

# ***Analysis of the Use of the NS1 Antigen Detection Method and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) in the Diagnosis of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF)***

## **[Analisis Penggunaan Metode Deteksi Antigen NS1 dan Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) dalam Diagnosis Demam Berdarah Dengue (DBD)]**

Yuniar Azzahroh<sup>1)</sup>, Miftahul Mushlih <sup>\*,2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

\*Email Penulis Korespondensi: [mif.mushlih@umsida.ac.id](mailto:mif.mushlih@umsida.ac.id)

**Abstract.** *Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is an infectious disease caused by the dengue virus (DENV) and transmitted through the bites of Aedes aegypti or Aedes albopictus mosquitoes. Consequently, early diagnosis can be achieved through NS1 antigen testing and the molecular RT-LAMP method to detect the virus. This study aimed to analyze the use of NS1 antigen detection and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) methods in diagnosing DHF. An exploratory descriptive design was employed, utilizing 30 blood samples from patients suspected of having DHF; these were tested using an immunochromatography-based NS1 antigen Rapid Diagnostic Test and a molecular-based RT-LAMP method (involving RNA extraction via spin columns), with color changes serving as the indicator for test results. The level of agreement between the results was analyzed using the Cohen's Kappa test via SPSS software version 25. The results showed that the NS1 method yielded 17 positive and 13 negative samples, whereas the RT-LAMP method yielded 26 positive and 4 negative samples. The Kappa test yielded a p-value of 0.039, indicating a lack of significant agreement between the two methods. The RT-LAMP method demonstrated superior detection capability compared to the NS1 method, suggesting its potential as a sensitive and rapid tool for the early diagnosis of DHF that is suitable for implementation in resource-limited healthcare settings.*

**Keywords -** *Dengue Hemorrhagic Fever, NS1 Antigen, RT-LAMP, Early Diagnosis.*

**Abstrak.** *Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus dengue (DENV) yang ditularkan melalui gigitan nyamuk Aedes aegypti maupun Aedes albopictus. Oleh karena itu, diagnosis dini dapat dilakukan melalui pemeriksaan antigen NS1 dan metode molekuler RT-LAMP untuk mendeteksi virus dengue. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis penggunaan metode deteksi antigen NS1 dan Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) dalam diagnosis DBD. Penelitian menggunakan desain deskriptif eksploratif dengan 30 sampel darah pasien suspek DBD yang diperiksa menggunakan metode Rapid Diagnostic Test antigen NS1 berbasis imunokromatografi dan metode RT-LAMP berbasis molekuler dengan ekstraksi RNA menggunakan spin column kemudian dianalisis menggunakan uji Cohen's Kappa melalui perangkat lunak SPSS versi 25. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode NS menghasilkan 17 sampel positif dan 13 sampel negatif, sedangkan metode RT-LAMP menghasilkan 26 sampel positif dan 4 sampel negatif. Uji Kappa menunjukkan nilai  $p = 0,039$  yang mengindikasikan tidak adanya kesesuaian yang signifikan antara kedua metode. Metode RT-LAMP menunjukkan kemampuan deteksi yang lebih tinggi dibandingkan NS1 sehingga berpotensi menjadi metode diagnosis dini DBD yang sensitif, cepat, dan dapat diterapkan pada fasilitas kesehatan dengan sumber daya terbatas.*

**Kata Kunci -** *Demam Berdarah Dengue, Antigen NS1, RT-LAMP, Diagnosis Dini.*

## **I. PENDAHULUAN**

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus dengue (DENV) dari famili *Flaviviridae* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* maupun *Aedes albopictus*. Virus dengue terdiri atas empat serotipe, yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4 yang seluruhnya dapat menginfeksi manusia dan menyebabkan spektrum penyakit mulai dari demam dengue hingga DBD berat [1]. Secara global, dengue menjadi salah satu penyakit tropis dengan penyebaran tercepat, dengan sekitar 390 juta infeksi terjadi setiap tahun dan hampir setengah populasi dunia berisiko terpapar infeksi dengue [2]. Di Indonesia hingga tahun 2024, DBD masih menjadi masalah kesehatan masyarakat yang signifikan karena tingginya angka kejadian dan potensi terjadinya kejadian luar biasa (KLB) di berbagai wilayah [3].

Manifestasi klinis DBD umumnya ditandai dengan demam tinggi mendadak, sakit kepala, nyeri otot dan sendi, nyeri retro-orbital, ruam kulit, serta berbagai manifestasi perdarahan seperti petekie, epistaksis, dan perdarahan gusi. Pada pemeriksaan laboratorium sering ditemukan trombositopenia dan peningkatan hematokrit akibat kebocoran plasma yang merupakan ciri khas DBD [1]. Apabila tidak ditangani dengan baik, kondisi ini dapat berkembang menjadi dengue *shock syndrome* (DSS) yang berpotensi menyebabkan kegagalan organ dan kematian. Oleh karena itu, identifikasi infeksi pada fase awal sangat penting untuk mendukung penatalaksanaan yang tepat, mengurangi risiko komplikasi, dan meningkatkan prognosis pasien [2].

Mengingat gejala klinis DBD sering kali tidak spesifik dan menyerupai penyakit infeksi lainnya, dianosis klinis saja tidak cukup untuk menegakkan diagnosis secara akurat. Oleh karena itu, dibutuhkan pemeriksaan laboratorium yang cepat dan akurat untuk menegakkan diagnosis dini. Salah satu biomarker yang banyak digunakan adalah *Non-Structural Protein 1 (NS1)*, yaitu protein nonstruktural virus dengue yang diproduksi sejak awal infeksi dan dapat terdeteksi dalam sirkulasi darah pada fase akut penyakit [4]. Antigen NS1 dapat dideteksi sejak hari pertama hingga hari ke sembilan setelah timbulnya demam, sehingga berperan dalam diagnosis dini infeksi dengue [5].

Selain pemeriksaan antigen NS1, perkembangan teknologi diagnostik molekuler telah menghasilkan metode *Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification* (RT-LAMP) sebagai alternatif dalam deteksi virus dengue. Metode ini dikembangkan untuk mengatasi keterbatasan pemeriksaan molekuler konvensional yang memerlukan peralatan kompleks, biaya tinggi, serta tenaga terlatih [6]. RT-LAMP memiliki keunggulan berupa proses amplifikasi pada suhu konstan, waktu pemeriksaan yang lebih singkat, biaya yang relatif rendah, serta kemudahan interpretasi hasil. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa metode ini mampu mendeteksi RNA virus dengue dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, bahkan pada fase awal infeksi [7].

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian [8] menunjukkan bahwa RT-LAMP dengan target gen NS1 memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dengan tingkat kesesuaian sempurna, serta mampu meningkatkan deteksi infeksi dengue hingga 96% apabila dikombinasikan dengan pemeriksaan NS1 antigen dan antibodi IgM/IgG. Selain itu, RT-LAMP memiliki batas deteksi virus yang lebih rendah dibandingkan RT-PCR konvensional sehingga lebih efektif mendeteksi infeksi pada fase awal penyakit. Temuan penelitian ini juga didukung oleh [9] yang melaporkan bahwa RT-LAMP mempunyai sensitivitas lebih tinggi dan tetap efektif mendeteksi infeksi pada fase ketika kadar antigen NS1 mulai menurun dan antibodi IgM belum meningkat secara optimal. Penelitian yang dilakukan oleh [10] membandingkan kinerja dua rapid diagnostic test (RDT) antigen NS1 terhadap RT-PCR sebagai *gold standart* dalam diagnosis dengue. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua RDT NS1 memiliki spesifisitas yang sangat tinggi (97,5–100%), namun sensitivitasnya bervariasi bergantung pada hari demam, jenis infeksi (primer atau sekunder), dan serotipe virus dengue. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa pemeriksaan NS1 efektif digunakan sebagai skrining pada fase akut infeksi, tetapi RT-PCR tetap memiliki akurasi yang lebih tinggi karena mendeteksi RNA virus secara langsung. Penelitian ini bertujuan memberikan gambaran mengenai kemampuan kedua metode dalam mendeteksi infeksi dengue pada pasien suspek DBD, khususnya pada fase awal penyakit. Dengan demikian, upaya penatalaksanaan pasien dapat dilakukan secara lebih tepat sehingga risiko terjadinya komplikasi berat akibat infeksi dengue dapat diminimalkan.

## II. METODE

Penelitian ini menggunakan desain deskriptif eksploratif untuk mengidentifikasi keberadaan *virus dengue* pada darah pasien dengan metode *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP). Penelitian telah memperoleh persetujuan etik dari Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor sertifikat 0497/HRECC.FODM/V/2026. Subjek penelitian meliputi pasien dengan kriteria inklusi meliputi pasien rawat inap, mengalami trombositopenia (< 150.000), mengalami demam secara mendadak serta telah didiagnosa DBD oleh dokter yang berada di Rumah Sakit Pusdik Sabhara Porong.

Pengambilan sampel darah dilakukan menggunakan teknik nonprobability sampling. selama periode satu bulan. Sampel berupa whole blood sebanyak 2 cc dikumpulkan menggunakan tabung EDTA yang telah diberi identitas, kemudian disimpan dalam ice box untuk menjaga kualitas sampel selama transportasi menuju laboratorium. Pengujian sampel dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sidoarjo pada bulan Juni 2026. Untuk memperoleh sampel whole blood yang memenuhi kriteria penelitian, pengambilan darah dilakukan pada pasien yang menjalani pemeriksaan di RS Pusdik Sabhara Porong. Sampel darah vena dikumpulkan oleh tenaga kesehatan yang berwenang menggunakan tabung EDTA, kemudian digunakan sebagai bahan pemeriksaan laboratorium sesuai dengan prosedur penelitian.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel darah pasien yang kemudian diproses menjadi serum sebagai spesimen pemeriksaan. Reagen yang digunakan terdiri atas aquades, ddH<sub>2</sub>O (double distilled water), RNA template, PCR Mix, GelRed, primer RT-LAMP yang meliputi Forward Inner Primer (FIP) (5'-GCTGCGTTGTGTCTTGGGAGGTTTTCTGTACGCATGGGGTAGC-3'), Backward Inner Primer (BIP) (5'-CCCAACACCAGGGGAAGCTGTTTTTTTGTGTTGTGCGGGG-3'), Forward Outer Primer (F3) (5'-

GAGGCTGCAAACCATGGAA-3'), Backward Outer Primer (B3) (5'-CAGCAGGATCTCTGGTCTCT-3'), Forward Loop Primer (FLP) (5'-CTCCTCTAACCCTAGTC-3'), dan Backward Loop Primer (BLP) (5'-GGTGGTAAGGACTAGAGG-3'), enzim Bst 2.0 DNA Polymerase, enzim Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (MuLV-RT), kloroform, buffer ekstraksi RNA (Buffer RZ, RD, dan RW), serta etanol. Bahan-bahan tersebut digunakan untuk proses ekstraksi RNA dan amplifikasi menggunakan metode RT-LAMP. Selain itu, digunakan pula cartridge NS1 untuk pemeriksaan antigen NS1 sebagai metode pembandingan dalam mendeteksi infeksi virus dengue.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sentrifus untuk pemisahan serum dari darah, autoklaf untuk sterilisasi alat dan bahan, waterbath sebagai inkubator bersuhu tetap selama proses amplifikasi RT-LAMP, lemari asam untuk penanganan bahan kimia volatil seperti kloroform, serta UV transilluminator untuk visualisasi hasil amplifikasi apabila menggunakan pewarna fluoresen. Peralatan pendukung lainnya meliputi mikropipet beserta clear tip, yellow tip, dan blue tip untuk pengambilan volume cairan secara akurat, rak mikropipet, beaker glass, erlenmeyer, rak tabung, rak microtube, dan microtube yang digunakan selama proses preparasi sampel, ekstraksi RNA, serta penyusunan campuran reaksi. Cartridge NS1 digunakan sebagai media pemeriksaan cepat antigen NS1 sesuai prosedur pabrikan.

Deteksi virus dengue dilakukan menggunakan dua metode, yaitu metode rapid diagnostic test antigen NS1 dan metode LAMP. Pada pemeriksaan antigen NS1, sebanyak 80 µl sampel serum pasien digunakan sebagai bahan pemeriksaan antigen NS1. Masing-masing sampel ditetaskan ke dalam sumur sampel pada cartridge rapid test antigen NS1. Selanjutnya, cartridge dibiarkan selama 10–15 menit hingga reaksi berlangsung sempurna, kemudian hasil diinterpretasikan berdasarkan munculnya garis pada area kontrol (C) dan area uji (T). Hasil dinyatakan positif apabila muncul garis pada area kontrol (C) dan area uji (T), negatif apabila hanya muncul garis pada area kontrol (C), serta invalid apabila garis kontrol tidak muncul.

Tahap awal dalam mendeteksi virus dengue menggunakan metode molekuler adalah ekstraksi RNA. Ekstraksi RNA dilakukan dengan mencampurkan 3000 µL whole blood dengan 750 µL buffer RZ, kemudian divortex dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 15–30°C. Setelah itu ditambahkan 200 µL kloroform, divortex 15 detik, diinkubasi 3 menit pada suhu 25°C, lalu disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dipindahkan dan ditambahkan etanol sebanyak 0,5× volume, kemudian dimasukkan ke spin column dan disentrifugasi 12.000 rpm selama 30 detik. Filtrat dibuang, lalu ditambahkan 500 µL buffer RD dan disentrifugasi kembali 12.000 rpm selama 30 detik. Filtrat dibuang, kemudian kolom dicuci berturut-turut dengan 500 µL buffer RW pertama dan 500 µL buffer RW kedua, masing-masing disentrifugasi 12.000 rpm selama 30 detik dan filtrat dibuang. Selanjutnya kolom disentrifugasi 12.000 rpm selama 2 menit untuk menghilangkan sisa cairan, dipindahkan ke tabung RNase-free 1,5 mL yang baru, kemudian ditambahkan 30–100 µL ddH<sub>2</sub>O bebas RNase, diinkubasi 2 menit pada suhu ruang, dan disentrifugasi 12.000 rpm selama 2 menit untuk elusi RNA. RNA yang diperoleh kemudian disimpan pada suhu –70°C.

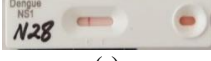
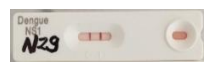
RNA hasil ekstraksi selanjutnya digunakan sebagai template pada proses amplifikasi menggunakan metode RT-LAMP. Metode ini dipilih karena mampu melakukan proses transkripsi balik RNA menjadi DNA komplemen (cDNA) sekaligus amplifikasi target secara isothermal dalam satu tahap reaksi, sehingga lebih sederhana dan cepat dibandingkan metode PCR konvensional. Campuran reaksi RT-LAMP disiapkan dalam volume total 25 µl yang terdiri atas 3 µl RNA template, 1 µl enzim Bst 2.0 DNA Polymerase, 1 µl m-MuLV Reverse Transcriptase (MuLV-RT), 0,5 µl ddH<sub>2</sub>O, 12,5 µl PCR Mix, 2 µl FIP, 2 µl BIP, 1 µl BLP, 1 µl FLP, 0,5 µl primer B3, dan 0,5 µl F3. Penggunaan enam primer yang mengenali beberapa daerah target genom virus dengue bertujuan untuk meningkatkan spesifisitas dan efisiensi proses amplifikasi, sedangkan kombinasi enzim Bst 2.0 dan MuLV-RT memungkinkan berlangsungnya sintesis cDNA dan amplifikasi DNA secara simultan dalam kondisi isothermal. Campuran reaksi amplifikasi dilakukan pada suhu 65°C selama 60 menit, kemudian diakhiri dengan inkubasi pada suhu 80°C selama 5 menit untuk menonaktifkan enzim polimerase [11]. Interpretasi hasil dilakukan berdasarkan perubahan warna, yaitu perubahan dari ungu menjadi merah menunjukkan hasil positif, sedangkan tidak adanya perubahan warna atau munculnya warna merah keruh menunjukkan hasil negatif. Hasil tersebut diamati menggunakan UV-Transluminator.

Analisis tingkat kesesuaian hasil pemeriksaan antara metode deteksi antigen NS1 dan RT-LAMP dilakukan menggunakan uji Cohen's Kappa dengan bantuan perangkat lunak IBM SPSS Statistics versi 25.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan sampel dilakukan selama periode penelitian yang telah ditentukan guna memperoleh data yang mencerminkan karakteristik pasien dengan dugaan DBD. Seluruh sampel berasal dari individu yang berbeda sehingga dapat menghasilkan variasi data pemeriksaan dan menghindari pengulangan data dari subjek yang sama. Pendekatan ini diterapkan untuk mendukung analisis serta perbandingan kinerja metode deteksi antigen NS1 dan LAMP dalam mendeteksi infeksi virus dengue.

Tabel 1. Hasil Identifikasi sampel darah pasien virus dengue menggunakan metode NS1 dan metode LAMP

| Sampel | Hasil NS1                                                                                  | Hasil LAMP                                                                                 | Sampel | Hasil NS1                                                                                   | Hasil LAMP                                                                                   |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1      | <br>(+)   | <br>(+)   | 16     | <br>(-)   | <br>(+)   |
| 2      | <br>(+)   | <br>(-)   | 17     | <br>(+)   | <br>(+)   |
| 3      | <br>(+)   | <br>(+)   | 18     | <br>(+)   | <br>(+)   |
| 4      | <br>(+)   | <br>(+)   | 19     | <br>(+)   | <br>(+)   |
| 5      | <br>(+)   | <br>(+)   | 20     | <br>(+)   | <br>(+)   |
| 6      | <br>(+)   | <br>(+)  | 21     | <br>(-)   | <br>(+)  |
| 7      | <br>(+) | <br>(+) | 22     | <br>(+) | <br>(+) |
| 8      | <br>(+) | <br>(+) | 23     | <br>(-) | <br>(+) |
| 9      | <br>(+) | <br>(+) | 24     | <br>(-) | <br>(-) |
| 10     | <br>(-) | <br>(+) | 25     | <br>(-) | <br>(+) |
| 11     | <br>(-) | <br>(+) | 26     | <br>(-) | <br>(+) |
| 12     | <br>(+) | <br>(+) | 27     | <br>(-) | <br>(+) |
| 13     | <br>(-) | <br>(+) | 28     | <br>(-) | <br>(-) |
| 14     | <br>(-) | <br>(+) | 29     | <br>(+) | <br>(+) |
| 15     | <br>(-) | <br>(+) | 30     | <br>(+) | <br>(-) |

Tabel 1. menunjukkan hasil penelitian menunjukkan bahwa metode NS1 menghasilkan 17 sampel positif dan 13 sampel negatif, sedangkan metode RT-LAMP menghasilkan 26 sampel positif dan 4 sampel negatif. Hasil positif menunjukkan adanya RNA virus dengue yang berhasil diamplifikasi menggunakan metode RT-LAMP, sedangkan hasil negatif menunjukkan tidak terdeteksinya RNA target pada sampel yang diperiksa. Hasil pemeriksaan ditandai dengan munculnya fluoresensi berwarna merah pada reaksi positif setelah penambahan GelRed dan pengamatan menggunakan UV Transilluminator, sedangkan reaksi negatif tetap menunjukkan warna ungu tanpa adanya fluoresensi yang menandakan tidak terjadi amplifikasi RNA virus dengue.

Tabel 2. Analisis Penggunaan Metode Deteksi Antigen NS1 dan LAMP dalam Diagnosis DBD

| Hasil pemeriksaan virus dengue | Metode |      |
|--------------------------------|--------|------|
|                                | NS1    | LAMP |
| Positif                        | 17     | 26   |
| Negatif                        | 13     | 4    |
| Total                          | 30     | 30   |

| Hasil NS1 | Hasil LAMP |         | Total | Uji Kappa ( $p - value$ ) |
|-----------|------------|---------|-------|---------------------------|
|           | Positif    | Negatif |       |                           |
| Positif   | 15         | 2       | 17    | 0.039                     |
| Negatif   | 11         | 2       | 13    |                           |
| Total     | 26         | 4       | 30    |                           |

Dari tabel 2. dapat dilihat bahwa persentase virus dengue pada sampel darah di RS Bhayangkara Pusdik Sabhara Porong menggunakan metode NS1 dan metode LAMP berdasarkan uji kappa didapatkan ( $p < 0,05$ ) menunjukkan hasil tidak ada kesesuaian yang signifikan dengan total 30 sampel yang terdiri 15 sampel positif NS1 dan LAMP, 11 sampel NS1 negatif tetapi LAMP positif, 2 sampel NS1 negatif LAMP negatif dan 2 sampel NS1 positif tetapi LAMP negatif. Berdasarkan hasil analisis kesesuaian menggunakan uji Cohen's Kappa, diperoleh nilai K sebesar 0,039 dengan nilai signifikansi ( $p$ ) sebesar 0,773 yang mengindikasikan tidak adanya kesesuaian yang signifikan antara kedua metode. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat kesesuaian antara metode deteksi antigen NS1 dan RT-LAMP tergolong sangat rendah, dengan nilai Cohen's Kappa sebesar 0,039 dan nilai signifikansi ( $p$ ) sebesar 0,773, sehingga tidak terdapat kesesuaian yang signifikan antara kedua metode.

Hasil positif pada 17 sampel yang diperoleh menggunakan metode NS1 ini menunjukkan adanya NS1 yang diproduksi oleh virus selama fase akut infeksi dan dilepaskan ke dalam sirkulasi darah [12]. Antigen NS1 diketahui dapat dideteksi sejak hari pertama hingga hari ketujuh setelah demam sehingga banyak digunakan sebagai metode diagnosis dini dengue [13]. Hasil positif pada pemeriksaan antigen NS1 menggunakan *Rapid Diagnostic Test* (RDT) menunjukkan adanya protein NS1 virus dengue yang beredar dalam sirkulasi darah selama fase akut infeksi. NS1 merupakan biomarker yang diproduksi dan disekresikan oleh virus dengue selama proses replikasi sehingga dapat dideteksi sejak awal timbulnya demam sebelum terbentuknya antibodi IgM maupun IgG. Pemeriksaan RDT NS1 memiliki sensitivitas tertinggi pada dua hari pertama sejak gejala, yaitu lebih dari 75%, kemudian menurun setelah hari ketiga menjadi kurang dari 60%, dengan spesifisitas keseluruhan mencapai 99,8%. Temuan tersebut mengindikasikan bahwa hasil NS1 positif memiliki tingkat kepercayaan yang sangat tinggi untuk mengidentifikasi infeksi dengue akut, terutama apabila pemeriksaan dilakukan pada fase awal penyakit [14].

Pada penelitian ini, 13 sampel dengan hasil negatif pada pemeriksaan NS1 dapat disebabkan oleh rendahnya kadar antigen NS1 yang terdapat dalam serum pasien [13]. Batas deteksi *Limit of Detection* (LOD) antigen NS1 pada berbagai RDT komersial bervariasi antar produk, dengan kisaran sekitar 1,73–54,43 ng/mL. Hasil negatif pada pemeriksaan antigen NS1 menggunakan RDT tidak selalu menunjukkan bahwa pasien bebas dari infeksi virus dengue. Hasil negatif dapat terjadi akibat kadar antigen NS1 dalam sirkulasi darah yang telah menurun seiring perjalanan penyakit, terutama setelah hari ketiga demam, atau karena perbedaan karakteristik serotipe virus yang memengaruhi sensitivitas deteksi [15]. Penelitian [15] menunjukkan bahwa sensitivitas RDT NS1 hanya sebesar 59,7%, dengan ditemukannya 27 kasus negatif palsu yang sebenarnya terkonfirmasi positif melalui RT-PCR. Sebagian besar kasus negatif palsu tersebut berasal dari infeksi DENV-4, sedangkan sensitivitas pemeriksaan tertinggi diperoleh pada dua hari pertama sejak gejala dan menurun pada hari-hari berikutnya.

Hasil tersebut berbeda dengan penelitian [16] yang melaporkan tingkat kesesuaian sedang antara rapid test NS1 dan RT-PCR dengan nilai Cohen's Kappa sebesar 0,54. Perbedaan tersebut diduga disebabkan oleh perbedaan metode pembandingan yang digunakan, di mana penelitian ini menggunakan RT-LAMP, sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan [16] menggunakan RT-PCR sebagai baku pembandingan. Selain itu, waktu pengambilan sampel, fase infeksi dengue, status infeksi primer atau sekunder, serta dinamika kadar antigen NS1 dan RNA virus selama perjalanan penyakit juga dapat memengaruhi hasil deteksi. Meskipun demikian, hasil penelitian ini tidak menunjukkan bahwa salah satu metode lebih baik dibandingkan metode lainnya, melainkan menggambarkan bahwa kedua metode mendeteksi biomarker yang berbeda, yaitu antigen NS1 dan RNA virus. Hal tersebut didukung oleh penelitian [8] yang menunjukkan bahwa RT-LAMP memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi untuk mendeteksi RNA virus

dengue, serta ketika dikombinasikan dengan pemeriksaan antigen NS1 dan antibodi dengue dapat meningkatkan akurasi diagnosis hingga 96%. Oleh karena itu, meskipun tingkat kesesuaian antara NS1 dan RT-LAMP pada penelitian ini rendah, kedua metode memiliki karakteristik diagnostik yang saling melengkapi sehingga penggunaannya secara kombinasi berpotensi meningkatkan efektivitas diagnosis DBD, terutama pada berbagai fase perjalanan penyakit dan kondisi klinis pasien. Hasil negatif pada pemeriksaan NS1 tidak selalu menandakan bahwa pasien tidak terinfeksi dengue maka dari itu perlu dikonfirmasi melalui pemeriksaan diagnostik lainnya. Selain itu, pengambilan sampel yang dilakukan setelah fase akut infeksi juga dapat menyebabkan penurunan sensitivitas pemeriksaan NS1 [12]. Pada infeksi dengue sekunder, antigen NS1 dapat membentuk kompleks imun dengan antibodi sehingga keberadaannya menjadi lebih sulit terdeteksi oleh alat pemeriksaan [13]. Penelitian yang telah dilakukan [13] melaporkan bahwa sensitivitas RDT NS1 berkisar antara 73–80% dengan performa yang lebih baik pada fase awal demam.

RDT NS1 memiliki beberapa kelebihan yang menjadikannya sebagai salah satu metode diagnosis dini infeksi dengue yang banyak digunakan di fasilitas pelayanan kesehatan. Metode ini mampu memberikan hasil pemeriksaan dalam waktu kurang dari 20 menit, mudah dilakukan dengan pelatihan dasar, serta tidak memerlukan peralatan laboratorium yang kompleks sehingga sangat sesuai diterapkan pada daerah dengan sumber daya terbatas maupun wilayah endemik dengue. Selain itu, RDT NS1 memungkinkan deteksi antigen NS1 secara cepat pada fase akut infeksi sehingga dapat membantu klinisi dalam menegakkan diagnosis lebih dini dan menentukan penatalaksanaan pasien secara tepat. Meskipun demikian, RDT NS1 juga memiliki beberapa keterbatasan. Kinerja diagnostiknya dapat bervariasi bergantung pada jenis kit yang digunakan, serotipe virus dengue, status infeksi primer atau sekunder, serta kemungkinan terjadinya reaktivitas silang dengan infeksi lain [17]. Penelitian yang dilakukan [17] menunjukkan bahwa tidak semua kit memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang sama, meskipun sebagian besar menunjukkan performa diagnostik yang baik. Oleh karena itu, pemilihan kit yang sesuai serta penggunaan pemeriksaan sesuai petunjuk produsen sangat diperlukan untuk memperoleh hasil diagnosis yang optimal.

Metode LAMP merupakan teknik amplifikasi asam nukleat yang bekerja secara isothermal menggunakan empat hingga enam primer spesifik yang mengenali beberapa daerah target DNA atau RNA sehingga menghasilkan amplifikasi dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi. Proses amplifikasi berlangsung pada suhu konstan melalui aktivitas *strand displacement DNA polymerase* tanpa memerlukan siklus denaturasi, annealing, dan ekstensi seperti pada PCR konvensional [18]. Selain itu, metode LAMP memiliki beberapa keunggulan dibandingkan metode molekuler lainnya, yaitu waktu pemeriksaan yang lebih cepat, tidak memerlukan alat *thermal cycler*, biaya operasional yang relatif lebih rendah, serta hasil amplifikasi dapat diamati secara visual melalui perubahan warna atau fluoresensi sehingga cocok digunakan pada fasilitas kesehatan dengan sumber daya terbatas [19].

RT-LAMP merupakan pengembangan metode LAMP yang digunakan untuk mendeteksi target RNA dengan mengombinasikan proses transkripsi balik (*reverse transcription*) dan amplifikasi DNA dalam satu reaksi pada suhu konstan sekitar 60–65°C. Pada metode ini, RNA virus terlebih dahulu ditranskripsi menjadi DNA komplemen (cDNA), kemudian cDNA diamplifikasi menggunakan enzim Bst DNA polymerase yang memiliki aktivitas *strand displacement*, sehingga proses amplifikasi dapat berlangsung tanpa memerlukan siklus perubahan suhu seperti pada *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Amplifikasi RT-LAMP menggunakan empat primer utama, yaitu FIP, BIP, F3, dan B3 yang dirancang untuk mengenali enam daerah spesifik pada target gen. Selain itu, penambahan LF dan LB berfungsi mempercepat proses amplifikasi dengan menginisiasi sintesis DNA pada struktur *stem-loop* yang telah terbentuk. Pada tahap awal reaksi, primer FIP dan F3 berikatan dengan daerah target sehingga memulai sintesis DNA. Selanjutnya, primer BIP dan B3 membentuk struktur DNA menyerupai *dumbbell* yang kemudian berkembang menjadi struktur *stem-loop*. Struktur ini akan berfungsi sebagai cetakan untuk proses amplifikasi berikutnya secara berulang sehingga menghasilkan akumulasi produk DNA dalam jumlah yang sangat besar dalam waktu singkat. Penggunaan beberapa pasang primer yang mengenali enam hingga delapan daerah target menyebabkan RT-LAMP memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi. Akumulasi produk amplifikasi yang terbentuk selanjutnya dapat diamati menggunakan berbagai metode deteksi, seperti perubahan warna (*colorimetry*), fluoresensi (*fluorometry*), maupun kekeruhan (*turbidimetry*), sehingga hasil pemeriksaan dapat diinterpretasikan dengan cepat dan mudah [20].

Pada penelitian ini, metode LAMP menunjukkan 26 sampel positif. Hasil RT-LAMP positif menunjukkan bahwa RNA virus dengue masih terdapat dalam sampel dengan jumlah yang cukup sehingga dapat dikenali oleh pasangan primer spesifik yang menargetkan daerah konservatif genom virus dengue. Pada proses RT-LAMP, enzim *reverse transcriptase* terlebih dahulu mengubah RNA virus menjadi DNA komplemen (cDNA), kemudian enzim DNA polimerase melakukan amplifikasi secara isothermal pada suhu konstan menggunakan beberapa pasang primer yang dirancang untuk meningkatkan spesifisitas dan efisiensi amplifikasi. Keberadaan target RNA yang sesuai menyebabkan proses amplifikasi berlangsung secara berulang sehingga menghasilkan akumulasi produk amplifikasi dalam jumlah besar. Akumulasi produk tersebut memicu perubahan kondisi reaksi yang dapat diamati secara visual melalui perubahan warna larutan dari merah muda (pink) menjadi kuning (yellow), yang menandakan bahwa target RNA virus dengue berhasil dideteksi. Perubahan warna ini terjadi karena proses amplifikasi yang memengaruhi indikator warna yang terdapat di dalam campuran RT-LAMP. Oleh karena itu, hasil positif menunjukkan bahwa proses

amplifikasi berlangsung dengan baik dan mengindikasikan adanya materi genetik virus dengue di dalam sampel. Metode RT-LAMP memungkinkan interpretasi hasil secara langsung berdasarkan perubahan warna tanpa memerlukan instrumen deteksi yang rumit, sehingga pemeriksaan dapat dilakukan dengan lebih cepat dan sederhana. Kemudahan interpretasi tersebut menjadikan RT-LAMP sebagai salah satu metode molekuler yang berpotensi digunakan untuk mendukung diagnosis dini infeksi dengue, terutama pada fase akut ketika RNA virus masih berada dalam sirkulasi darah dan dapat diamplifikasi secara optimal [21]. Metode RT-LAMP tidak hanya mampu mendeteksi keberadaan RNA virus dengue dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, tetapi juga dapat mengidentifikasi serotipe virus dengue apabila menggunakan primer yang dirancang secara spesifik terhadap masing-masing serotipe [20].

Sedangkan 4 sampel menunjukkan hasil negatif. Hasil RT-LAMP negatif menunjukkan bahwa target RNA virus dengue tidak berhasil diamplifikasi selama proses reaksi sehingga tidak terjadi perubahan warna pada campuran reaksi. Kondisi tersebut dapat terjadi apabila RNA virus dengue tidak terdapat di dalam sampel atau jumlah target RNA berada di bawah batas deteksi metode, sehingga pasangan primer tidak dapat mengenali dan memulai proses amplifikasi. Hasil RT-LAMP negatif ditandai dengan larutan yang tetap mempertahankan warna awal setelah inkubasi, yang menunjukkan bahwa reaksi amplifikasi tidak berlangsung. Tidak terjadinya perubahan warna tersebut mengindikasikan bahwa tidak terbentuk produk amplifikasi yang cukup untuk memicu perubahan indikator warna pada campuran reaksi. Keberhasilan metode LAMP dalam mendeteksi sampel positif menunjukkan bahwa metode ini mampu mengidentifikasi keberadaan RNA virus dengue secara spesifik. Selain itu, proses amplifikasi pada metode LAMP berlangsung secara isothermal sehingga tidak memerlukan siklus termal yang kompleks. Karakteristik tersebut menjadikan metode LAMP lebih cepat, lebih ekonomis, dan lebih mudah diterapkan pada laboratorium dengan fasilitas yang terbatas [22].

Pemeriksaan RT-LAMP pada penelitian ini menunjukkan jumlah sampel positif yang lebih tinggi dibandingkan metode NS1. Perbedaan hasil antara pemeriksaan NS1 dan RT-LAMP dapat terjadi karena kedua metode mendeteksi target yang berbeda. Pemeriksaan NS1 mendeteksi protein virus yang beredar dalam darah, sedangkan RT-LAMP mendeteksi RNA virus dengue secara langsung [23]. Hasil NS1 positif tetapi RT-LAMP negatif dapat disebabkan oleh degradasi RNA selama proses penyimpanan atau ekstraksi sampel sehingga amplifikasi tidak berlangsung optimal [24]. Sebaliknya, hasil NS1 negatif tetapi RT-LAMP positif dapat terjadi karena RT-LAMP memiliki batas deteksi yang lebih rendah sehingga masih mampu mendeteksi RNA virus pada konsentrasi yang sangat kecil [23]. Perbedaan tersebut juga dapat dipengaruhi oleh fase viremia, dimana kadar antigen NS1 dapat menurun akibat terbentuknya respons imun tubuh sementara RNA virus masih dapat terdeteksi menggunakan metode molekuler [12]. RT-LAMP mampu mendeteksi hingga 10 copy RNA virus dengue dan menunjukkan tingkat kesesuaian yang sangat baik dengan qRT-PCR ( $\kappa = 0,939$ ). Oleh karena itu, RT-LAMP berpotensi menjadi metode diagnosis dini DBD yang sensitif, cepat, dan mudah diaplikasikan pada laboratorium dengan fasilitas terbatas [23].

Hasil analisis antara metode deteksi antigen NS1 dan metode LAMP pada penelitian ini menunjukkan bahwa kedua metode dapat digunakan secara saling melengkapi dalam diagnosis DBD. Pemeriksaan antigen NS1 dapat dimanfaatkan sebagai metode skrining awal karena mampu mendeteksi infeksi dengue secara cepat pada fase akut penyakit, terutama pada hari-hari awal demam [25]. Sementara itu, metode RT-LAMP berperan sebagai pemeriksaan molekuler yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi dalam mendeteksi RNA virus dengue secara cepat dan akurat [26]. Metode deteksi antigen NS1 sebagai pemeriksaan yang cepat dan praktis serta metode LAMP sebagai teknik molekuler yang sensitif dan spesifik merupakan kombinasi yang berpotensi meningkatkan efektivitas diagnosis DBD. Kedua metode tersebut dapat digunakan sebagai pendekatan diagnostik yang saling mendukung, dengan NS1 sebagai alat deteksi dini dan LAMP sebagai metode konfirmasi molekuler yang mampu mendeteksi RNA virus dengue secara akurat.

Penelitian ini memiliki kelebihan karena membandingkan metode RDT NS1 dan RT-LAMP dalam mendeteksi infeksi dengue menggunakan sampel klinis pasien, sehingga memberikan gambaran mengenai perbedaan kemampuan kedua metode dalam diagnosis dini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa RT-LAMP mendeteksi lebih banyak sampel positif dibandingkan NS1, serta berpotensi diterapkan pada laboratorium dengan fasilitas terbatas. Namun, penelitian ini juga memiliki beberapa keterbatasan, antara lain jumlah sampel yang relatif sedikit, tidak menggunakan RT-PCR sebagai baku emas (*gold standard*), tidak mengidentifikasi serotipe virus dengue, serta tidak mempertimbangkan fase infeksi atau hari demam pasien yang dapat memengaruhi kadar RNA virus dan hasil pemeriksaan molekuler.

## V. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan metode LAMP memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dalam mendiagnosis pasien terduga DBD.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Staf Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sidoarjo atas fasilitas dan bantuan yang diberikan selama penelitian berlangsung, serta kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyelesaian dan penyusunan artikel ini.

## REFERENSI

- [1] Melly, A; Debie, A, "Aspek Klinis dan Pemeriksaan Laboratorium untuk Diagnosis Demam Berdarah Dengue," *Scientific Journal*, vol. 1, pp. 68–76, 2022, doi: 10.56260/sciena.v1i1.13.
- [2] Fauzan, A; Cici, A; Loly, N.W; Rahmad, S; Diah, P.N.V; Jihan, S; Suci, R; Oktaria, T.P; Siti, A; Lathifah, A.A; Epriyanto, "Literatur Review: Hubungan Pengetahuan Masyarakat Terhadap Kejadian Demam Berdarah Dengue (DBD) Tahun 2025," *Jurnal Riset Kesehatan Masyarakat*, vol. 1, no. 3, pp. 1–7, 2025.
- [3] Bimandra, A.D; Iqbal, R.F.E; Fadjar, S.M.S; Asik, S; Agus, H; Burhannudin, T; Desfalina, A; Mustofa, K; aditya, L.R; Dyana, G; Hipokrates; Anzala, K.N; Edi, P; Iriani, S; Agus, S; Kimberly, F; Hannah, E.C; Nuno, R.F; Swapnil, M, "Dengue Transmission Heterogeneity Across Indonesia's Archipelago : Climate-Driven Spatiotemporal Patterns and Policy Implications," *PLoS One*, vol. 20, no. 3, pp. 1–19, 2026, doi: 10.1371/journal.pntd.0014135.
- [4] Mayer, F.W, "Deteksi Dini Demam Berdarah Dengue Dengan Pemeriksaan Antigen NS1," *Jurnal Biomedik*, vol. 3, no. 1, pp. 1–9, 2011.
- [5] Ni, W.A.A.S; I, W.P.S.Y, "Hubungan Antara Uji Antigen Non Structural 1 (NS1) Dengan Kejadian Trombositopenia Pada Kasus Demam Dengue (DD)/Demam Berdarah Dengue (DBD) Dirumah Sakit Aari Canti, Gianyar, Bali," *Jurnal Medika Udayana*, vol. 9, no. 6, pp. 79–83, 2020, doi:10.24843.MU.2020.V9.i6.P15.
- [6] Mona, G; Alzahraa, A.A; Asmaa, M.E; Mohammed, T.Y.S; Shereen, M.M; Nahed, A.E, "Dengue Fever as a Reemerging Disease in Upper Egypt: Diagnosis, Vector Surveillance and Genetic Diversity using RT-LAMP Assay," *PLoS One*, vol. 17, no. 5, pp. 1–12, 2022, doi: 10.1371/journal.pone.0265760.
- [7] Geovanna, M.M; Kesia, G.O; Juliane, C.B; Thais, S.O; Fabila, S.F; Maurico, I.N; Alexandre, M.B; Celia, M.A.S; Emanuel, C; Gabriela, R.M.D, "Molecular Diagnostics of Dengue by Reverse Transcription-Loop Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) in Disposable Polyester-Toner Microdevices," *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 30, no. 9, pp. 1841–1849, 2019, doi: 10.21577/0103-5053.20190092.
- [8] Neeraja, M; Lakshmi, V; Vanjari, L; Priyanka, E.N; Parida, M.M; Dash, P.K; Shashi, S; lakshmana, R.P.V; Gopal, R, "Rapid Detection and Differentiation of Dengue Virus Serotypes by NS1 Specific Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Assay in Patients Presenting to a Tertiary Care Hospital in Hyderabad, India," *Journal Virology Methods*, vol. 211, no. January, pp. 22–31, 2020, doi : 10.1016/j.jviro.2014.10.005.
- [9] Brig, A.K.S; Col, N.G; Brig, A.S; Maj, I.D.K; Jugal, K, "Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification ( RT-LAMP ) for Diagnosis of Dengue," *Medical Journal Armed Forces India*, vol. 69, no. 3, pp. 246–253, 2020, doi: 10.1016/j.mjafi.2012.07.017.
- [10] Li, T.L; Po, C.C; Chen, H.L; Shi, Y.H; Chun, H.C; Ching, Y.T; Ping, C.L; Cyuan, Y.Y; Jih, J.T, "Performance Comparison of Two Dengue NS1 Rapid Diagnostic Tests Against RT-PCR Sensitivity and Specificity Across Infections and Timeframes," *Journal of Infection Public Health*, vol. 18, no. 11, p. 102919, 2025, doi: 10.1016/j.jiph.2025.102919.
- [11] P. H. Hamid, A. Widyasari, and A. N. Krediatuti, "Application of combined multiplex-PCR and RT-LAMP to detect Dengue Fever , from clinically infected patients in Surabaya , Indonesia," *International Research Journal Microbiology*, vol. 6, no. 1, pp. 1–5, 2015, doi : 10.14303/irjm.2014.040.
- [12] Vianney, T; Hang, T.V; Nhu, V.Q; Chau, V.N; Hien, T.T; Jeremy, F; Bridget, W; Cameron P.S, "Comparison of Two Dengue NS1 Rapid Tests for Sensitivity , Specificity And Relationship to Viraemia and Antibody Responses," *BMC Infectious Diseases*, 2010, doi : 10.1186/1471-2334-10-142.
- [13] Marsha, S.S; Benediktus, Y; Dionisius, D; Rahma, F.H; Sotianingsih, H; Leily, T; Rintis, N; Martin, L.H; R, T.S, "Diagnostic Accuracy Of 5 Different Brands of Dengue Virus Non-Structural Protein 1 ( NS1 ) Antigen Rapid Diagnostic Tests ( RDT ) in Indonesia," *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, vol. 98, no. 2, pp. 1–7, 2020, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115116.
- [14] Ni, P.D.W; Araniy, F; Edison, J; Yora, P.D; Asri, L; I, G. A.A.R; Ida, Y.S; Rama, D; Ungke, A; Frilasita, A.Y; I, M.A; Ann, M.P, Khin, S.A.M, "Application of a Dengue NS1 Antigen Based Rapid Diagnostic Test to Screen Dengue Virus Infection in Clinical Settings in Indonesia," *Journal Publik Health Research*, vol. 14 (2), no. 58, pp. 1–5, 2025, doi: 10.1177/22799036251343652.
- [15] Jidapa, S; Hafik, D; Junereyah, M; Chadarat, S; Wilai, P; Rawadee, S; Sirinda, W; Piyawut, S, "Combined

- Analytical and Clinical Performance Evaluation of a Novel Dengue NS1 Rapid Test in a Real-World Endemic Setting,” *MDPI*, vol. 16, no. 395, pp. 1–17, 2026, doi : 10.3390/diagnostics16030395.
- [16] Dewi, I; Yuli, y; Anita, S; Citra, A.A, “Meditory Diagnosic Validity Analysis of NS1-Based Rapid Test Compared with RT-PCR for Dengue Detection in Batam,” *Journal Medical Laboratory*, vol. 13, no. 2, pp. 123–133, 2025, doi : 10.33992/meditory.v13i2.4801.
- [17] Zapata, D.L.C.M; Falcon, L.J.A; Quiroz, G.S, Gizman, P.C.G, “A Review of The Performance of Rapid Diagnostic Tests for The NS1 Protein in Diagnosing Dengue Infection,” *Epidemiology and Public Health*, vol. 4, no. 1, pp. 1–7, 2026.
- [18] Tsugunori, N; Yasuyoshi, M; Norihiro, T; Hidetoshi, K, “Loop-Mediated Isothermal Amplification ( LAMP ) : Principle , Features , And Future Prospects,” vol. 53, no. 1, pp. 1–5, 2015, doi: 10.1007/s12275-015-4656-9.
- [19] Jee, W.P, “Principles and Applications of Loop-Mediated Isothermal Amplification to Point-of-Care Tests,” vol. 12, no. 10, pp. 857, 2022, doi : 10.3390/bios12100857.
- [20] Nan, Y; Han, Z; Zhifeng, L; Yan, L, “Advancements and Applications of Loop-Mediated Isothermal Amplification Technology : A Comprehensive Overview,” *Frontiers in Microbiology*, vol. 15, no. 7, pp. 1–12, 2024, doi: 10.3389/fmicb.2024.1406632.
- [21] Leidy, H.G; Katherine, E.L; Juan, S.R; Nataly, S.I; Camilo, B.S; Anderson, D.P; Yirys, D.O; Jennifer, G; Yesit, B.L; Leonardo, C.P.L; Antonio, J.A.H; Lisandro, A.P.L, “Development and Validation of a Combined RT-LAMP Assay for the Rapid and Sensitive Detection of Dengue Virus in Clinical Samples from Colombia,” *MDPI*, vol. 5, no. 570, pp. 1–15, 2025, doi : 10.3390/diagnostics15050570.
- [22] Vitoria, D.O.A; Luiz, R.G.F; Adriana, F.N, “Aptamer-Associated Colorimetric Reverse Transcription Loop Mediated Isothermal Amplification Assay for Detection of Dengue Virus,” *Microbiology Spectrum*, vol. 12, no. 9, pp. 1–13, 2024, doi : 10.1128/spectrum.03583-23.
- [23] Boon, T.T; Sing, S.S; Kim, K.T; Jeffree, J; Mohammed, B.D, Poh, S.H; Rafi, M.E; Sazaly, A, “Detection of Dengue Viruses Using Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification,” *BMC Infectious Diseases*, 2013, doi: 10.1186/1471-2334-13-387.
- [24] Manmohan, P; Kouhei, H; Hiroyuki, I; Paban, K.D; Parag, S; Asha, M.J; Mohammed, A.I; Shingo, I; Norimitsuki, H; Kouichi, M, “Rapid Detection and Differentiation of Dengue Virus Serotypes by a Real-Time Reverse Transcription – Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay,” *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 43, no. 6, pp. 2895–2903, 2005, doi: 10.1128/JCM.43.6.2895.
- [25] Rosanna, W.P; Harvey, A; Jose, L.P; Philippe, B; mary, J.C; cardosa, S.D; Delia, A.E; Jeremy, F; Duane, J.G; Maria, G.G; Scott, B.H; Elizabeth, H; Susie, K; Harold, S.M; Carl, M.N; Vinh, C.N; Nidia, R; Susana, V; Sutee, Y , “Evaluation of Diagnostic Tests : Dengue,” *Nature Review Microbiology*, no. 12, pp. S30–S37, 2010, doi: 10.1038/nrmicro2459.
- [26] Y. Lau, M. Lai, B. Teoh, J. Abd-jamil, J. Johari, “Colorimetric Detection of Dengue by Single Tube Reverse-Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification,” *PLoS One*, pp. 1–9, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0138694.

**Conflict of Interest Statement:**

*The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.*