

Deteksi sars-cov-2 menggunakan *thermal cycler* dengan metode *fluorescence saliva based rt-lamp*

Fauzan Anugrah Putranto, Ika Afifah Nugraheni*, Arif Bimantara, Annisa Khumaira

Prodi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

*Email: ikaafifah@unisayogya.ac.id

Abstrak

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) merupakan penyakit gangguan sistem pernafasan akut yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*). Virus SARS-CoV-2 terus mengalami mutasi yang menyebabkan transmisinya semakin cepat, sehingga membutuhkan metode deteksi yang cepat juga untuk mencegah transmisi tersebut. Salah satu metode alternatif untuk deteksi virus SARS-CoV-2 adalah *fluorescence Saliva based RT-LAMP (Reverse Transcription-Loop Mediated Isothermal Amplification)*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kemampuan metode *Saliva based RT-LAMP* untuk deteksi virus SARS-CoV-2 di Indonesia. Penelitian ini menggunakan 3 sampel positif dan 2 sampel negatif berdasarkan uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Gen target untuk deteksi pada penelitian ini adalah gen target ORF1ab dan 6 primer yaitu FIP, BIP, F3, B3, LF, LB. Setelah terkumpul, sampel *saliva* diinaktivasi. Optimasi dilakukan dengan waktu 10-60 menit dengan 2 kali ulangan. Hasil optimasi menunjukkan, metode RT-LAMP dapat bekerja secara optimal pada suhu 65°C dan waktu 45 menit. RNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan menggunakan *thermal cycler* pada suhu 65°C selama 45 menit. Visualisasi hasil dengan melihat ada tidaknya pendaran yang dapat dilihat menggunakan alat *UV Transilluminator*. Berdasarkan uji yang dilakukan pada sampel *saliva*, metode RT-LAMP mampu mendeteksi virus SARS-CoV-2. Pemeriksaan dengan metode *fluorescence saliva based RT-LAMP* menggunakan *thermal cycler* berpotensi sebagai alternatif penanganan virus SARS-CoV-2 di Indonesia.

Kata kunci: COVID-19, RT-LAMP, *Saliva*, SARS-CoV-2

Detection of sars-cov-2 using thermal cycler using saliva fluorescence based rt-lamp method

Abstract

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is an acute respiratory system disorder caused by the SARS-CoV-2 virus (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*). The SARS-CoV-2 virus continues to experience mutations which cause transmission to become faster, so it requires fast detection methods to prevent transmission. One alternative method for detecting the SARS-CoV-2 virus is *Saliva Fluorescence Based RT-LAMP (Reverse Transcription-Loop Mediated Isothermal Amplification)*. The aim of this research is to determine the ability of the *Saliva based RT-LAMP* method on detecting the SARS-CoV-2 virus in Indonesia. This study used 3 positive samples and 2 negative samples based on the PCR (*Polymerase Chain Reaction*) test. The target gene for detection in this study was the ORF1ab target gene and 6 primers, namely FIP, BIP, F3, B3, LF, LB. After the collection phase, the saliva sample was inactivated. Optimization was carried out within 10-60 minutes with 2 repetitions. The optimization results showed that the RT-LAMP method could work optimally at a temperature of 65°C and a time of 45 minutes. The extracted RNA was amplified using a thermal cycler at 65°C for 45 minutes. After that, visualizing the results by seeing whether there was luminescence which could be seen using the *UV Transilluminator* tool. Based on tests carried out on saliva samples, the RT- LAMP method was able to detect the SARS-CoV-2 virus. Examination using the fluorescence saliva-based RT-LAMP method using a thermal cycler has the potential to be an alternative treatment for the SARS-CoV-2 virus in Indonesia.

Keywords: COVID-19, RT-LAMP, *Saliva*, SARS-CoV-2

1. Pendahuluan

Virus SARS-CoV-2 merupakan penyakit yang menyerang sistem pernapasan yang disebabkan adanya virus SARS-CoV-2. Virus ini muncul pertama kali di Kota Wuhan, Cina pada akhir tahun 2019 dan menjadi ancaman bagi kesehatan masyarakat dunia (Hu *et al.*, 2021). Penyebaran virus ini sangat masif dan luas, hampir seluruh negara di dunia terdampak oleh virus ini. Hingga saat ini, menurut *World*

Health Organization (WHO), kasus terkonfirmasi positif per-tanggal 23 Desember 2022 mencapai 651.918.402 kasus. Sedangkan kasus terkonfirmasi positif di Indonesia per-tanggal 23 Desember 2022 yaitu sebanyak 6.714.802 kasus (BNPB, 2022)

Virus SARS-CoV-2 memiliki kekerabatan dengan penyakit SARS (*Severe Acute Respiratory Syndrome*) dan MERS (*Middle East Respiratory Syndrome*) yang berasal dari keluarga *betacoronavirus*. Tingkat penularan virus SARS-CoV-2 lebih cepat, namun memiliki tingkat kematian yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan penyakit MERS (Abdelghany *et al.*, 2021). Tingkat penularan yang begitu cepat dan luas, maka perlu adanya langkah pengendalian yang dilakukan. Menurut Güner *et al.*, 2020 menyatakan bahwa masing-masing negara harus melakukan pencegahan dengan cara deteksi.

Kapasitas tes untuk mendeteksi adanya virus corona merupakan hal penting yang harus dilakukan untuk melakukan pencegahan agar virus ini tidak menyebar dengan sangat cepat. Oleh sebab itu, laboratorium harus mengembangkan dan meningkatkan metode deteksi yang lebih efektif. Penggunaan metode deteksi masih terdapat permasalahan yang ditemukan yakni menggunakan standar *biosafety* yang tinggi (Level 2-3), membutuhkan waktu yang relatif lama, biaya yang relatif mahal, memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang rendah, dan alat yang canggih. Untuk mengatasi penyebaran virus yang cepat dan luas diperlukan metode yang mudah, murah, efisien, dan memiliki kualitas hasil yang baik (Li *et al.*, 2020).

Gold standart yang dijadikan patokan untuk mendeteksi adanya virus SARS-CoV-2 yakni metode *Quantitative Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR) (Esbin *et al.*, 2020). Metode ini memiliki kekurangan di antaranya adalah alat yang mahal dan pengambilan sampel dengan cara swab nasofaring yang menimbulkan ketidaknyamanan pada pasien (Corman *et al.*, 2020). Pengambilan sampel dengan cara ini juga memerlukan tenaga kesehatan yang professional untuk melakukan kontak langsung dengan pasien suspek yang dikhawatirkan akan menimbulkan infeksi silang antara pasien dengan tenaga medis (Wyllie *et al.*, 2020). Oleh karena itu, perlu adanya metode deteksi berbasis genom virus yang lebih cepat dan efektif.

Saliva dapat digunakan sebagai alternatif untuk mendiagnostik virus SARS-CoV-2. Menurut Kobayashi *et al.*, (2021), menjelaskan bahwa penggunaan sampel *saliva* mudah didapatkan dan mengurangi risiko penularan. Pengambilan sampel *saliva* dapat dilakukan dengan memasukkan air liur ke dalam botol steril, hal ini dapat meminimalisir risiko penularan terhadap sesama pasien maupun tenaga kesehatan (To *et al.*, 2020). Pada penelitian kali ini, kami menguji efektivitas dari metode RT-LAMP sebagai metode alternatif pengganti RT-PCR untuk deteksi SARS-CoV-2 penyebab COVID-19 dengan sampel yang berasal dari PKU Muhammadiyah Yogyakarta demi meningkatkan dan memenuhi kapasitas deteksi SARS-CoV-2 penyebab COVID-19 di Indonesia.

2. Metode

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *thermal cycler*, *microtube*, mikrotip, mikropipet, *tube PCR*, *collection tube*, mini spin down, vortex, ice box, freezer, centrifuge. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *saliva* sampel positif dan negatif covid-19, kontrol positif gen ORFlab SARS-CoV-2, Primer LAMP gen ORFlab SARS-CoV-2, *Nuclease Free Water* (NFW), *Viral Nucleic Acid Extraction Kit II* (Geneaid), dan *RT Isothermal Master Mix* (OptiGene). Primer LAMP gen ORFlab SARS-CoV-2 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Primer LAMP gen ORFlab SARS-CoV-2

Primer	Sekuen (5'-3')
F3	ACAAAGCCTTACATTAAGTGG
B3	CACCATCAACAAATATTTTCTCAC
FIP	TGGGTGGTATGTCTGATCCCAATATTGTAAAATATGACTTCACGG
BIP	TGTGTAACTGTTGGATGACAGATGTAGGTGGGAACACTGT
LoopF	CGGTCAAAGAGTTTAACTCTCTT
LoopB	TGCATTCTGCATTGTGCAAACT

2.2. Optimasi Waktu RT-LAMP

Untuk optimasi RT-LAMP dilakukan menggunakan kontrol positif konsentrasi 0,1 ng dengan kisaran waktu yaitu; 10 menit, 20 menit, 30 menit, 45 menit dan 60 menit dengan suhu 65°C (OptiGene Ltd, 2020). Optimasi dilakukan untuk hasil kondisi RT-LAMP terbaik yang akan digunakan pada penelitian ini. Disiapkan mikrotube yang sudah dilabeli 10 menit, 20 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, NTC dan NFW. Pembuatan larutan dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) untuk menjaga kesterilan alat dan media serta meminimalisir adanya kontaminasi. Kemudian, membuat reagen mix dengan komposisi antara lain *Master Mix* 12,5 μ l; *primer mix* 2,5 μ l; *Nuclease Free Water* (NFW) 2,5 μ l dan *template* yang berisi kontrol positif konsentrasi 0,1 ng sebanyak 5 μ l. Total volume dalam *tube* PCR adalah 25 μ l. Setelah itu, disiapkan kontrol negatif dengan menambahkan NFW sebagai *Non Template Control* (NTC) dan *Nuclease Free Water* (NFW) tanpa adanya campuran *reagen mix*. Kontrol negatif berfungsi untuk memastikan tidak adanya kontaminasi pada reagen. Selanjutnya, reagen di *sentrifuge* pada suhu 20°C dengan kecepatan 10.000 rpm selama 30 detik. Setelah itu, reagen dimasukkan ke dalam *thermal cycler* secara bergantian berdasarkan waktu yang telah ditetapkan (10, 20, 30, 45 dan 60 menit). Kemudian dilakukan elektroforesis untuk visualisasi hasil.

2.3. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berasal dari RS PKU Muhammadiyah Kota Yogyakarta. Sampel yang digunakan berupa *saliva* sebanyak 5 sampel. Tahapan pengambilan sampel dilakukan dengan cara pasien meludahkan *saliva* pada wadah steril yang telah disediakan. sebelum meludah, pasien tidak diperbolehkan makan selama 30 menit. Kemudian, sampel disimpan dalam *freezer* pada suhu -80°C (Yamazaki *et al.*, 2021).

2.4. Inaktivasi Virus Sampel Saliva

Sampel *saliva* yang akan di inaktivasi, berasal dari *saliva* pasien yang telah terkonfirmasi positif covid-19 melalui tes swab PCR. Setelah didapatkan sampel *saliva* dari pasien positif covid-19, selanjutnya dilakukan inaktivasi. Inaktivasi virus dilakukan dengan sampel *saliva* dari pasien diambil sebanyak 200 μ l dan dimasukkan kedalam mikrotube. Kemudian ditambahkan 400 μ l *Phosphate Buffer Saline* lalu vortex dan dipanaskan menggunakan *heating block* pada suhu 95°C selama 5 menit (Dudley *et al.*, 2020).

2.5. Uji RT-LAMP

Total satu reaksi yang digunakan yaitu 25 μ l dengan komposisi *RT Isothermal Master Mix* (OptiGene) sebanyak 15 μ l, *primer mix* 2,5 μ l, NFW 2,5 μ l, dan sampel *saliva* 5 μ l. Kemudian *tube* PCR dimasukkan ke dalam PCR Konvensional dengan kondisi suhu 65°C selama 45 menit.

2.6. Visualisasi Hasil dan Elektroforesis

Hasil positif ditandai dengan adanya pendaran, sedangkan sampel negatif tidak berpendar. Visualisasi hasil dapat dilihat setelah running dengan PCR Konvensional selesai dengan menggunakan alat *UV Transilluminator*. Untuk lebih meyakinkan bahwa hasilnya sesuai, maka dilakukan elektroforesis. Tahap elektroforesis dilakukan dengan menggunakan gel *agarose*. Cara pembuatan *agarose* adalah *agarose* ditimbang seberat 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan *TE Buffer* sebanyak 25 ml. Gel *agarose* dipanaskan dengan *hot plate* dan dilarutkan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah larutan *agarose* bening, ditambahkan pewarna menggunakan *fluorochrome* sebanyak 2 μ l. Larutan *agarose* dituangkan ke dalam cetakan dan ditunggu hingga mengeras. *Agarose* yang telah mengeras dapat digunakan untuk proses elektroforesis. Gel *agarose* dimasukkan terlebih dahulu ke dalam alat elektroforesis dan ditambahkan dengan *TE Buffer* hingga terendam.

Selanjutnya, DNA ladder 100bp, kontrol positif, kontrol negatif, dan sampel sebanyak 5 μ l dan ditambahkan 1 μ l *loading dye*. Reagen dicampurkan menggunakan mikropipet (Dragon Lab 0,5-10 μ l). Setelah homogen, reagen dimasukkan ke dalam sumuran. Kemudian, elektroforesis dengan kekuatan

listrik 100-150 volt selama 30 menit dan gel *agarose* diamati dengan menggunakan *UV Transilluminator* untuk melihat visualisasi pita DNA.

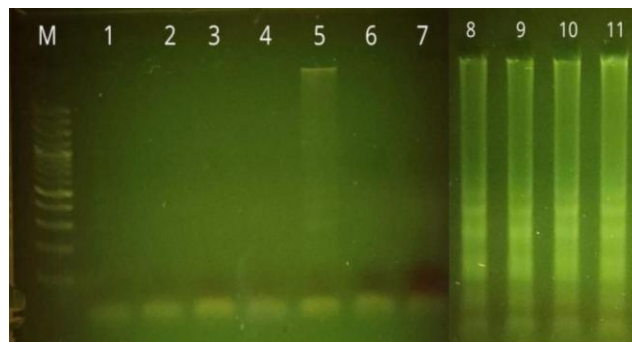
2.7. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan dengan melihat ada tidaknya pendaran yang didapatkan melalui *UV Transilluminator*. Pada elektroforesis hasil pengamatan didasarkan pada pembacaan pada munculnya pendaran pita DNA.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Optimasi

Optimasi pada metode RT-LAMP dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan kondisi atau waktu yang sesuai agar tercipta kondisi yang optimal. Waktu yang digunakan yakni, 10, 20, 30, 45, dan 60 menit. Sedangkan suhu yang digunakan yakni 65°C sesuai dengan rekomendasi daripada kit yang digunakan. Hasil optimasi ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis optimasi dengan PCR Konvensional. M (marker), 1-2 (10 menit), 3-4 (20 menit), 5-6 (30 menit), 7 (NTC), 8-9 (45 menit), 10-11 (60 menit)

Berdasarkan amplifikasi menggunakan *thermal cycler*, hasil elektroforesis menunjukkan pita DNA pada waktu 45 dan 60 menit. Pada waktu 10, 20, dan 30 menit tidak menunjukkan adanya pita DNA, hal ini menandakan bahwa waktu mempengaruhi amplikon yang terbentuk. Dibutuhkan suhu dan waktu yang sesuai untuk memperoleh efektifitas daripada metode RT-LAMP (Lahude, 2021). Namun muncul *smear* pada menit ke 30, hal ini disebabkan karena adanya kesalahan teknis dalam proses isolasi DNA (Rahayu *et al.*, 2015).

3.2. Pengambilan Sampel



Gambar 2. Sampel Saliva Pasien

Sampel *saliva* yang digunakan dari pasien dengan meludahkan ke dalam wadah yang telah disediakan sehingga mempermudah dan tidak menimbulkan rasa sakit pada pasien gambar 2. Hal ini sesuai dengan Skolimowska *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa penggunaan *saliva* dapat

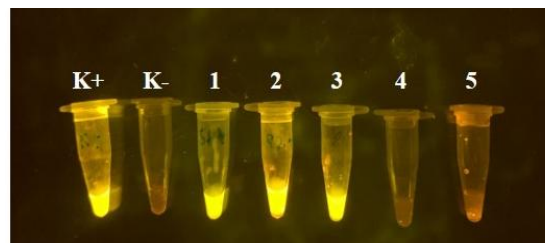
menghindari risiko paparan terhadap petugas kesehatan dan menguntungkan pasien karena tidak menimbulkan rasa sakit. *Saliva* berasal dari kelenjar ludah mayor dan minor, cairan krevikular gingiva, darah dari luka mulut, bakteri, virus, jamur, dan sel epitel (Nur & Yamamoto, 2022).

3.3. Inaktivasi Virus

Inaktivasi ampel air liur dari peserta selama 10 menit dengan panas pada suhu 95°C. Tujuan dari menggunakan inaktivasi panas pada sampel air liur adalah untuk mencegah virus SARS-CoV-2 menular kepada petugas kesehatan. Untuk mencegah kerusakan kualitas sampel, sampel air liur disimpan pada suhu -80 derajat Celcius untuk menghindari panas. Uji RT-LAMP dapat dilakukan dengan lebih mudah dengan memanaskan sampel liur pada suhu 95°C saat inaktivasi virus. Antibodi dan enzim yang dikenal sebagai inhibitor pada sampel air liur memiliki kemampuan untuk mempengaruhi ketidakstabilan RNA virus dan menghambat proses deteksi (Griesemer *et al.*, 2021). Menurut Priatni *et al.*, (2007) virus dapat diinaktifkan pada suhu 56°C dan 100°C. Semakin tinggi suhu pemansan, maka semakin besar untuk rusaknya virus yang disebabkan oleh denaturasi protein, sehingga akan menghilangkan efektivitas virus atau menyebabkan virus inaktif.

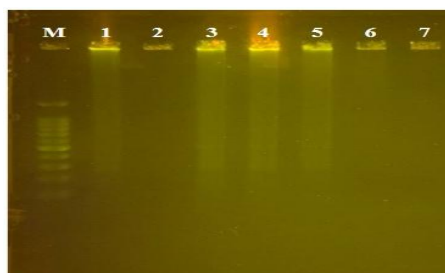
3.4. Uji RT-LAMP

Hasil optimasi menggunakan PCR Konvensional dengan suhu 65°C dan waktu 45 menit dijadikan sebagai acuan untuk melakukan uji RT-LAMP. Suhu dan waktu akan mempengaruhi efektivitas dari metode RT-LAMP, apabila suhu terlalu tinggi dan waktu terlalu lama dapat menyebabkan kegagalan amplifikasi, hal ini mungkin dikarenakan tidak menempelnya primer pada gen target. Kemudian suhu yang terlalu rendah dan waktu yang terlalu cepat juga dapat menyebabkan primer menempel pada sisi genom lain sehingga mengakibatkan spesifitas yang rendah pada hasil amplifikasi. Menurut penelitian dari Fitri *et al.*, (2021) yang menjelaskan bahwa hasil ekstraksi dipengaruhi oleh kecepatan waktu. Uji RT-LAMP menggunakan PCR Konvensional ditunjukkan pada gambar 3 dengan menggunakan suhu 65°C dan waktu 45 menit.



Gambar 3. Hasil Pengamatan menggunakan UV Transilluminator. K+ (kontrol positif), K- (NTC), 1-3 (Sampel Positif), 4-5 (Sampel Negatif).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, hasil Uji Efektifitas RT-LAMP menggunakan *thermal cycler* pada Gambar 6 menunjukkan bahwa pada sampel *saliva* terdapat pendaran pada kontrol positif dan ketiga sampel *saliva* positif pada tabung PCR yang disinari UV, tidak terdapat pendaran atau cahaya *fluorescence* pada kontrol negatif dan kedua sampel *saliva* negatif, sehingga memberikan hasil yang negatif.



Gambar 4. Visualisasi Hasil Elektroforesis Uji RT-LAMP. M (Marker), 1 (Kontrol Positif), 2 (NTC), 3-5 (Sampel Positif), 6-7 (Sampel Negatif).

Produk RT-LAMP ini kemudian dilakukan elektroforesis dalam gel agarosa untuk mengkonfirmasi hasil pendaran pada *UV Transilluminator*. Berdasarkan hasil elektroforesis yang disajikan pada gambar 4, produk amplifikasi uji RT-LAMP pada sampel *saliva* menunjukkan munculnya pita DNA pada kontrol positif dan ketiga sampel *saliva* positif SARS-CoV-2. Tidak terdapat pita DNA yang terlihat dalam sampel *saliva* negatif dan kontrol negatif *non template control*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nor *et al.*, (2023), menyatakan bahwa uji RT-LAMP yang digunakan untuk mendiagnosis SARS-CoV-2 menunjukkan hasil yang sesuai dan uji ini dapat digunakan untuk mendeteksi adanya virus SARS-CoV-2. Menurut Skolimowska *et al.*, (2020) menyatakan uji efektivitas penggunaan *saliva* sebagai sampel noninvasif menunjukkan hasil sensitivitas 83,3% dan spesifisitas 99,1%.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh dapat disimpulkan bahwa kondisi optimal metode RT-LAMP deteksi SARS-CoV-2 dengan sampel *saliva* menggunakan *thermal cycler* yaitu pada suhu 65°C dengan waktu 45 menit dan metode *Fluorescence Saliva Based* RT-LAMP menggunakan PCR Konvensional mampu mendeteksi dalam pemeriksaan diagnosis SARS-CoV-2, sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif pilihan dalam penggunaan diagnosis terkonfirmasi pasien positif COVID-19.

5. Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Laboratorium Molekuler Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta dan Laboratorium PKU Muhammadiyah Yogyakarta yang telah mengizinkan untuk melakukan penelitian. Selain itu, diucapkan terimakasih kepada Ibu Ika Afifah Nugraheni dan Ibu Annisa Khumaira yang telah membantu dalam penyusunan artikel ini.

Daftar Pustaka

- Abdelghany, T. M., Ganash, M., Bakri, M. M., Qanash, H., Al-Rajhi, A. M. H., & Elhussieny, N. I. (2021). SARS-CoV-2, the other face to SARS-CoV and MERS-CoV: Future predictions. *Biomedical Journal*, 44(1), 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.10.008>
- BNPB. (2022). *Update Percepatan Penanganan COVID-19 di Indonesia*.
- Corman, V., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Luisa Schmidt, M., GJC Mulders, D., Haagmans, B. L., van der Veer, B., van den Brink, S., Wijsman, L., Goderski, G., Romette, J.-L., Ellis, J., Zambon, M., ... Chantal, R. (2020). Detection of 2019 -nCoV by RT-PCR. *Euro Surveill*, 25(3), 1–8.
- Dudley, D. M., Newman, C. M., Weiler, A. M., Ramuta, M. D., Shortreed, C. G., Heffron, A. S., Accola, M. A., Rehrauer, W. M., Friedrich, T. C., & O'Connor, D. H. (2020). Optimizing direct RT-LAMP to detect transmissible SARS-CoV-2 from primary nasopharyngeal swab and *saliva* patient samples. *PLoS ONE*, 15(12 December). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244882>
- Esbin, M. N., Whitney, O. N., Chong, S., Maurer, A., Darzacq, X., & Tjian, R. (2020). Overcoming the bottleneck to widespread testing: A rapid review of nucleic acid testing approaches for COVID-19 detection. *Rna*, 26(7), 771–783. <https://doi.org/10.1261/rna.076232.120>
- Fitri, R. R. A., . F., & Prasetyo, E. (2021). Perbandingan Metode Pcr Konvensional Dengan Metode Pcr Portable Kit Untuk Deteksi Wssv Pada Udang Vannamei. *Jurnal Ruaya : Jurnal Penelitian Dan Kajian Ilmu Perikanan Dan Kelautan*, 9(1), 54–62. <https://doi.org/10.29406/jr.v9i1.2615>
- Griesemer, S. B., Van Slyke, G., Ehrbar, D., Strle, K., Yildirim, T., Centurioni, D. A., Walsh, A. C., Chang, A. K., Waxman, M. J., & St. George, K. (2021). Evaluation of specimen types and *saliva* stabilization solutions for SARS-CoV-2 testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(5), 1–13. <https://doi.org/10.1128/JCM.01418-20>
- Güner, R., Hasanoğlu, İ., & Aktaş, F. (2020). Covid-19: Prevention and control measures in community. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 50(SI-1), 571–577. <https://doi.org/10.3906/sag-2004-146>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>

- Kobayashi, G. S., Brito, L. A., Moreira, D. de P., Suzuki, A. M., Hsia, G. S. P., Pimentel, L. F., de Paiva, A. P. B., Dias, C. R., Lourenço, N. C. V., Oliveira, B. A., Manuli, E. R., Corral, M. A., Cavaçana, N., Mitne-Neto, M., Sales, M. M., Dell' Aquila, L. P., Filho, A. R., Parrillo, E. F., Mendes-Corrêa, M. C., ... Passos-Bueno, M. R. (2021). A novel *saliva* RT-LAMP workflow for rapid identification of COVID-19 cases and restraining viral spread. *Diagnostics*, 11(8), 1–19. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081400>
- Lahude, L. R. (2021). *Literature Review : Efektivitas Metode Reverse Transcription-Loop Mediated Isothermal Amplification (Rt-Lamp) Sebagai Uji Alternatif Virus Sars-Cov-2*. [http://digilib.unisayogya.ac.id/6068/1/NASKAH_PUBLIKASI_IKA_LAHUDE - Ika Lahude.pdf](http://digilib.unisayogya.ac.id/6068/1/NASKAH_PUBLIKASI_IKA_LAHUDE_-_Ika_Lahude.pdf)
- Li, C., Tang, B., Wang, Y., & Gu, B. (2020). Laboratory diagnosis of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Clinica Chimica Acta*, 510(January), 35–46.
- Nor, A. C. M., Zain, Z. M., & Noorden, M. S. A. (2023). Application and Modification of RT-LAMP for Rapid Detection of SARS-CoV-2 Viral Genome. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*, 18(2), 286–292. <https://doi.org/10.47836/mjmh.19.2.40>
- Nur, A., & Yamamoto, Z. (2022). *Saliva* sebagai sumber DNA genom manusia. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 22(2), 126–134. <https://doi.org/10.24815/jks.v22i2.23266>
- OptiGene Ltd. (2020). *LAMP User Guide – Mastermixes & Assay Optimisation Contents LAMP User Guide*. 44(0), 1–22.
- Priatni, D., Alifuddin, M., & Djokosetiyanto, D. (2007). Effect of Heating at Various Temperatures for 30 Minutes on Pathogenicity of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabr.). *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 5(1), 5. <https://doi.org/10.19027/jai.5.5-12>
- Rahayu, F., Saryono, & Nugroho, T. T. (2015). ISOLASI DNA DAN AMPLIFIKASI PCR DAERAH ITS rDNA FUNGI ENDOFIT UMBI TANAMAN DAHLIA (*Dahlia variabilis*) LBKURCC69. *Jom Fmipa*, 2(1), 100–106.
- Skolimowska, K., Rayment, M., Jones, R., Madona, P., Moore, L. S. P., & Randell, P. (2020). *Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information . January*.
- To, K. K. W., Tsang, O. T. Y., Yip, C. C. Y., Chan, K. H., Wu, T. C., Chan, J. M. C., Leung, W. S., Chik, T. S. H., Choi, C. Y. C., Kandamby, D. H., Lung, D. C., Tam, A. R., Poon, R. W. S., Fung, A. Y. F., Hung, I. F. N., Cheng, V. C. C., Chan, J. F. W., & Yuen, K. Y. (2020). Consistent detection of 2019 novel coronavirus in *saliva*. *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 841–843. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa149>
- Wyllie, A. L., Fournier, J., Casanovas-Massana, A., Campbell, M., Tokuyama, M., Vijayakumar, P., Warren, J. L., Geng, B., Muenker, M. C., Moore, A. J., Vogels, C. B. F., Petrone, M. E., Ott, I. M., Lu, P., Venkataraman, A., Lu-Culligan, A., Klein, J., Earnest, R., Simonov, M., ... Ko, A. I. (2020). *Saliva* is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID-19 patients than nasopharyngeal swabs TT - Published article: *Saliva* or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. *MedRxiv*, 2, 2020.04.16.20067835.
- Yamazaki, W., Matsumura, Y., Thongchankaew-seo, U., Yamazaki, Y., & Nagao, M. (2021). Development of a point-of-care test to detect SARS-CoV-2 from *saliva* which combines a simple RNA extraction method with colorimetric reverse transcription *loop*-mediated isothermal amplification detection. *Journal of Clinical Virology*, 136(January).