**POTENSI AGID SEBAGAI METODE DETEKSI ENZOOTIC BOVINE LEUCOSIS (EBL) PADA SAPI**

**Syarifah Alawiah**

**Laboratorium Virologi Balai Veteriner Lampung**

**Abstrak**

Balai Veteriner Lampung telah melaksanakan kegiatan aktif dan pasif servis terhadap EBL di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung. Tujuan kegiatan ini adalah untuk mendeteksi adanya penyakit EBL pada sapi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung pada tahun 2020 dan tahun 2021 dengan menggunakan metode uji AGID. Antibodi dapat dideteksi dengan uji AGID. Antibodi akan berdifusi melalui gel hingga bertemu dengan antigen terlarut. Jika antibodi dan antigen bersifat homolog maka akan terbentuk garis presipitasi antara antigen-antibodi Hasil uji sampel serum sapi tahun 2020 dari total 193 sampel menunjukkan hasil positif EBL 14 (7,25%) sampel dan negatif EBL 179 (92,75%) sampel, tahun 2021 dari total 112 sampel diperoleh nilai positif sebanyak 9 (8,3%) sampel dan nilai negatif sebanyak 103 (91,96%) sampel. Hal ini membuktikan bahwa metode AGID memiliki potensi yang baik dalam mendeteksi adanya EBL didalam serum darah sapi dan dapat digunakan untuk monitoring EBL secara serologis wilayah kerja Balai Veteriner Lampung. Pencegahan dan pengendalian penyakit EBL masih mengandalkan pada perbaikan manajemen pemeliharaan serta penerapan biosekuriti yang ketat dan tepat karena belum ada pengobataan terhadap penyakit virus ini.

Kata Kunci: EBL, AGID, Balai Veteriner Lampung

**Pendahuluan**

Meningkatnya kebutuhan masyarakat akan protein hewani dapat dilihat dari semakin berkembangnya peternakan sapi di Indonesia. Peningkatan ini harus diimbangi dengan perbaikan serta peningkatan manajemen pemeliharaan ternak sehingga peternak mampu memproduksi sapi yang sehat dan berkualitas. Sistim pemeliharaan yang kurang baik, faktor lingkungan yang kurang mendukung akan berdampak pada memburuknya kesehatan ternak. Berbagai macam kasus yang timbul didalam suatu peternakan tidak terlepas dari sistem manajemen pemeliharaan yang kurang terkendali. Hal ini tentunya akan berakibat pada kerugian secara ekonomi yang akan ditanggung oleh peternak sendiri. Berbagai macam penyakit dapat mengancam dunia peternakan di Indonesia salah satunya adalah Enzootic Bovine Leucosis (EBL). Penyakit EBL sebagai salah satu penyakit hewan yang dapat menimbulkan kerugian yang tidak sedikit terhadap dunia peternakan di Indonesia. Infeksi virus ini dapat menyerang sapi pada semua umur. Kerugian akibat penyakit ini pada peternakan diantaranya mempercepat masa afkir, menurunkan produksi susu dan menurunkan peforma reproduksi .Penyakit EBL adalah termasuk golongan penyaki Daftar A dan bersifat endemik, yaitu penyakit menular yang mempunyai potensi penyebaran yang sangat serius dan cepat, melewati batas negara yang menyebabkan konsekuensi yang serius terhadap sosial ekonomi atau kesehatan masyarakat dan kepentingan umum pada perdagangan hewan secara international (OIE, 2003).

Enzootic Bovine Leucosis (EBL) adalah suatu penyakit virus pada sapi dan kerbau yang disebabkan oleh Bovine Leukemia Virus (BLV), sejenis retrovirus dari Famili Retroviridae. Penyakit EBL ditandai dengan meningkatnya sel leukosit dalam darah dengan sel B limfosit sebagai target sel (Amills et al. 2004; Uera et al. 2012; Yoon et al. 2005; Konnai et al. 2013). Sapi terinfeksi apabila terpapar limfosit yang mengandung virus, sekresi dan sekresi.  Infeksi dapat ditularkan melalui darah meskipun dalam jumlah sedikit. Penyakit dapat menular melalui jarum suntik, peralatan tato, peralatan potong tanduk dan palpasi rektal yang menggunakan sarung tangan yang terkontaminasi virus. Susu yang berasal dari sapi terinfeksi dan dikonsumsi oleh anak sapi adalah penyebab penularan yang sering dijumpai.  Anak sapi yang mengkonsumsi kolostrum kurang dari 24 jam dapat terhindar dari infeksi virus ini (Kirkland dan Rodwell 2005). Boden (2005) dan OIE (2018) menambahkan bahwa [Sel mononuklir darah tepi](https://id.wikipedia.org/wiki/Sel_mononuklir_darah_tepi) yang terinfeksi dan sel tumor merupakan sumber penularan virus sehingga transfer darah atau produk darah merupakan cara penularan penyakit ini. Sebagian besar penularan berlangsung secara horizontal. Kontak erat antara sapi terinfeksi dan sapi rentan diduga merupakan [faktor risiko](https://id.wikipedia.org/wiki/Faktor_risiko) penularan. Lalat penggigit seperti [Tabanidae](https://id.wikipedia.org/wiki/Tabanidae) dapat berperan sebagai [vektor](https://id.wikipedia.org/wiki/Vektor_%28biologi%29). Transmisi virus secara alami berlangsung saat sapi melahirkan, sedangkan transmisi nonalami terjadi ketika darah yang mengandung virus menempel pada jarum, peralatan bedah, dan sarung tangan yang digunakan saat [inseminasi buatan](https://id.wikipedia.org/wiki/Inseminasi_buatan). Selain itu, keberadaan virus juga ditemukan di cairan tubuh lainnya, seperti leleran hidung dan mulut, air liur, dan air susu. Namun, mereka tidak cukup terbukti berperan dalam menularkan penyakit dan dianggap noninfeksius.Infeksi virus ini dapat menyerang sapi pada semua tingkatan umur termasuk pada embrio sapi.  Pada umumnya infeksi bersifat subklinis, tetapi pada sapi berumur diatas 3 tahun menunjukkan gejala limpositosis dan terdapat limposarkoma pada organ internal. Secara alamiah infeksi dapat terjadi pada Kerbau air dan Kapibara. Gejala klinis ditunjukkan berdasar pada organ yang diserang.  Sapi yang menunjukkan gejala limposarkoma biasanya mati dengan cepat atau dalam waktu beberapa minggu atau beberapa bulan setelah munculnya gejala klinis (OIE 2012). Infeksi yang disebabkan oleh BLV merupakan infeksi persisten dan kronik dengan tahapan sebagai berikut: pada tahap awal hewan yang terinfeksi tidak memperlihatkan gejala klinis ataupun kelainan hematologis dan hewan tersebut akan bersifat sebagai carrier, pada tahap kedua dijumpai adanya perubahan gambaran darah dengan terjadinya peningkatan jumlah limfosit persisten, dan bentuk limfosarkoma dimana terjadi perubahan yang tampak secara klinis yaitu munculnya tumor yang diikuti dengan bentuk limfosit persisten (Sharifzadeh et al. 2011).  Sapi yang terinfeksi oleh virus BLV akan membentuk antibodi dalam jangka waktu yang lama (Balic et al. 2012).. Setelah terjadi infeksi, BLV akan memicu sistem imun pada sapi dewasa sebagai respon tanggap kebal yang kuat terhadap amplop protein gp51. Antibodi ini dapat dideteksi dengan Uji AGID dan juga ELISA (Forti et al. 2014; Murakami et al. 2011).

Melihat titer antibodi dalam serum, dapat dilakukan dengan berbagai cara. Salah satu teknik yang sering digunakan adalah Agar Gel Presipitation Test (AGPT) atau AGID. Uji ini dilakukan untuk melihat ikatan kompleks antara antigen terlarut dan antibodi pada agar gel. Ikatan ini akan terjadi jika menggunakan antibodi yang homolog. Antibodi homolog yang dirangkaikan dengan antigen terlarut dengan kondisi tepat akan membentuk komplek, dan pada konsentrasi yang setimbang, campuran tersebut akan menjadi keruh dan membentuk presipitat. Konsentrasi antigen dan antibodi merupakan faktor penting dalam uji presiptasi. ketika rasio antara antigen dan antibodi seimbang, maka akan terbentuk ikatan silang yang ekstensif dan terjadi pembentukan kisi-kisi. Kisi-kisi ini kemudian menjadi besar, tidak larut dan akhirnya mengendap. Kompleks antigen antibodi yang mengendap akan terlihat sebagai garis berwarna putih yang disebut garis presipitasi (Tizard, 2004). Pendapat yang sama juga disampaikan oleh Wibawan et al. (2009) bahwa teknik Agar Gel Precipitation Test (AGPT) merupakan salah satu teknik immunodifusi yang bertujuan untuk menetapkan atau menganalisis antigen maupun antibodi secara kualitatif dan kuantitatif. Antigen yang dimasukkan ke dalam sumur di bagian tengah akan berdifusi ke daerah sekitarnya, hal yang sama juga terjadi pada antibodi yang diletakkan pada sumur di sekeliling antigen. Antibodi akan berdifusi melalui gel hingga bertemu dengan antigen terlarut. Jika antibodi dan antigen bersifat homolog maka akan terbentuk garis presipitasi antara antigen-antibodi. Wibawan et al. (2009) menambahkan bahwa reaksi presipitasi terjadi apabila titer immunoglobulin berada pada titer di atas 27 sehingga teknik ini dipilih karena nilai positif pada AGPT mencerminkan kandungan antibodi yang cukup besar di dalam serum. AGPT dilakukan untuk melihat reaksi pengendapan antigen oleh antibodi spesifik. Pengendapan antigen oleh antibodi ini diperlihatkan oleh adanya garis presipitasi pada media agar gel. Jika sediaan antibodi tidak homolog dengan antigen maka tidak akan terbentuk garis presipitasi (Natih et al., 2010).

Dampak secara ekonomi akibat virus adalah adanya larangan pemasukan temak, semen dan embrio dari negara yang tertular EBL (Gutierrez et al. 2009).Adanya Importasi sapi juga menjadi salah satu peluang membawa virus EBL masuk ke Indonesia dan dapat menular pada sapi yang ada di Indonesia terutama sapi bibit. Balai Veteriner Lampung yang memiliki wilayah kerja di Sumatera Bagian Selatan memiliki tanggung jawab yang besar dalam penyidikan dan pengujian penyakit hewan, terutama di peternakan sapi yang berada diwilayah kerjanya. Mengingat besarnya kerugian ekonomi yang ditimbulkan oleh penyakit EBL maka Balai veteriner Lampung telah melaksanakan kegiatan aktif service yaitu monitoring/surveilans serta pasif service terhadap penyakit EBL selama beberapa tahun terakhir ini.

Tujuan kegiatan ini adalah untuk mendeteksi adanya penyakit EBL pada sapi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung pada tahun 2020 dan tahun 2021 dengan menggunakan metode uji AGID.

**Materi dan Metode**

Bahan menggunakan kit AGID yang berasal dari kit yang telah divalidasi. Sampel adalah serum darah sapi asal lapang dari wilayah kerja Balai Veteriner Lampung yang terima di laboratorium selama periode Jamuari-Desember 2020 dan Januari-Desember 2021. Serum tersebut memenuhi kriteria uji yaitu tidak hemolisa, berwarna bening kekuningan dan berbau aromatis. Serum diinaktifkan pada suhu 56o C selama 30 menit. Alat yang digunakan adalah mikropipet, cawan patri, pelubang agar dan mini container sebagai tempat inkubasi.

**Uji serologik dengan agar gel immunodifusi (AGID)**

Uji ini menggunakan agar rose yang telah dilarutkan dan dicetak didalam cawan petri. Dibuat lubang pada agar gel sesuai dengan patern yang telah disiapkan. Setiap patern dibuat 7 lubang. 1 lubang untuk diisikan antigen, 1 lubang untuk antiserum positif , 1 lubang untuk antiserum negatif dan 4 lubang untuk sampel. Semua lubang diberi nomor dimulai dengan no.1 di bagian atas dan memutar searah jarum jam kenomor berikutnya. Lubang yang di tengah diisi dengan antigen volume 32 µl, lubang yang ada di atas (no. 1) diisi dengan antiserum negatif, lubang dibawah (no.4) diisi dengan antiserum positif masing-masing volume 73 µl. Lubang lainnya diisi dengan sampel serum , masing-masing volume 73 µl. Agar yang telah diisi dengan antigen, antiserum negatif, antiserum positif, dan sampel serum diinkubasikan di dalam mini container yang telah ditambahkan dengan kapas yang telah diberi air untuk menjaga agar kondisi didalam tetap lembab lalu diinkubasikan pada suhu kamar. Diamati setiap hari selama 24, 48 dan 72 jam.

Interpretasi hasil: Serum positif antibodi ditunjukkan dengan adanya garis presipitasi penuh atau sebagian dengan ciri yang sama dengan garis presipitasi yang terbentuk oleh antiserum positif. Apabila garis presipitasi terlihat tidak penuh atau berbelok dari antiserum positif maka diinterpretasikan sebagai serum positif lemah. Sedangkan serum negatif antibodi akan menunjukkan tidak ada garis presipitasi dengan anti serum positif. Masing-masing hasil interpretasi diberi skor dari negatif (-) sampai positif kuat (> 3+) tergantung pada kuat dan jarak garis presipitasi yang terbentuk (OIE, 2004).

.  

Gambar 1: P.C. Smith and W.C.Stewart (1978) Gambar 2:Texas Departemen of State Health Service

**Hasil**

Pengujian menggunakan metode AGID dilakukan untuk mendeteksi adanya antigen EBL didalam serum darah sapi. Balai Veteriner Lampung telah melakukan pengujian dengan menggunakan metode AGID terhadap sampel serum darah sapi selama periode Januari-Desember tahun 2020 sebanyak 193 sampel dan Januari-Desember tahun 2021 sebanyak 112 sampel. Data hasil uji dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2.

Tabel 1. Rekaman Hasil Uji AGID *Enzootic Bovine Leukosis (EBL)* dari Januari – Desember tahun 2020 di Laboratorium Virologi Balai Veteriner Lampung

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Jenis Hewan** | **Hasil** | **Jumlah** |
| **Positif** | **Negatif** |  |
| Sapi bibi | 1 | 12 | 13 |
| Sapi bibit | 5 | 58 | 63 |
| Sapi bibit | 1 | 3 | 4 |
| Sapi bibit  | 1 | 11 | 12 |
| Sapi bibit | 6 | 95 | 101 |
| **Jumlah Total** | **14** | **179** | **193** |

Hasil yang terlihat pada Tabel 1 adalah dari 193 serum sapi yang diuji semua berasal dari sapi bibit, sampel ini diidentifikasi dengan menggunakan metode AGID. Hasil uji menunjukkan hasil positif EBL 14 (7,25%) sampel dan negatif EBL 179 (92,75%) sampel.

Tabel 2. Rekaman Hasil Uji AGID *Enzootic Bovine Leukosis (EBL)* dari Januari – Desember tahun 2021 di Laboratorium Virologi Balai Veteriner Lampung

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Jenis Hewan** | **Hasil** | **Jumlah** |
| **Positif** | **Negatif** |
| Sapi bibit | 0 | 5 | 5 |
| Sapi bibit | 5 | 62 | 67 |
| Sapi bibit | 4 | 36 | 40 |
| **Jumlah Total** | **9** | **103** | **112** |

Data yang tertera pada tabel 2, yaitu dari 112 sampel serum darah yang diuji, semua juga adalah berasal dari sapi bibit. Hasil uji menunjukkan bahwa 9 (8.03%) sampel positif EBL, dan 103 (91,96 %) sampel negatif EBL.Terlihat adanya penurunan nilai positif EBL pada tahun 2021 dibandingkan tahun 2020 yaitu terjadi penurunan 0,78%, hal ini seiring dengan penurunan sampel dari 193 sampel pada tahun 2020 menjadi 112 sampel pada tahun 2021. Hasil positif membuktikan juga bahwa wilayah kerja Balai Veteriner Lampung masih ditemukan adanya EBL terutama pada sapi bibit. Penurunan jumlah sampel serta adanya penurunan nilai positif EBL kemungkinan bisa disebabkan karena beberapa faktor yaitu adanya perbaikan manjemen pemeliharaan ternak, penerapan biosekuriti yang lebih baik dan ketat dilingkungan peternakan, adanya pemahaman dari peternak akan kerugian yang ditimbulkan oleh oleh EBL, serta adanya peran pemerintah dalam memberikan edukasi terkait dengan kesehatan hewan.

**Pembahasan**

Sebagian besar sampel yang diuji dengan metode AGID di Balai Veteriner Lampung adalah sampel yang berasal dari peternakan perbibitan sapi. Wilayah kerja Balai Veteriner Lampung yang merupakan lumbung ternak di Pulau Sumatera mememiliki banyak peternakan pembibitan sapi. Faktor kedekatan dengan pulau Jawa merupakan salah satu alasan yang menyebabkan beberapa perusahaan pembibitan sapi didirikan di Wilayah kerja Balai Veteriner Lampung sehingga ini memiliki nilai strategis dalam upaya mendukung peningkatan akan kebutuhan protein hewani masyarakat. Pengembangan usaha peternakan pembibitan sapi harus didukung oleh kemampuan manajemen yang baik dalam sistim pemeliharaannya.

Kurang maksimalnya penerapan biosekuriti dilingkungan peternakan menyebabkan penyakit EBL sulit untuk di atasi. Hasil positif yang ditunjukkan dari data pengujian sampel oleh Balai Veteriner Lampung merupakan suatu gambaran bahwa bahwa suatu peternakan akan terbebas dari BLV apabila hewan yang memiliki seropositif dipisahkan dari kelompok hewan yang seronegatif (Lorin, et al. 2007). Sapi yang terinfeksi oleh virus BLV akan membentuk antibodi dalam jangka waktu yang lama (Baliey et al. 2012) Sementara itu, masalah lain juga timbul dengan hewan yang menunjukkan titer antibodi terhadap BLV secara permanen rendah (Stone et al. 2000) . Lebih lanjut Beier et al. (2004) melaporkan bahwa uji serologis tidak dapat membedakan antara antibodi maternal dan kekebalan aktif yang disebabkan oleh infeksi BLV. Dibutuh data dukung untuk memastikahn apakah hasil positif disebabkan oleh infeksi lapang ataupun bukan, terutama pada daerah yang tidak menerapkan vaksinasi EBL, maka terdeteksinya antibodi terhadap virus BLV yang menyebabkan penyakit EBL dapat dikonfirmasi sebagai infeksi alami. Terdeteksinya antibodi terhadap virus BLV tidak selalu diiringi dengan munculnya gejala klinis (Jimba et al. 2012). Tidak munculnya gejala klinis dan tidak terdeteksinya antibodi terhadap BLV bukan berarti hewan tersebut tidak terinfeksi virus BLV. Hal ini dapat disebabkan oleh jumlah virus BLV yang sangat sedikit sehingga tidak dapat menggertak sistem kekebalan tubuh untuk menghasilkan antibodi yang dapat terdeteksi dengan uji serologis baik dengan uji AGID atau ELISA. (Jimba et al. 2012; Inoue et al. 2013; Aida et al. 2014). González et al. (2008) melaporkan bahwa hewan yang secara terus-menerus terinfeksi bovine virus diare (BVD), menunjukkan terjadi penurunan respon kekebalan terhadap BLV.

Pencegahan dan pengendalian penyakit EBL masih mengandalkan pada perbaikan manajemen pemeliharaan serta penerapan biosekuriti yang ketat dan tepat karena belum ada pengobataan terhadap penyakit virus ini. Rekomendasi yang diberikan pada peternakan yang teridentifikasi adanya EBL adalah: melakukan identifikasi hewan yang terinfeksi dengan menggunakan uji serologis. Selanjutnya dilakukan pengafkiran hewan yang menunjukkan hasil seropositif sesegera mungkin. Jika ditemukan hasil positif dilakukan pengujian ulang terhadap ternak dalam waktu 30-60 hari. Melakukan uji PCR pada pedet dan sebagai uji komplementer pada kawanan dengan prevalensi rendah. Melakukan uji ulang dan mengafkirkan ternak terinfeksi sehingga seluruh kawanan ternak dinyatakan bebas. Pengujian kemudian diulang setiap 6 bulan. Kawanan ternak dinyatakan bebas setelah tidak ditemukan hasil test yang positif setelah 2 tahun (Merck, 2014). Pembatasan terhadap lalu lintas atau berpindahnya ternak dari ternak terinfeksi ke ternak bebas adalah merupakan prinsip dasar pencegahan.

**Kesimpulan**

Metode uji Agar Gel Immuno Defussion (AGID) memiliki potensi yang baik untuk mendeteksi sampel serum darah sapi yang diuji di Balai Veteriner Lampung dari tahun 2020 sampai tahun 2021. Hasil uji EBL tahun 2020 dari jumlah 193 sampel didapat hasil positif 14 (7,25%) sampel, tahun 2021 dari jumlah 112 sampel hasil positif 9 (8,03%) sampel . Hal ini membuktikan bahwa metode AGID dapat digunakan dalam monitoring EBL secara serologis wilayah kerja Balai Veteriner Lampung

**Daftar Pustaka**

Aida Y, Takeshima S, Panei CJ, Omori T, Nunoya T, Davis WC, Ishizaki H, Matoba K. 2014. BLV

CoCoMoqPCR: Estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leucosis. Retrovirology, 11(Suppl 1):P143.

 Amills M, Norimine J, Olmstead CA, Lewin HA. 2004. Cytokine mRNA expression in B cells from bovine leukemia virus-infected cattle with persistent lymphocytosis. Cytokine. 28:25-28.

Bailey. Regina. 2012. Polymers, download on Maech 10, 2012 from http://biology.about.com/od/molecularbiology/ss/polymers.htlm

Balic D, Lojkic I, Periskic M, Bedekovic T, Jungic A, Lemo N, Roic B, Cac Z, Barbic L, Madic J .2012. Identification of a new genotype of bovine leukemia virus. Arch Virol. 157:1281-1290

Beier D, Riebe R, Blankenstein P, Starick E. 2004. Establishment of a new bovine leukosis virus producing cell line. J Virol Methods. 121:239-246

Boden, Edward,ed. 2005. Black’s veterinary dictionary(edisi ke 21). London:A &C Black.

Forti K, Rizzo G, Cagiola M, Ferrante G, Marini C, Feliziani F, Pezzotti G, De Giuseppe F. 2014. Identification of a novel overlapping sequential E epitope (E0) on the bovine leukaemia virus SU glycoprotein and analysis of immunological data. Vet Microbiol. 172:157-167.

González ET, Licursi M, Vila RV, Bonzo E. 2008. Evidence of bovine immunodeficiency virus (BIV) infection: serological survey in Argentina. Res Vet Sci. 85:353- 358

Gutierrez G, Alvarez I, Fondevila N, Politzki R, Lomonaco M, Rodrıguez S, Dus Santos MJ, Trono K. 2009. Detection of bovine leukemia virus specific antibodies using recombinant p24-ELISA. Vet Microbiol 137. 224–234.

Inoue E, Matsumura K, Soma N, Hirasawa S, Wakimoto M, Arakaki Y, Takashi Yoshida T, Osawa Y, Okazaki K. 2013. L233P mutation of the Tax protein strongly correlated with leukemogenicity of bovine leukemia virus. Vet Microbiol. 167:364-371.

Jimba M, Takeshima S, Murakami H, Kohara J, Kobayashi N, Matsuhashi T, Ohmori T, Nunoya T, Aida Y. 2012. CoCoMo-qPCR: a useful tool for evaluating bovine leukemia virus infection status. BMC Veterinary Research 2012, 8:167 http://www.biomedcentral.com /1746-6148/8/167

Kirkland PD dan Rodwell BJ. 2005.  Enzootic Bovine Leukosis.  Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures.1-14.

Konnai S, Suzukia S, Shirai T, Ikebuchia R, Okagawa T, Sunden Y, Mingala CN, Onuma M, Murata S, Ohashi K. 2013. Enhanced expression of LAG-3 on lymphocyte subpopulations from persistently lymphocytotic cattle infected with bovine leukemia virus. Comp Immun Microbiol Infect Dis. 36:63-69.

Lorin A, Lins L, Stroobant V, Brasseur R. 2007.Determination of the minimal fusion peptide of bovine leukemia virus gp30. Biochem Biophys Res Commun. 355:649-653.

Merck. 2014. Overview of Bovine Leukosis. The Merck Veterinary Manual. [Internet]. [diunduh 2014 Desember 29]. Tersedia pada: <http://www.merckmanuals.com/vet/generalized_conditions/bovine_leukosis/overview_of_bovine_leukosis.html?qt=Enzootic%20Bovine%20Leukosis%20&alt=sh>

Murakami K, Kobayashi S, Konishi M, Kameyama K, Yamamoto T, Tsutsui T. 2011. The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle. Vet Microbiol. 148:84-88

Natih et al. 2010. Preparasi Imunoglobulin G Kelinci sebagai Antigen Penginduksi Antibodi Spesifik Terhadap Virus Avian Influenza H5N1 Strain Legok. Jurnal Veteriner. 11 (2): 99-106.

Office International Des Epizooties (OIE). 2004. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal. World Organisation for Animal Health 4: 258 – 269.

Office Internationale des Epizooties (OIE) . 2012. Enzootic Bovine Leukosis. OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.4.11.

Office International Des Epizooties (OIE). 2018. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animal. World Organisation for Animal Health. Chapter 3.4.9.

P.C. Smith and W.C.Stewart. 1978. Agar-Gel Immunodiffusion Assay for Pseudorabies Virus Antibody. National Animal Disease Center, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Ames, Iowa 50010.

 Sharifzadeh A, Abbas D, Payam GD. 2011. Molecular detection of Bovine Leukemia virus (BLV) in the Semen Samples of Bulls. World J Zoology. 6:285-290

Stone DM, Norton LK, Chambers JC, Meek WJ. 2000. CD4 T lymphocyte activation in Blinduced persisten B lymphocytosis in cattle. Clin Immunol. 96:280-288.

Texas Health and Human Servive. Texas Departemen of State Health Service. Immunodiffusion. Laboratory Service Section.

Tizard, I. 2004. Veterinary Immunology. An Introduction. 7th. ed. W.B. Saunders Company

 Uera JA, Ventura Lazaro JV, Mingala CN. 2012. Detection of Enzootic Bovine Leukosis in Cattle using Nested Polymerase Chain Reaction Assay. Thai J Vet Med. 42:319-324.

Wibawan, IWT., S. Murtini, RD. Soejoedono, IGNK. Mahardika. 2009. Jurnal Veteriner. 10 (3):118- 124.

Yoon SS, Bae YC, Lee KH, Han B, Han HR. 2005. Characteristics of Bovine Lymphoma Caused by BovineLeukemia Virus Infection in Holstein-Friesian Dairy Cattle in Korea. Asian-Aust. J Anim Sci. 18:728-733

.