



artikeIII imelda aprilia- revisi 1 (20.28)).
ID : a7940a6e0ca6845b6772cb5fd84d35ab8b899268



File name : artikelll imelda aprilia- revisi 1 (20.28)).txt	Submitter : UMSIDA Perpustakaan
Original file size : 2.88 MB	Submission date : June 22, 2026
Number of words : 2,392	Upload type : interface
Number of characters : 18503	analysis end date : June 22, 2026

Summary (section 1/3)

Location of suspect texts in the document :



Included in the suspicious text score :

Similarities1%

Passages with similarities to sources found in different collections.

AI detection12%

Texts with stylistically similar formulations to AI-generated text.
This rate is an indicator, not proof. Check with the author that he/she has mastered the knowledge mentioned in the document.

Unrecognized languages4%

Passages in which some of the vocabulary used is not part of the language dictionary. This may be an attempt by the author to modify the text to make detection impossible.

Not included in the percentage of suspicious texts :

Texts between quotes0%

Passages between quotation marks, often revealing a quotation.



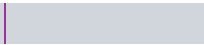
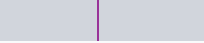
Similarities

1%

Passages with similarities to sources found in different collections.



Source with incidental similarities

No.	Description		Similarities	Locations
1		Proposal Dina Marianah_25861220027 (revisi 3) #041ef4 📌 Comes from my group	<1%	
2		ARTIKEL VIVI Rev 01 #273ab4 📌 Comes from my group	<1%	

Effect of Sample Storage on the Ability to Detect Dengue Virus Using RT-PCR and RT-LAMP Methods

[Pengaruh Penyimpanan Sampel Terhadap Kemampuan Deteksi Virus Dengue Menggunakan Metode RT-PCR dan RT-LAMP]

Imelda Aprilia Anugrah Larasati), Miftahul Mushlih *,2)

1)Program Studi Teknologi Laboratorium Medi, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

2) Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: mif.mushlih@umsida.ac.id

Page | 3

Abstract. The success of dengue molecular testing is significantly influenced by the RNA content of clinical samples. This study was conducted to compare dengue virus detection results in samples stored for more than 72 hours using conventional RT-PCR and RT-LAMP. A total of 30 whole blood samples from suspected dengue patients were selected using a purposive sampling technique and stored at 0°C. After the storage period, viral RNA was isolated using a spin column method and then examined using both methods. Conventional RT-PCR results were determined based on the presence or absence of target DNA bands on an agarose gel, while RT-LAMP results were observed through a color change in the reaction without an electrophoresis step. In the examination, the target DNA bands were not visible in conventional RT-PCR, while RT-LAMP still showed amplification. This difference is thought to be related to the decline in RNA quality during storage, the need for RT-PCR to maintain intact target regions, limitations in band reading on the gel, and the ability of RT-LAMP to produce large amounts of amplified product. The validity of the results was still assessed using positive, negative, and no-template controls. Based on the conditions of this study, RT-LAMP demonstrated superior detection results in samples stored for more than 72 hours. However, these findings require more detailed storage time recording, consistent temperature control, target size information, and larger sample sizes.

Keywords – dengue virus; sample storage; conventional RT-PCR; RT-LAMP; RNA degradation

Abstrak Keberhasilan pemeriksaan molekuler dengue sangat dipengaruhi oleh kondisi RNA yang terdapat dalam sampel klinis. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan hasil deteksi virus dengue pada sampel yang telah disimpan lebih dari 72 jam menggunakan RT-PCR konvensional dan RT-LAMP. Sebanyak 30 sampel whole blood dari pasien terduga dengue dipilih menggunakan teknik purposive sampling dan disimpan pada suhu 0°C. Setelah masa penyimpanan, RNA virus diisolasi dengan metode spin column, kemudian diperiksa menggunakan kedua metode tersebut. Hasil RT-PCR konvensional ditentukan berdasarkan ada atau tidaknya pita DNA target pada gel agarosa, sedangkan hasil RT-LAMP diamati melalui perubahan warna reaksi tanpa tahap elektroforesis. Pada pemeriksaan yang dilakukan, pita DNA target tidak tampak pada RT-PCR konvensional, sementara RT-LAMP masih menunjukkan adanya amplifikasi. Perbedaan tersebut diperkirakan berkaitan dengan penurunan kualitas RNA selama penyimpanan, kebutuhan RT-PCR terhadap daerah target yang tetap utuh, keterbatasan pembacaan pita pada gel, serta kemampuan RT-LAMP dalam menghasilkan produk amplifikasi dalam jumlah besar. Keabsahan hasil tetap dinilai melalui kontrol positif, kontrol negatif, dan no-template control. Berdasarkan kondisi penelitian ini, RT-LAMP menunjukkan hasil deteksi yang lebih baik pada sampel yang telah disimpan lebih dari 72 jam. Meskipun demikian, temuan tersebut masih perlu didukung oleh pencatatan lama penyimpanan yang lebih rinci, pengendalian suhu yang konsisten, informasi ukuran target, dan jumlah sampel yang lebih banyak.

Kata Kunci – virus dengue; penyimpanan sampel; RT-PCR Konvensional; RT-LAMP; degradasi RNA

I. Pendahuluan

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus dengue dari genus Flavivirus dan ditularkan terutama melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Penyakit ini masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di wilayah tropis dan subtropis, termasuk Indonesia [1][2]. Gejala awal dengue, seperti demam, nyeri otot,

sakit kepala, ruam, dan manifestasi perdarahan ringan, dapat menyerupai penyakit infeksi lain. Oleh karena itu, pemeriksaan laboratorium diperlukan untuk membantu memastikan diagnosis dan mendukung penatalaksanaan pasien secara tepat [3].

Deteksi molekuler berperan penting pada fase viremia karena dapat mengenali materi genetik virus secara langsung. Virus dengue memiliki genom berupa RNA sehingga pemeriksaan menggunakan RT-PCR memerlukan tahap reverse transcription untuk mengubah RNA menjadi complementary DNA (cDNA) sebelum proses amplifikasi. RT-PCR konvensional telah digunakan untuk deteksi dan penentuan serotipe virus dengue, tetapi keberhasilan pemeriksaannya dipengaruhi oleh kualitas RNA, kesesuaian primer, kondisi amplifikasi, dan visualisasi produk pada elektroforesis gel agarosa [4][5].

RT-LAMP merupakan metode amplifikasi isothermal yang berlangsung pada suhu konstan dan menggunakan beberapa primer untuk mengenali beberapa bagian target. Metode ini mampu menghasilkan produk amplifikasi dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat. Sejumlah penelitian melaporkan bahwa RT-LAMP memiliki potensi sebagai metode deteksi dengue yang cepat dan sensitif serta dapat diterapkan pada laboratorium dengan fasilitas terbatas [6][7][8].

Selain metode pemeriksaan, kondisi pra-analitik seperti lama dan suhu penyimpanan sampel dapat memengaruhi keberhasilan deteksi molekuler. RNA bersifat relatif tidak stabil dan dapat mengalami degradasi akibat aktivitas RNase, perubahan suhu, keterlambatan pemrosesan, serta proses pembekuan dan pencairan berulang. Degradasi RNA dapat menurunkan keberhasilan pembentukan cDNA dan mengurangi ketersediaan daerah target yang masih utuh untuk proses amplifikasi. Pengaruh tersebut diduga lebih besar apabila daerah target RT-PCR relatif panjang karena lokasi pengikatan primer forward dan reverse harus tetap tersedia pada satu fragmen cDNA yang utuh.

Perbedaan hasil RT-PCR dan RT-LAMP tidak hanya ditentukan oleh panjang target amplifikasi. RT-LAMP memerlukan beberapa lokasi pengikatan primer dan membentuk struktur loop untuk mempercepat proses amplifikasi. Apabila primer dirancang pada bagian genom yang konservatif dan relatif berdekatan, target masih berpeluang terdeteksi ketika kualitas RNA mulai menurun. Selain itu, jumlah produk yang dihasilkan dalam reaksi RT-LAMP dapat membuat sinyal amplifikasi lebih mudah diamati [9][10]. Namun, hasil RT-LAMP juga dapat dipengaruhi oleh ketidaksesuaian primer, inhibitor dalam sampel, amplifikasi nonspesifik, dan kontaminasi produk amplifikasi [11][12].

Pada pengamatan awal penelitian ini, sampel yang telah disimpan lebih dari 72 jam tidak menunjukkan pita DNA target pada pemeriksaan RT-PCR konvensional, sedangkan RT-LAMP masih memberikan sinyal amplifikasi. Perbedaan tersebut perlu dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui kemungkinan pengaruh penurunan kualitas RNA, karakteristik daerah target dan primer, keterbatasan visualisasi elektroforesis, serta faktor teknis pada masing-masing metode.

Penelitian ini bertujuan menganalisis kemampuan deteksi virus dengue pada sampel yang disimpan lebih dari 72 jam serta membandingkan hasil pemeriksaan menggunakan RT-PCR konvensional dan RT-LAMP. Penelitian ini juga menganalisis kemungkinan peran degradasi RNA dan karakteristik daerah target amplifikasi dalam menjelaskan perbedaan hasil kedua metode.

II. Metode

Penelitian ini menggunakan desain kuantitatif komparatif laboratorik. Penelitian dilaksanakan pada sampel pasien terduga DBD yang diperoleh dari Rumah Sakit Bhayangkara Pusdik Sabhara Porong dan diperiksa di Laboratorium Biologi Molekuler Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Sebanyak 30 sampel dari pasien yang diduga mengalami DBD dipilih menggunakan teknik *purposive sampling*. Pemilihan sampel dilakukan dengan mempertimbangkan kondisi klinis pasien dan kelayakan spesimen untuk pemeriksaan molekuler. Pasien dapat diikutsertakan apabila berusia minimal 1 tahun, memiliki diagnosis klinis terduga DBD, mengalami demam selama 2–7 hari, menunjukkan sedikitnya dua gejala yang mendukung infeksi dengue, berada pada fase febril, serta memiliki hasil pemeriksaan hematologi. Sampel tidak digunakan apabila mengalami hemolisis berat, volumenya tidak mencukupi, terkontaminasi, atau memiliki kondisi lain yang dapat mengganggu proses ekstraksi RNA.

Penelitian ini telah melakukan uji kelaikan etik (ethical clearance) di Komisi Kelaikan Etik Penelitian dan Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor 0609/HRECC.FODM/VI/2026. Sampel disimpan selama lebih dari 72 jam pada suhu 0°C sebelum ekstraksi RNA. Lama penyimpanan tiap sampel dicatat dalam jam untuk memungkinkan analisis berdasarkan durasi aktual. Sampel dibagi ke dalam aliquot untuk mencegah



siklus beku-cair berulang.

Ekstraksi RNA dilakukan menggunakan kit ekstraksi RNA merek TIANGEN dengan mencampurkan 250 μL serum atau darah utuh dan 750 μL buffer R2, kemudian divortex serta diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Setelah ditambahkan 200 μL kloroform, campuran kembali divortex, diinkubasi selama 3 menit, lalu disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh ditambahkan etanol sebanyak 0,5 kali volumenya, kemudian dimasukkan ke dalam *spin column*. Kolom dicuci secara berturut-turut menggunakan buffer RD, RW1, dan RW2, lalu disentrifugasi untuk menghilangkan sisa larutan pencuci. RNA selanjutnya dielusi menggunakan 30–100 μL *RNase-free ddH₂O* dan disimpan pada suhu beku hingga digunakan untuk pemeriksaan RT-PCR dan RT-LAMP.

Pemeriksaan RT-LAMP dilakukan dalam volume reaksi total 25 μL yang terdiri atas buffer reaksi, campuran primer spesifik virus dengue, enzim dengan aktivitas *strand displacement* dan *reverse transcription*, *nuclease-free water*, serta RNA hasil ekstraksi sebagai template. Primer yang digunakan meliputi F3 (5'-AGTTTTTGAGGGTGGTG-3'), B3 (5'-CCGACCTCCTTCCTTTG-3'), FIP (5'-TCTAAGCTTCGAGTGAGGAGCTTAAGATGGTTCAACGAT-3'), BIP (5'-GGTTTGGTTGGTTTGGTTGGTTTCTAGTTGGTCTCA-3'), LoopF (5'-TGGTTCTGGTGGTGGTACTC-3'), dan LoopB (5'-CCTCTTCTTTGAGCTCT-3'). Campuran reaksi diinkubasi pada suhu 60–65°C selama 30–60 menit. Hasil amplifikasi diamati secara langsung berdasarkan perubahan warna sesuai indikator yang digunakan.

Pemeriksaan RT-PCR konvensional diawali dengan ekstraksi RNA dari sampel, kemudian RNA hasil ekstraksi digunakan pada tahap reverse transcription untuk membentuk cDNA. Reaksi reverse transcription dilakukan pada suhu 42–50°C selama 30–60 menit dan dilanjutkan dengan inaktivasi enzim pada suhu 70°C selama 5 menit. Amplifikasi dilakukan menggunakan alat Bio-Rad T100 dengan primer spesifik virus dengue, yaitu forward primer 5'-TCAATATTGCTGAAACGCGAGAGAAACCCG-3' dan reverse primer 5'-TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTTC-3'. Program PCR terdiri atas Reverse transcription 55°C selama 1 jam, denaturasi awal pada suhu 94°C selama 2 menit, dilanjutkan dengan 40 siklus denaturasi pada suhu 94°C selama 45 detik, annealing pada suhu 55°C selama 1 menit, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit, kemudian diakhiri dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit. Produk amplifikasi selanjutnya dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarosa 1% dalam buffer TBE pada tegangan 100 volt selama 30 menit, lalu divisualisasikan menggunakan UV transilluminator. Sampel dinyatakan terdeteksi apabila terbentuk pita DNA pada ukuran target yang sesuai.

Variabel bebas adalah penyimpanan sampel lebih dari 72 jam dan durasi penyimpanan aktual. Variabel terikat adalah hasil deteksi virus dengue pada RT-PCR konvensional dan RT-LAMP. Variabel yang dikendalikan dalam penelitian ini meliputi jenis dan volume sampel, suhu penyimpanan, jumlah proses beku-cair, tahapan ekstraksi RNA, konsentrasi reagen, primer, program amplifikasi, serta cara membaca hasil pemeriksaan. Data hasil RT-PCR konvensional dan RT-LAMP disajikan dalam bentuk jumlah dan persentase berdasarkan kategori terdeteksi, tidak terdeteksi, dan tidak valid. Perbedaan hasil kedua metode pada sampel yang sama dianalisis menggunakan uji McNemar Exact karena data yang diperoleh berupa kategori positif dan negatif yang berpasangan. Lama penyimpanan sampel dicatat dalam satuan jam dan dianalisis secara deskriptif untuk melihat kecenderungan hasil deteksi pada setiap waktu penyimpanan. Hasil analisis dinyatakan bermakna secara statistik apabila nilai $p < 0,05$.

III. Hasil dan Pembahasan

Penyimpanan sampel lebih dari 72 jam diduga dapat memengaruhi kualitas RNA virus dengue dan keberhasilan pemeriksaan molekuler. Penurunan mutu RNA selama penyimpanan dapat memengaruhi hasil pemeriksaan molekuler. Kondisi ini memungkinkan munculnya perbedaan kemampuan deteksi antara RT-PCR konvensional dan RT-LAMP. Atas dasar tersebut, penelitian ini dilakukan untuk membandingkan hasil kedua metode dalam mendeteksi virus dengue pada sampel yang telah disimpan lebih dari 72 jam.

Hasil pengamatan awal menunjukkan bahwa RT-PCR konvensional tidak menampilkan pita DNA target pada elektroforesis, sedangkan RT-LAMP masih memberikan tanda terjadinya amplifikasi. Perbedaan ini menunjukkan bahwa kedua metode dapat memberikan hasil yang berbeda pada sampel yang mengalami penyimpanan dalam waktu lama. Namun, tidak munculnya pita pada RT-PCR belum dapat langsung diartikan sebagai tidak adanya virus. Hasil tersebut tetap perlu dinilai bersama kontrol positif, kualitas RNA hasil ekstraksi, serta keberhasilan proses elektroforesis agar interpretasi yang diperoleh lebih tepat.

Salah satu faktor yang diduga menyebabkan tidak munculnya hasil RT-PCR adalah terjadinya degradasi RNA selama proses penyimpanan. RNA virus dengue yang telah terfragmentasi dapat mengurangi keberhasilan tahap *reverse*

transcription dalam membentuk cDNA. Pada RT-PCR konvensional, primer *forward* dan *reverse* harus menempel pada daerah target yang masih utuh agar amplifikasi dapat berlangsung. Jika salah satu lokasi pengikatan primer atau bagian di antara kedua primer mengalami kerusakan, produk amplifikasi tidak dapat terbentuk secara sempurna. Risiko tersebut dapat meningkat apabila ukuran target amplifikasi relatif panjang, karena semakin panjang daerah target, semakin besar kemungkinan bagian tersebut mengalami degradasi. Oleh karena itu, ukuran produk amplifikasi RT-PCR perlu dicantumkan dan dibandingkan dengan daerah target pada RT-LAMP agar perbedaan hasil deteksi dapat dijelaskan berdasarkan data, bukan hanya berdasarkan dugaan.

Selain dipengaruhi oleh kualitas template, hasil RT-PCR konvensional juga bergantung pada kemampuan visualisasi melalui elektroforesis. Produk amplifikasi dalam jumlah rendah mungkin tetap terbentuk, tetapi konsentrasinya belum cukup untuk menghasilkan pita yang terlihat pada gel agarosa. Oleh karena itu, hasil pemeriksaan dinilai berdasarkan ada atau tidaknya pita DNA pada ukuran target yang sesuai.

RT-LAMP menggunakan beberapa primer yang mengenali beberapa wilayah target dan memanfaatkan pembentukan struktur loop untuk menghasilkan amplifikasi cepat pada suhu konstan. Efisiensi sintesis produk yang tinggi dapat membuat sinyal RT-LAMP tetap teramati ketika jumlah template awal rendah. Apabila wilayah primer RT-LAMP berada pada bagian genom yang konservatif dan relatif kompak, peluang mempertahankan target yang dapat diamplifikasi pada RNA yang mulai terdegradasi dapat lebih besar. Temuan ini sejalan dengan laporan bahwa LAMP berpotensi memberikan deteksi dengue yang cepat dan sensitif pada sampel klinis [8]–[10].

Meskipun demikian, RT-LAMP tidak dapat dinyatakan secara umum lebih tahan terhadap degradasi hanya karena menggunakan target yang lebih pendek. Metode ini tetap memerlukan beberapa wilayah pengikatan primer yang sesuai. Kerusakan pada wilayah penting atau mutasi target dapat menghambat amplifikasi [11]. Oleh sebab itu, pembahasan yang lebih tepat adalah bahwa desain primer, panjang serta lokasi target, jumlah template, dan efisiensi amplifikasi secara bersama-sama dapat memengaruhi hasil. Perbandingan sekuens target dan ukuran ampikon antara kedua metode perlu ditampilkan sebagai data pendukung [12].

Hasil RT-LAMP dapat dinyatakan valid apabila kontrol positif menunjukkan reaksi amplifikasi, sedangkan kontrol negatif dan *no-template control* tidak menunjukkan perubahan warna atau tanda amplifikasi. Apabila seluruh kontrol memenuhi kriteria tersebut, hasil RT-LAMP yang tetap terdeteksi pada sampel tersimpan lama dapat digunakan sebagai dasar bahwa metode ini lebih efektif pada kondisi penelitian yang dilakukan. Namun, hasil tersebut tetap perlu dibatasi pada kondisi sampel, reagen, primer, dan prosedur yang digunakan dalam penelitian ini sehingga tidak langsung digeneralisasikan pada seluruh pemeriksaan dengue.

IV. SIMPULAN

Pada kondisi penelitian ini, sampel yang disimpan lebih dari 72 jam tidak menunjukkan pita target pada RT-PCR konvensional, sedangkan RT-LAMP masih memberikan sinyal amplifikasi. Perbedaan tersebut diduga berkaitan dengan penurunan integritas RNA, kebutuhan keutuhan daerah target RT-PCR, batas visualisasi elektroforesis, serta efisiensi amplifikasi RT-LAMP. RT-LAMP berpotensi memiliki kemampuan deteksi yang lebih baik pada sampel tersimpan lama, tetapi kesimpulan tersebut belum dapat digeneralisasi sebelum dikonfirmasi melalui kontrol yang valid, ukuran target yang terdokumentasi, jumlah sampel final, suhu penyimpanan, dan kelompok waktu pembanding. Oleh karena itu, hasil penelitian harus dinyatakan sebagai temuan pada kondisi pemeriksaan yang digunakan, bukan sebagai batas universal bahwa RT-PCR hanya bertahan selama 72 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada dosen pembimbing atas arahan dan saran yang diberikan selama penelitian dan penyusunan artikel ini. Terima kasih juga diberikan kepada Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, staf Laboratorium Biologi Molekuler, serta pihak Rumah Sakit Bhayangkara Pusdik Sabhara Porong yang telah membantu dalam proses pengambilan sampel dan pelaksanaan pemeriksaan. Penulis juga berterima kasih kepada para responden, rekan mahasiswa, sahabat, dan keluarga yang telah memberikan dukungan selama penelitian berlangsung hingga artikel ini dapat diselesaikan.