**PRE ELIMINARY TEST ELISA NSP PENYAKIT MULUT DAN KUKU**

**DI BALAI VETERINER LAMPUNG**

**Alawiah. S dan Kurdiwa, R.R**

**Laboratorium Virologi Balai Veteriner Lampung**

**Abstrak**

Balai Veteriner Lampung melakukan pengujian PMK terhadap ternak yang akan dilalulintaskan dengan metode Elisa NSP. Elisa NSP merupakan pengujian terhadap kandungan antibody terhadap protein non structural PMK yang menjadi salah satu pilihan selain metode RT-PCR. Tujuan pengujian adalah uji pendahuluan untuk melihat kesesuaian hasil uji antara hasil uji menggunakan metode Elisa NSP PMK dengan hasil uji menggunakan metode RT-PCR PMK. Pengujian ini menggunakan Kit Elisa NSP PMK yang telah divalidasi dan 12 sampel serum sapi. Metode uji sesuai dengan instruksi kerja yang terdapat pada Kit yang tersedia. Hasil uji dengan Elisa NSP hasil positif adalah sebayak 3 (25%) sampel, negatif 7 (58,33%) sampel dan sisanya adalah sampel suspect yaitu 2 (16,67%). Pengujian menggunakan RT-PCR hasil positif sebanyak 10 (83,22%) sampel, negatif 2 (16,67%) sampel. Hasil uji yang ditunjukkan oleh kedua metode ini sesuai dengan fase perjalanan penyakit pada sapi yang menunjukkan gejala klinis. Dapat disimpulkan bahwa uji pendahuluan yang telah dilakukan terhadap 12 sampel serum sapi yang diuji dengan metode uji Elisa NSP PMK memiliki kesesuaian hasil dengan uji menggunakan metode RT-PCR PMK.

Kata Kunci: PMK, Elisa NSP, Balai Veteriner Lampung

**Pendahuluan**

Dunia peternakan di Indonesia saat ini sedang menghadapi ujian berupa wabah Penyakit Mulut dan Kuku (PMK), yang berkembang secara cepat. Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) adalah penyakit hewan menular yang paling ditakuti oleh semua negara di dunia karena kerugian ekonomi dan sosial yang ditimbulkan sangat besar. Penyakit ini disebabkan oleh virus dari genus Aphthovirus yang merupakan virus yang berjangkit di sebagian besar belahan dunia, seringkali menyebabkan epidemi yang luas pada sapi dan babi piaraan (Grubman & Baxt 2004). Beberapa Propinsi di Indonesi saat ini sedang berjuang menghadapi PMK.

Morbiditas penyakit ini sangat tinggi tetapi mortalitasnya rendah dan sangat cepat menular (*highly contagious*) (Rushton dan Knight-Jones, 2013).Melihat tingginya kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit ini maka pemerintah mengeluarkan Surat Edaran (SE) dari Satuan Tugas (SATGAS) No. 4 Tahun 2022 mengenai Pengendalian Lalu Lintas Hewan Rentan Penyakit PMK dan Produk Hewan Rentan PMK Berbasis Zonasi, dimana pengujian menggunakan metode Elisa NSP atau metode RT-PCR merupakan pilihan dalam lalu lintas hewan rentan dan produk hewan rentan tersebut.

Balai Veteriner Lampung yang memiliki wilayah kerja di empat propinsi yaitu Lampung, Sumatera Selatan, Bengkulu dan Bangka Belitung, memiliki tanggung jawab yang besar terhadap penanggulangan PMK diwilayahmya karena beberapa kabupaten telah menjadi daerah yang terkomfirmasi positif PMK. Tingginya populasi ternak sapi serta adanya lalu lintas ternak dari daerah bebas ke daerah tertular atau dari daerah tertular ke daerah tertular maka menjadi salah satu tugas Balai Veteriner Lampung melakukan pengujian terhadap ternak yang akan di lalu lintaskan.

Elisa NSP merupakan pengujian terhadap kandungan antibody terhadap protein non struktural PMK yang terdapat dalam serum hewan yang peka PMK. Prinsip dari pengujian ini adalah ELISA competitive untuk mendeteksi antibodi terhadap protein non struktural 3ABC virus PMK dalam serum. Penggunaan NSP untuk menghindari penggunaan 7 serotipe secara terpisah (Aftosa, 2014).Selain Elisa NSP pengujian mengunakan metode RT-PCR juga salah satu pilihan untuk ternak yang akan dilalu lintaskan. Dalam pelaksanaannya setiap kegiatan lalu lintas ternak prinsip ekonomi akan sangat diperhitungkan, pemilihan metode pengujian yang lebih murah akan menjadi pilihan untuk menekan biaya pengeluaran sehingga Elisa NSP akan menjadi salah satu pilihan karena pengujiannya jauh lebih murah jika dibandingkan metode RT-PCR dengan lama waktu pengujian yang hampir sama. Metode uji RT-PCR telah terlebih dahulu digunakan di Balai Veteriner Lampung yaitu digunakan untuk menguji sampel yang menunjukkan gejala klinis dari hasil investigasi maupun dari kiriman costumer. Perlu pembuktian apakah Elisa NSP PMK memiliki akurasi hasil yang sama dengan metode uji RT-PCR PMK.

Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) merupakan penyakit yang dapat ditemukan dibanyak negara di dunia dan dapat menular dengan sangat cepat, terutama pada hewan berkuku belah (Grubman & Baxt 2004; Wernery & Kinne 2012; Jamal & Belsham 2013). Penyakit ini di sebabkan oleh virus dari genus aphthovirus,dari famili Picornaviridae (Grubman 2003 &Nuradjiet al, 2013). Penyakit PMK dapat ditemukan pada sapi, babi, kambing, domba, kerbau dan beberapa hewan liar antara lain rusa, antelope, kangguru (Bhattacharya et al. 2003), gajah (Alexandersen & Mowat 2005), tapir (Weaver et al. 2013) dan beruang (Officer et al. 2014). Virus PMK berukuran kecil (± 20 milimikron), tidak ber-amplop/ tanpa lapisan lemak dan memiliki capsid yang kuat sehingga virus ini sangat tahan terhadap desinfektan yang cara kerjanya melarutkan lemak. Berdasarkan sifat dan struktur virus tersebut tidak semua jenis desinfektan peka terhadap virus ini. Hewan yang terinfeksi PMK dapat mengeksresikan virus pada cairan vesikel yang terkelupas, udara pernafasan, saliva, susu, semen, feces dan urin. Hewan tertular yang masih dalam status preklinis, yaitu belum menampakkan gejala klinis yang jelas ternyata dapat mengeksresikan virus. Kenyataan ini sangat berbahaya mengingat ada kemungkinan hewan yang belum menunjukkan gejala klinis tersebut dijual atau dipotong sehingga berpotensi menyebarkan penyakit pada hewan peka lainnya. Masa inkubasi dipengaruhi oleh strain virus PMK, jumlah virus dan rute infeksi. Untuk infeksi alami dalam jumlah yang besar, masa inkubasi berkisar antara 2-3 hari, akan tetapi apabila jumlahnya sedikit, maka inkubasi bisa mencapai 10-14 hari. (Harjanti, 2022)

Sampai saat ini terdapat tujuh serotipe virus PMK yaitu:O, A, C, Asia 1, SAT 1, SAT 2 dan SAT 3 yang dilaporkan (Grubman &Baxt 2004; OIE 2012; Jamal & Belsham 2013). Menurut Bari,et al (2014) Setiap serotipe memiliki suatu spektrum subtipe-subtipe yang berbeda secara antigenik disebabkan oleh tingkat mutasi yang tinggi. Proteksi silang (cross protection) antara serotipe virus PMK bahkan juga antara subtipe dalam satu strain sangat kecil terjadi atau bahkan tidak ada. Serotipe suatu virus PMK yang terlibat dalam suatu wabah tidak bisa dipastikan berdasarkan gejala klinis. Jadi penentuan serotipe virus PMK penyebab wabah harus ditentukan melalui metoda laboratorium sesegera mungkin untuk memungkinkan dilaksanakannya program vaksinasi yang tepat dan benar untuk mengendalikan wabah. Di Indonesia, kejadian PMK pertama kali dilaporkan pada tahun 1887 di Malang.Penyakit ini kemudian menyebar ke Sumatera, Jawa, Sulawesi, Kalimantan, Bali dan NusaTenggara. Pembebasan penyakit ini di Indonesia diawali dengan status bebas di Bali pada tahun 1978, Jawa Timur pada tahun 1981, dan Sulawesi Selatan pada tahun 1983. Indonesia dinyatakan bebas penyakit PMK pada tahun 1986 (Soehadji & Setyaningsih 1994).Tahun 2022 Indonesia tidak lagi bebas PMK dengan munculnya kembali PMK di Jawa Timur yang dikonfirmasi oleh PUSVETMA pada tanggal 5 Mei 2022.

Gejala klinis penyakit ini ditandai dengan adanya pembentukan vesikel atau lepuh dan erosi di mulut, lidah, gusi, nostril, puting, dan di kulit sekitar kuku, pincang dan bahkan kuku bisa terlepas, hipersalivasi,  hewan lebih sering berbaring; pada ternak potong terjadi penurunan bobot badan dan pada ternak perah terjadi penurunan produksi susu yang drastis. Morbiditas biasanya tinggi mencapai 100%, namun mortalitas/tingkat kematian untuk hewan dewasa biasanya sangat rendah, akan tetapi pada hewan muda bisa mencapai 50%. Pada pedet, dengan pemeriksaan post mortem, bisa ditemukan adanya perubahan pada otot jantung (myocardium) berupa adanya garis-garis loreng, putih, abu-abu atau kekuningan yang sering disebut dengan istilah tiger heart. Pemeriksaan patologi ini hanya penting dilakukan untuk membuat diagnosa banding untuk penyakit lain selain PMK (Harjanti,2022). Menurut Makruf ( 2015) beberapa penyakit dapat dikelirukan dengan PMK. PMK memiliki beberapa Diferensial diagnose atau diagnosa banding antara lain Vesicular Stomatitis, Exanthema Vesicular pada babi, Swine vesicular disease (SVD), Penyakit sampar pada sapi, Bovine Viral Diarrhea Virus - Mucosal Disease (BVDV-MD), Jembrana. Kasus khas PMK ditandai dengan kondisi vesikular pada kaki, mukosa mulut dan pada betina ditandai dengan pembengkakan kelenjar susu serta lesi di area puting susu.

Ada beberapa pengujian yang digunakan untuk mendeteksi PMK baik itu isolasi virus, serologi atau molekuler dengan PCR (Reid et al. 2000; Grubman & Baxt 2004; Ma et al. 2011; OIE 2012; Chen et al. 2013). Uji serologis bertujuan untuk mendeteksi antibodi yang dihasilkan dari infeksi atau vaksinasi menggunakan uji Non Struktural Protein atau uji Suktrural Protein (OIE, 2022)Deteksi antibodi terhadap NSPs dari PMK dapat digunakan untuk mengidentifikasi infeksi masa lalu atau sekarang dengan salah satu dari tujuh serotipe virus, apakah hewan tersebut juga telah divaksinasi atau tidak. Oleh karena itu tes dapat digunakan untuk mengkonfirmasi dugaan kasus PMK dan untuk mengevaluasi prevalensi infeksi atau untuk membuktikan kebebasan dari infeksi berdasarkan populasi. Untuk mensertifikasi hewan untuk perdagangan, tes memiliki keunggulan dibandingkan metode SP sehingga serotipe virus tidak perlu diketahui. Namun, ada bukti eksperimental bahwa beberapa sapi, yang divaksinasi dan kemudian ditantang dengan virus hidup dan dipastikan terinfeksi terus menerus, mungkin tidak terdeteksi dalam beberapa tes anti-NSP, menyebabkan hasil negatif palsu (Brocchi et al., 2006). Protein non-struktural (NSP) merupakan protein yang terdapat pada capsid virus Penyakit Mulut dan Kuku (PMK). Capsid ini mengelilingi permukaan virus. Protein NSP virus PMK dikode oleh gen 2AB, 2B, 2C, 3ABC dan 3D. Protein NSP ini tidak bereaksi dengan serum hasil vaksinasi. ELISA NSP merupakan pengujian terhadap kandungan antibody terhadap protein non structural PMK yang terdapat dalam serum hewan yang peka PMK. Prinsip dari pengujian ini adalah ELISA competitive untuk mendeteksi antibodi terhadap protein non struktural 3ABC virus PMK dalam serum. Penggunaan NSP untuk menghindari penggunaan 7 serotipe secara terpisah dan dapat membedakan hewan yang divaksinasi dengan hewan yang terinfeksi virus PMK di lapangan karena Protein NSP ini tidak bereaksi dengan serum hasil vaksinasi (Aftosa, 2014). Uji NSP dapat digunakan untuk menyaring serum karena infeksi atau transmisi semua serotipe PMK terlepas dari status vaksinasi hewan asalkan vaksin tersebut memenuhi standart *Panduan Terestrial* sehubungan dengan kemurniannya. Namun meskipun hewan yang divaksinasi dan kemudian terinfeksi PMK memproduksi antibodi terhadap NSP,kadarnya mungkin lebih rendah dari pada yang ditemukan pada hewan terinfeksi yang belum vaksinasi.Untuk memastikan bahwa semua hewan yang kontak dengan PMK telah serokonveksi, direkomendasikan untuk masing-masing sampel dari area vaksinasi untuk pengujian antibodi NSP diambil paling cepat 30 hari setelah kasus yang terakhir dan dalam hal apapun paling cepat 30 hari setelah vaksinasi (OIE,2022).

Tujuan pengujian ini adalah sebagai uji pendahuluan untuk melihat kesesuaian hasil uji antara hasil uji yang menggunakan metode Elisa NSP PMK dengan hasil uji menggunakan metode RT-PCR PMK.

**Materi dan Metode**

Pengujian ini menggunakan Kit Elisa NSP PMK yang telah divalidasi. Sebanyak 12 sampel serum sapi yang sebelumnya telah diuji menggunakan metode yang berbeda yaitu metode RT-PCR. Serum uji merupakan serum lapang yang merupakan hasil investigasi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung pada bulan Mei sampai Juni 2022, sedangkan bahan uji lainnya yang digunakan adalah aquadest steril. Alat yang digunakan dalam pengujian ini adalah mikropipet, multichanel dan Elisa reader.

**Instruksi Kerja Elisa NSP PMK:**

Sebanyak 12 sampel serum sapi yang telah diuji dengan metode RT-PCR, diuji kembali secara serologis menggunakan metode uji Elisa NSP. Pengujian ini dilakukan sesuai dengan instruksi kerja yang terdapat pada Kit yang tersedia yaitu: terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel, kontrol negatif dan positif dengan perbandingan 1 : 100. Selanjutnya di tambahkan sampel, dan kontrol positif dan negatif sebanyak 100 µl ke dalam plate, diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37 derajat lalu dicuci dengan wash buffer sebanyak 300 µl diulang 3x. Setelah itu ditambahkan konjugate ke semua lubang masing-masing sebanyak 100 µl, diinkubasi dan dicuci kembali seperti langkah sebelumnya. Setelah pencucian ditambahkan TBM substrat ke semua lubang sebanyak 100 µl lalu diikubasi 10 menit dan langkah berikutnya ditambahkan stop solution ke semua lubang sebanyak 100 µl dan dibaca pada Elisa Reader dengan panjang gelombang 450 nm.

Cara Penetapan Hasil:

. Validasi rata-rata OD pada kontrol negatif ≤0.500, kontrol positif ≤2.000 dan PCx-NCx ≥ 0.400

|  |  |
| --- | --- |
| S/P % = 100 X | (sampel A(450))-(rata-rata Negatif) |
| (rata-rata OD PC)-(rata-rata OD NC) |

Interpretasi hasil:

* Nilai titer = ≥ 30maka dinyatakan Positif
* Nilai titer = < 20 maka dinyatakan Negatif
* Nilai titer = 20≤S/P%<30 dinyatakan suspect

**Hasil**

Hasil uji pendahuluan (Pre eliminary test) terhadap 12 sampel serum dengan menggunakan metode uji Elisa NSP PMK seperti yang tersaji pada tabel dibawah ini:

Tabel. Hasil Uji Elisa NSP PMK dan hasil uji RT- PCR PMK Tahun 2022

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Kode sampel** | **Elisa** | | **PCR** | |
| **Titer** | **Interpretasi** | **Ct** | **Interpretasi** |
| 1 | 11.40921 | Negatif | 27.25 | Positif |
| 2 | 8.644986 | Negatif | 24.11 | Positif |
| 3 | 65.47425 | Positif | Undet | Negatif |
| 4 | 5.790425 | Negatif | 25.37 | Positif |
| 5 | 1.300813 | Negatif | 24.11 | Positif |
| 6 | 2.700994 | Negatif | 30.12 | Positif |
| 7 | 22.61969 | Suspect | 23.5 | Positif |
| 8 | 8.825655 | Negatif | 29.22 | Positif |
| 9 | 178.1752 | Positif | 39.29 | Positif |
| 10 | 22.55646 | Suspect | 38.29 | Positif |
| 11 | 190.1084 | Positif | Undet | Negatif |
| 12 | 3.306233 | Negatif | 17.09 | Positif |

Hasil yang tergambar pada tabel diatas menunjukkan bahwa untuk pengujian yang menggunakan metode uji Elisa NSP dari 12 sampel, hasil diinterpretasikan sesuai dengan nilai uji yaitu positif jika nilai titer ≥ 30, negatif jika titer < 20 dan suspect titer 20≤S/P%<30, maka sampel dengan hasil positif adalah sebayak 3 (25%), sampel negatif sebanyak 7 (58,33%) dan sisanya adalah sampel suspect yaitu 2 (16,67%). Pengujian menggunakan metode uji RT-PCR cutt off berada pada Ct 40, maka tabel menunjukkan sampel dengan hasil positif sebanyak 10 (83,22%), sampel negatif 2 (16,67%). Adanya 2 sampel yang suspect secara Elisa NSP yaitu titer 22,61969 dan 22,55646 pada uji secara RT-PCR sampel ini terdeteksi positif. Ditunjukkan juga bahwa ada sampel yang negatif secara RT-PCR dengan Ct yang tidak terdeteksi (Undet) namun secara Elisa NSP menunjukkan hasil positif.

**Pembahasan**

Sampel yang diuji pada pengujian ini adalah sampel yang berasal dari hasil investigasi yang dilakukan oleh Balai Veteriner Lampung, sampel ini diambil berdasarkan adanya laporan dari costumer bahwa adanya sapi-sapi yang secara klinis menunjukkan gejala PMK. Sampel tersebut diuji menggunakan metode uji RT-PCR. Adanya Surat Edaran No. 4 Tahun 2022 yang memuat tentang lalu lintas ternak berdasarkan zoonasi, maka uji Elisa NSP PMK menjadi suatu pilihan untuk pengujian sampel yang akan dilalulintaskan selain metode RT-PCR. Metode Elisa NSP menjadi pilihan karena dari segi ekonomis lebih murah, waktu pengujian singkat dan mampu menguji sampel dalam jumlah yang banyak. Mengingat bahwa Balai Veteriner Lampung belum pernah melakukan uji serologis menggunakan Kit Elisa NSP PMK, maka sebelum menerima sampel untuk uji Elisa NSP PMK dari costumer, terlebih dahulu melakukan uji pendahuluan dari sampel serum sapi yang sebelumnya telah diuji secara RT-PCR. Hasil dari pengujian yaitui positif dengan metode Elisa NSP terlihat negatif pada metode RT-PCR, hal ini kemungkinan sampel yang diuji adalah sampel dari sapi yang terinfeksi PMK namun telah melewati fase viremia. Hasil uji negatif pada metode Elisa NSP maka dengan metode RT-PCR menunjukkan hasil positif, hal ini kemungkinan karena sapi telah terinfeksi PMK, dan berada pada fase viremia sehingga belum terjadi pembentukan antibodi sehingga tidak tertangkap dengan Elisa NSP, sedangkan 2 sampel yang masuk dalam kategori suspect secara Elisa NSP, pada metode RT-PCR menunjukkan hasil positif. Titer Elisa NSP berada dibawah 30 dan diatas 20, kemungkinan sampel ini berasal dari sapi yang konsentrasi virus didalam darahnya mulai menurun yaitu mulai melewati fase viremia sehingga mulai terjadi pembentukan antibodi maka secara PCR masih tertangkap dan diinterpretasikan positif. Terlihat bahwa hasil uji yang ditunjukkan oleh kedua metode ini sesuai dengan fase perjalanan penyakit pada sapi yang menunjukkan gejala klinis.

PMK menyebar secara cepat dari suatu daerah ke daerah lain, diperlukan upaya pengamanan yang ketat terhadap lalu lintas ternak dari daerah bebas maupun dari daerah tertular. Perbaikan manajemen pemeliharaan serta memaksimalkan pengamanan biosekuriti menjadi hal yang harus dilaksanakan dikondisi rentannya peternakan di Indonesia. Secara ekonomi PMK berdampak pada: 1. Kehilangan produktivitas, penurunan produksi susu (25% per tahun), penurunan tingkat pertumbuhan sapi potong (10-20% lebih lama mencapai dewasa) , kehilangan tenaga kerja (60-70% pada bulan ke-1 pasca infeksi) , penurunan fertilitas (angka abortus mencapai 10%) dan perlambatan kebuntingan , kematian anak (20-40% untuk domba dan babi) 2. Pemusnahan ternak yang terinfeksi secara kronis. 3. Gangguan perdagangan domestik (pengendalian lalu lintas dlsbnya) dan manajemen ternak. 4. Kehilangan peluang ekspor ternak (Naipospos (2014).

Mengendalikan penyakit PMK dapat ditempuh dengan dua cara yaitu dengan melakukan vaksinasi masal terhadap hewan yang rentan dan mengontrol jalur perpindahan hewan serta produk asal hewan terutama yang berasal dari daerah tertular (Soehadji & Setyaningsih 1994). Proteksi silang (cross protection) antara serotipe virus PMK bahkan juga antara subtipe dalam satu strain sangat kecil terjadi atau bahkan tidak ada. Serotipe suatu virus PMK yang terlibat dalam suatu wabah tidak bisa dipastikan berdasarkan gejala klinis. Jadi penentuan serotipe virus PMK penyebab wabah harus ditentukan melalui metoda laboratorium sesegera mungkin untuk memungkinkan dilaksanakannya program vaksinasi yang tepat dan benar untuk mengendalikan wabah (Bari,et al, 2014) Keberhasilan mengendalikan wabah PMK sangat ditentukan oleh kapasitas epidemiologik dan diagnostik dari Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan serta seluruh jajaran kesehatan hewan di tingkat provinsi dan kabupaten/kota, ditambah dengan dukungan legislasi dan anggaran yang harus dipersiapkan justru pada masa sebelum terjadi wabah (peace time). Semua prosedur pengendalian wabah yang perlu dijalankan terutama yang sangat sulit dioperasionalkan karena memerlukan dukungan infrastruktur dan logistik yang besar, seperti perintah diam di tempat (standstill) bagi hewan-hewan yang ada di lokasi wabah, pemusnahan secara cepat seluruh hewan sakit dan yang kontak dengan hewan sakit (stamping out) dengan tetap memperhatikan prinsip-prinsip kesejahteraan hewan (animal welfare), dan juga kemampuan untuk melakukan proses disposal dari bangkai hewan-hewan yang dimusnahkan tersebut ( Naipospos, 2014). Kejadian berulang adalah realita PMK, disebabkan oleh adanya beragam strain (multiple strain) dan perbedaan alamiah dari setiap kejadian wabah. ( Yeoman,et.al, 2005). Diperlukan kerjasama yang baik dari semua pihak baik pemerintah maupun peternak sehingga target penambahan populasi ternak dapat tercapai.

**Kesimpulan**

Uji pendahuluan yang telah dilakukan terhadap 12 sampel serum sapi yang diuji dengan metode uji Elisa NSP PMK memiliki kesesuaian hasil dengan metode RT-PCR PMK. Hal ini juga membuktikan bahwa Kit Elisa NSP PMK dapat digunakan untuk pengujian sampe-sampel yang akan dilalu lintaskan di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung.

**Daftar Pustaka**

Aftosa, F. 2014. Foot and Mouth Disease, IOWA University

Alexandersen S, Mowat N. (2005) Foot-and-mouth disease: Host range and pathogenesis. In: BW, editor. Foot-and-Mouth Disease Virus. Current Topics in Microbiology and Immunology, vol 288. Berlin (Germany): Springer. p. 9–42.

Bari F.D., Parida S., Tekleghiorghis T., Dekker A., Sangula A., Reeve R., Haydon D.T., Paton D.J., and Mahapatra M. (2014). Genetic and antigenic characterisation of serotype A FMD viruses from East Africa to select new vaccine strains. Vaccine. 2014 Oct 7; 32(44): 5794–5800.

Bhattacharya S, Banerjee R, Ghosh R, Biswas A, Chatterjee A. 2003. Identification of foot-and-

mouth disease from a captive kangaroo in a zoological garden in India. Vet Rec. 153:504-505.

Brocchi E, Bergman I.E, Dekker A, Paton D.J, Sammin D.J, Greiner M, Grazioli S, De Simone F, Yadin H, Haas B, Bulut N, Malirat V, Neitzert E, Goris N, Parida S, Sorensen K, De Clercq K. 2006. Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-struktural proteins of foot-and-mouth disease virus. ScienceDirect. Available online at. [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

Caasi DRJ, Arif M, Payton M, Melcher U, Winder L, Ochoa-Corona FM. 2013. A multi target, non-infectious and clonable artificial positive control for routine PCR-based assays. J Microbiol Methods. 95:229-234.

Chen H, Peng Y, Zhang Y, Liu X. 2013. Detection of foot and mouth disease Serotype O by ELISA using a monoclonal antibody. Monoclon Antib Immunodiagn Immunother. 32:47-49.

Grubman MJ, Baxt B. 2004. Foot and mouth disease. Clin Microbiol Rev [Internet]. 17:465-93. available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15084510>.

Haryanti D.W. 2022. Penyakit Mulut dan Kuku pada Hewan Ternak dalam Pandangan Pakar FFP UNDIP. Humas Undip. Beranda Berita. https://www.undip.ac.id

Jamal SM, Belsham GJ. 2013. Foot-and-mouth disease: past, present and future. Vet Res. 44:1-14.

Maruf . Penyakit Mulut dan Kuku. . https://mydokterhewan.blogspot.com/2015/ 02/proses-infeksi-penyakit-mulut-dan-kuku\_4.html diakses 3 Maret 2020

Ma L, Zhang J, Chen H, Zhou J, Ding Y, Liu Y. 2011. An overview on ELISA techniques for FMD. Virol J. 8:419.

Naipospos (2014); Potensi Dampak Ekonomi apabila terjadi Wabah Penyakit Mulut dan Kuku di Indonesia; Simulasi Kesiagaan Darurat Veteriner Indonesia se Bali, Nusa Tenggara Baratt & Nusa Tenggara Timur Mataram, 6-9 Mei 2014

Nuradji H, Wiyono A, Daulay RSD, Rochmah A. 2017. Sintetik Kontrol Positif untuk Deteksi

Penyakit Mulut dan Kuku dengan Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction. In:

Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner (In Press).

Officer K, Lan NT, Wicker L, Hoa NT, Weegenaar A, Robinson J, Ryoji Y, Loukopoulos P. 2014.

Foot-and-mouth disease in Asiatic black bears (Ursus thibetanus). J Vet Diagn Investig.26:705-713.

OIE. Terrestrial Animal Health Code (2012). Foot and mouth disease.:1-26.

OIE. Terrestrial Animal Health Code (2022). Foot and mouth disease. Capter 8.8. 19-20.

Reid SM, Ferris NP, Hutchings GH, Samuel AR, Knowles NJ. 2000. Primary diagnosis of foot-and-mouth disease by reverse transcription polymerase chain reaction. J Virol Methods. 89:167-176.

Rushton J, and Knight-Jones T.J.D. (2013) The impact of foot-mouth-disease. Rev. sci. tech.Off. int.Epiz. 1:1-27.

Smith G, Smith I, Harrower B, Warrilow D, Bletchly C. 2006. Asimple method for preparingsynthetic controls for conventional and real-time PCR for the identification of endemic and exotic disease agents. J Virol Methods. 135:229-234.

Soehadji, Setyaningsih H. 1994. The experiences of Indonesia in the control and eradication of foot-and-mouth disease. In: Copland JW, Gleeson LJ, Chamnanpool C, editors. Diagnosis Epidemiol Foot and Mouth Dis Southeast Asia. Proceedings of an International Workshop, Lampang, Thailand, 6-9 September 1993.Canberra (Australia): ACIAR 51:64-69.

Weaver GV, Domenech J, Thiermann AR, Karesh WB. 2013. Foot and mouth disease: A look from the wild side. J Wildl Dis. 49:759-785.

Wernery U, Kinne J. 2012. Foot and mouth disease and similar virus infections in camelids: a review. Rev Sci Tech. 31:907-918.

Yeoman, I., Lennon, I.J., and Black, L. (2005). Practitioner paper. Foot-and-mouth disease: A scenario of reoccurrence for Scotland’s tourism industry. Journal of Vacation Marketing. Vol. 11 No. 2, 2005, pp. 179–190.