- Moser W, Bärenbold O, Mirams GJ, Cools P, Vlaminck J, Ali SM, et al., (2018), Diagnostic comparison between FECPAKG2 and the Kato-Katz method for analyzing soil-transmitted helminth eggs in stool. Albonico M, editor. PLoS Negl Trop Dis. 2018 Jun 4;12(6):e0006562.
- Ngui, R., Lim, Y. A. L., Chong Kin, L., Sek Chuen, C., & Jaffar, S., (2012), Association between Anaemia, Iron Deficiency Anaemia, Neglected Parasitic Infections and Socioeconomic Factors in Rural Children of West Malaysia. PLoS Neglected Tropical Diseases, 6(3), e1550. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001550>
- Papaiakovou M, Gasser RB, Littlewood DTJ. Quantitative PCR-Based Diagnosis of Soil-Transmitted Helminth Infections: Faecal or Fickle? Trends Parasitol. 2019 Jul;35(7):491–500.
- Permenkes., (2017), Permenkes No. 15 Tahun 2017 Tentang Penanggulangan Cacingan.http://hukor.kemkes.go.id/uploads/produk_hukum/PMK_No._15_ttg_Penanggulangan_Cacingan_.pdf
- Phuphisut, O., Yoonuan, T., Sanguankiat, S., Chaisiri, K., Maipanich, W., Pubampen, S., Komalamisra, C., & Adisakwattana, P.. (2014), Triplex polymerase chain reaction assay for detection of major soil-transmitted helminths, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Necator americanus*, in fecal samples. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 45(2), 267–275.
- Soai, C. M., M, E. H., & Supargiyono, S., (2020), Optimal Condition For Multiplex Polymerase Chain Reaction (Pcr) In Detecting *Ascaris Lumbricoides*, *Trichuris Trichiura*, And *Necator Americanus* In Preserved Stool. Berkala Ilmiah Kedokteran Duta Wacana, 5(1), 34–43. <https://doi.org/10.21460/bikdw.v5i1>.
- Ulaganeethi, R., Ramachandrappa, V. K. S., Rajkumari, N., Dorairajan, G., Saya, G. K., (2023), Performance of microscopy compared to conventional PCR in identification of soil-transmitted helminth infections among antenatal women in a low-prevalence setting. Indian Journal of Medical Microbiology 46 (2023) 100427. <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2023.100427>
- WHO, (2024), Soil-transmitted helminth infections. (n.d.). Retrieved March 4, 2024, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>
- WHO., (2020), Developing capacity to monitor parasitic NTDs through Kato-Katz in Cambodia. (n.d.). Retrieved October 7, 2024, from https://www-who-int.translate.goog/news-room/feature-stories/detail/developing-capacity-to-monitor-parasitic-ntds-through-kato-katz-in-cambodia?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=id&_x_tr_hl=id&_x_tr_pto=sc
- Zhu H, Zhang H, Xu Y, Laššáková S, Korabečná M, Neužil P., (2020), PCR past, present and future. Biotechniques. 2020 Oct;69(4):317–25..

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
20 Februari 2025	24 Februari 2025	20 Maret 2025	Ya