

Deteksi Antibodi terhadap Virus Classical Swine Fever dengan Teknik *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

EKA MAHARDHIKA RATUNDIMA¹, I NYOMAN SUARTHA²,
I GUSTI NGURAH KADE MAHARDHIKA¹

¹Lab Virologi, ²Lab Penyakit Dalam,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl.P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp. 0361-223791

RINGKASAN

Classical swine fever (CSF) adalah penyakit viral yang sangat menular pada babi disebabkan oleh virus CSF dari genus *Pestivirus*, famili *Flaviviridae*. Penyakit CSF tersebar hampir di seluruh kabupaten dan kecamatan di Nusa Tenggara Timur (NTT). Pencegahan yang efektif untuk mengatasi penyakit CSF adalah vaksinasi dan *stamping out*. Upaya pencegahan dengan vaksinasi telah dilakukan di NTT. Efektivitas vaksinasi dikaji dan dievaluasi melalui pemeriksaan titer antibodi dari babi yang telah divaksin. Kajian tersebut juga dilakukan pengambilan serum dari babi yang tidak divaksin untuk mengetahui kemungkinan terjadinya infeksi alami.

Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 358, yang terdiri atas 223 sampel yang berasal dari babi yang tidak divaksinasi dan 135 sampel berasal dari babi yang divaksinasi. Penelitian dilakukan dengan teknik *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) untuk mendeteksi antibodi terhadap virus CSF pada babi yang divaksinasi dan tidak divaksinasi. Data hasil uji ELISA akan dihitung nilai Persentase Inhibisi (PI) dan dianalisis dengan uji *chi-square* dan uji t tidak berpasangan.

Uji ELISA menunjukkan adanya antibodi CSF sebanyak 63 sampel (28,3 %) pada babi yang tidak divaksinasi dan 69 sampel (51,1 %) pada babi yang divaksinasi. Kesimpulan penelitian ini adalah seroprevalensi antibodi terhadap virus CSF pada babi yang divaksinasi lebih tinggi dibandingkan dengan pada babi yang tidak divaksinasi.

Kata-kata kunci : ELISA, Antibodi, Virus *Classical Swine Fever*

PENDAHULUAN

Usaha peternakan babi merupakan bagian kebudayaan dalam kehidupan masyarakat di beberapa daerah di Indonesia misalnya Bali, Sulawesi Utara, Nusa Tenggara Timur, Sumatra Utara dan Papua. Secara tradisional ternak babi memiliki peran penting di dalam kegiatan keagamaan, adat dan sosial. Ternak babi juga merupakan sumber protein utama bagi konsumsi domestik dan komponen usaha rumah tangga yang penting sebagai sumber penghasilan. Di NTT, kepala keluarga yang memelihara ternak babi mencapai 85% (Johns *et al*, 2010), sebagian besar untuk keperluan adat dan diperdagangkan untuk memenuhi konsumsi lokal penduduk. Mempertimbangkan besarnya peranan babi bagi masyarakat, maka kesehatan ternak babi harus tetap dijaga dari serangan penyakit baik yang disebabkan oleh virus, bakteri maupun parasit. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh virus pada babi adalah kolera babi (*hog cholera*).

Kolera babi (Hog Cholera), juga dikenal dengan nama *Classical Swine Fever* (CSF) atau *Swine Fever* adalah penyakit yang sangat menular dengan tingkat kematian mendekati 100% pada daerah wabah baru. Penyakit ini tersebar di seluruh dunia. Negara yang dilaporkan positif CSF antara lain Jerman, sebagian negara di Eropa Timur, Afrika Timur, Afrika Tengah, India, China, Asia Timur dan Tenggara, Amerika Tengah serta banyak Negara di Amerika Selatan (DAFF, 2008). Di Indonesia, CSF dilaporkan pertama kali tahun 1994 terjadi di pulau Sumatra dan secara bertahap menyebar ke Jawa pada awal tahun 1995, Bali dan Kalimantan pada akhir tahun 1995 dan Papua tahun 2004 (DAFF, 2008). Diagnosis dan identifikasi virus CSF di Bali juga sudah dilaporkan (Wirata *et al*, 2010).

Secara ekonomi, CSF merupakan penyakit menular terpenting pada babi di seluruh dunia (Fenner *et al*, 1993). Apabila penyakit ini berjangkit maka akan timbul kerugian ekonomi yang tinggi karena program pengendalian penyakit melalui program imunisasi dan pemusnahan memerlukan biaya yang besar. Pengendalian wabah CSF membutuhkan biaya sampai 2.3 miliar USD (CFSPH, 2007).

Penyakit CSF tersebar hampir di seluruh kabupaten dan kecamatan di NTT (Disnak NTT, 2009). Pencegahan yang efektif untuk mengatasi penyakit CSF adalah vaksinasi dan *stamping out* (Subronto, 2003). Vaksinasi dilakukan untuk mengurangi jumlah wabah pada daerah yang enzootik terhadap CSF dan vaksinasi dilarang pada daerah yang bebas dari penyakit CSF. Upaya pencegahan dengan cara vaksinasi telah dilakukan di NTT (Dr. drh. Maria Geong, komunikasi pribadi). Efektivitas vaksinasi itu perlu dikaji dan dievaluasi melalui pemeriksaan titer antibodi dari babi yang telah divaksin. Pengambilan serum juga dilakukan pada babi yang tidak divaksin untuk mengetahui adanya infeksi alam. Pemeriksaan titer antibodi dilakukan dengan teknik ELISA (Fenner *et al*, 1993).

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah: Mengetahui seroprevalensi dan titer antibodi terhadap virus CSF dari babi yang divaksin dan yang tidak divaksin di NTT. Mengetahui pengaruh umur babi pada titer antibodi terhadap CSF?

MATERI DAN METODE

Materi

Sampel yang digunakan adalah serum dari babi yang sudah divaksinasi dan yang belum divaksinasi *Classical Swine Fever Virus* (CSFV). Semua sampel berasal dari Sumba, NTT yang dikirim oleh Dinas Peternakan Provinsi NTT ke laboratorium Biomedik FKH Universitas Udayana. Sampel babi tersebut disertai data sejarah vaksinasi, dan umur. Berdasarkan data dari dinas Peternakan NTT, serum diambil tiga bulan setelah vaksinasi. Vaksinasi dilakukan sekali. Jumlah sampel yang divaksinasi dan tidak divaksinasi adalah 358 serum, yang terdiri atas 223 sampel yang berasal dari babi yang tidak divaksinasi dan 135 sampel berasal dari babi yang divaksinasi. Sampel dikumpulkan bulan Juni dan Juli 2010.

Bahan penelitian berupa ELISA Kit PrioCheck[®] CSFV Ab dari Prionic AG Netherland yang terdiri dari microplate, konjugat, dilution buffer, antigen, demineralized water, washing fluid, reference serum 1, reference serum 3, chromogen (TMB) substrate dan stop solution, serta

aquadest. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *shaker*, pipet mikro, tips, wadah/palung elisa, ELISA reader dan tabung Falcon.

Metode

ELISA

Deteksi secara *in vitro* dari antibodi terhadap Virus CSF dalam serum babi, dilakukan dengan menggunakan PrioCHECK CSFV Ab Elisa kit dari Prionics AG. Semua reagen dari elisa kit dan spesimen berupa serum beku yang dimasukkan dalam tabung eppendorf dicairkan dalam suhu kamar 25-28°C. *Plate* dipersiapkan, pada lubang A1 dan B1 *microplate* diisi komponen 7 sebanyak 50 µl sebagai kontrol positif, dan komponen 9 dimasukkan pada lubang C1 dan D1 *microplate* sebanyak 50 µl, sebagai kontrol negatif. Serum sampel dimasukkan sebanyak 50 µL ke dalam semua lubang yang tersisa. Konjugat (komponen 2 dan 3) yang telah diencerkan ditambahkan ke semua lubang sebanyak 50 µl, antigen ditambahkan ke semua lubang sebanyak 50 µl. Tutup *microplate* dengan stiker penutup dan homogenkan dengan cara *dishaker*. Selanjutnya *microplate* diinkubasi pada suhu 22-25°C selama 90 menit. *Microplate* dicuci sebanyak 6 kali dengan menggunakan 200 -300 µl larutan pencuci (*washing solution*). substrat chromogen (TMB) sebanyak 100 µl ditambahkan ke dalam semua lubang. *Microplate* inkubasikan selama 20 menit pada suhu 22-25°C. 100 µl *stop solution* ditambahkan ke dalam semua lubang, kemudian *microplate* dibaca di *Microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

Uji Hambatan

Data angka yang diperoleh dari microplate reader disusun sesuai data serum asal. Nilai *Percentase Inhibisi* (PI) dihitung dengan menggunakan rumus:

$$PI = 100 - \frac{\text{corrected OD sample}}{\text{corrected OD serum acuan}} \times 100$$

Penghitungan didasarkan pada brosur yang direkomendasikan oleh produsen dalam kit. *Corrected OD* sampel adalah nilai OD serum dikurangi nilai rata-rata kontrol positif. Sedangkan *corrected OD* serum acuan adalah nilai rata-rata kontrol negatif. Nilai rata-rata kontrol positif

harus $<0,250$, nilai PI kontrol negatif harus $<50\%$. Apabila nilai PI = $<30\%$ maka hasil deteksi antibodi adalah negatif. Apabila nilai PI = $31\% - 50\%$ maka hasil deteksi antibodi adalah *inconclusive*. Bila nilai PI = $>50\%$ maka hasil deteksi antibodi adalah positif. Nilai PI dipakai untuk menentukan titer antibodi. Jika nilai PI tinggi, maka titer antibodi babi juga tinggi. Demikian sebaliknya, jika nilai PI rendah, maka titer antibodi babi yang diperiksa rendah.

Seroprevalensi adanya antibodi CSF antara babi yang divaksin dan babi yang tidak divaksin dianalisa secara statistik dengan uji *chi-square*. Perbandingan titer antibodi babi yang divaksin dengan babi yang tidak divaksin menggunakan uji t tidak berpasangan.

Tabel 1. Data sampel babi yang divaksinasi dan babi yang tidak divaksinasi

Sampel	Jumlah Titer Ab Positif			Jumlah Titer Ab Negatif			Total
	< 6 bulan	6 - 12 bulan	> 12 bulan	< 6 bulan	6 - 12 bulan	> 12 bulan	
Babi divaksinasi							
Babi tidak divaksinasi							

Penelitian dilakukan pada bulan September 2010 di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jalan Raya Sesetan Gang Markisa Denpasar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji ELISA terhadap 358 sampel serum babi, yang terdiri atas 223 sampel berasal dari babi yang tidak divaksinasi, dan 135 sampel berasal dari babi yang divaksinasi CSF dapat dilihat pada Tabel 2. Deteksi titer antibodi terhadap CSF didapatkan adanya antibodi CSF pada 63 sampel (28,3 %) dari babi yang tidak divaksinasi dan 69 sampel (51,1 %) dari babi yang divaksinasi. Secara statistik persentase titer antibodi positif babi yang divaksinasi dengan yang tidak divaksinasi sangat berbeda nyata ($P < 0,01$).

Tabel 2. Seroprevalensi antibodi CSF antara sampel babi yang divaksinasi dengan sampel babi yang tidak divaksinasi.

Babi	Jumlah Sampel		% positif
	+ (positif)	- (negatif)	
Vaksinasi	69	66	51,1 %**
Tidak divaksinasi	63	160	28,3 %

Keterangan: ** = berbeda sangat nyata

Seroprevalensi CSF berdasarkan umur ditampilkan pada Tabel 3. Hasil tersebut menunjukkan bahwa seroprevalensi CSF pada babi yang divaksinasi berumur < 6 bulan sebesar 42,9 % sedangkan yang tidak divaksin 19 %. Seroprevalensi CSF pada babi yang divaksinasi umur 6 – 12 bulan adalah sebesar 46,3 % sedangkan pada babi yang tidak divaksin sebesar 22,2 %. Pada umur > 12 bulan seroprevalensi CSF pada babi yang divaksinasi sebesar 74,2 % sedangkan pada babi yang tidak divaksin 51,9 %. Dari data di atas dapat disimpulkan bahwa seroprevalensi terhadap CSF berbeda nyata pada umur babi yang berbeda.

Tabel 3. Seroprevalensi antibodi antara sampel babi yang divaksinasi dengan sampel babi yang tidak divaksinasi berdasarkan umur.

Babi	Umur < 6 bulan			umur 6-12 bulan			umur > 12 bulan		
	+	-	% pos.	+	-	% pos.	+	-	% pos.
Vaksinasi	27	36	42,9 %	19	22	46,3 %	23	8	74,2 %
tidak divaksinasi	12	51	19%	24	84	22,2 %	27	25	51,9 %

Perbandingan titer antibodi terhadap virus CSF pada babi yang divaksinasi dan babi yang tidak divaksinasi ditampilkan pada Tabel 4. Rata-rata titer antibodi pada babi yang divaksin (51,98) berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan rata-rata titer antibodi yang tidak divaksinasi (31,25). Sedangkan perbandingan nilai PI berdasarkan umur didapat hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) pada sampel yang divaksinasi sedangkan pada sampel yang tidak divaksinasi hasilnya sangat berbeda nyata ($P < 0,01$). Titer antibodi babi yang divaksinasi umur < 6 bulan tidak berbeda nyata dengan umur 6-12 bulan, sedangkan dengan umur > 12 bulan berbeda sangat

nyata. Titer antibodi babi umur 6-12 bulan berbeda nyata dengan umur > 12 bulan. Pada sampel babi yang tidak divaksinasi umur < 6 bulan tidak berbeda nyata dengan umur 6-12 bulan, sedangkan dengan umur > 12 bulan berbeda sangat nyata. Umur 6-12 bulan berbeda sangat nyata dengan umur > 12 bulan.

Tabel 4. Nilai PI titer antibodi terhadap virus CSF pada berbagai kelompok umur

Babi	umur < 6 bulan	umur 6-12 bulan	umur > 12 bulan	total
Divaksin	39.26 aA	45.95 aAB*	70.74 aC*	51.98a*
Tidak Divaksin	19.7 bA	21.66 bAB*	52.39 aC*	31.25b*
Rata-rata	29.48 A	33.8 B	62.56 C	

Keterangan:

- Huruf besar dibaca ke samping, huruf kecil dibaca ke bawah.
- Huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)
- Huruf yang tidak sama berarti berbeda nyata ($P < 0,05$)
- Tanda * berarti sangat berbeda nyata ($P < 0,01$)

Penyakit CSF adalah penyakit yang termasuk dalam daftar penyakit golongan A menurut OIE (OIE, 2008). Penyakit ini sangat menular dengan tingkat kematian hampir 100% (Moennig, 2000). Pencegahan yang efektif untuk mengatasi penyakit CSF adalah vaksinasi dan *stamping out* (Subronto, 2003). Vaksinasi yang diberikan akan merangsang sistem kekebalan tubuh untuk memproduksi antibodi terhadap virus CSF sehingga antibodi akan terdeteksi pada babi yang divaksinasi. Pada babi yang tidak divaksinpun ada kemungkinan ditemukan antibodi. Hal ini bisa terjadi karena babi sudah mengalami infeksi alam ataupun sudah memiliki maternal antibodi (Szent-Ivanyi, 1977; van Oirschot, 2003).

Efektivitas vaksinasi dapat diketahui dari deteksi titer antibodi terhadap virus CSF pada serum. Deteksi antibodi pada serum dapat dilakukan dengan berbagai uji, pada penelitian ini dilakukan dengan uji ELISA.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa persentase antibodi terhadap virus CSF dari serum babi yang divaksinasi lebih tinggi bila dibandingkan dengan persentase antibodi dari

serum babi yang tidak divaksinasi. Ditemukannya antibodi virus CSF pada babi yang tidak divaksinasi (28,3%) dapat disebabkan karena babi mengalami infeksi alam maupun babi memiliki antibodi maternal (Szent-Ivanyi, 1977; van Oirschot, 2003). Antibodi yang terbentuk merupakan ukuran dari status kekebalan. Pemberian vaksin merupakan salah satu hal yang dapat meningkatkan kekebalan. Hal ini menunjukkan bahwa rata-rata titer antibodi yang tinggi diperoleh karena babi tersebut telah divaksinasi.

Antibodi terhadap CSF terdeteksi sebanyak 51,1% pada babi yang divaksinasi, hal ini menunjukkan bahwa vaksinasi yang dilakukan sebagian besar belum berhasil. Pada dasarnya tujuan vaksinasi CSF adalah memberikan kekebalan pada babi yang telah divaksin penyakit CSF. Vaksinasi CSF di provinsi NTT belum berhasil, karena hanya 69 hewan yang positif mengandung antibodi CSF dari total 135 sampel. Hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain : faktor vaksin, pelaku vaksinasi dan kondisi saat vaksinasi, dan faktor hewannya

Dilihat dari faktor vaksinasinya, kegagalan vaksinasi dapat terjadi apabila galur organisme antara vaksin dan penyebab penyakit tidak cocok. Di Sumba, NTT, vaksin yang dipakai adalah galur China (C). Vaksin yang baik akan memberikan hasil optimal apabila vaksin itu memakai antigen dari virus lapangan dimana vaksin itu akan digunakan. Untuk itu perlu penelitian isolasi virus lapangan sebelum dilakukan vaksinasi untuk memudahkan penelitian vaksin yang telah beredar. Faktor lain dapat disebabkan oleh antigen vaksin yang mengalami kerusakan, akibat penanganan vaksin yang tidak benar seperti kesalahan dalam penyimpanan dan transportasi. Dari faktor pelaku vaksinasi, vaksinator tidak memberikan vaksin sesuai dengan dosis yang dianjurkan. Sebagai akibatnya, vaksin tidak mampu memberikan perlindungan yang optimal. Bisa juga vaksin diberikan sesuai dosis yang dianjurkan, tetapi tidak mencapai sasaran (Baratawidjaja, 2006).

Keadaan lingkungan yang terlalu panas pada saat dilakukan vaksinasi, apalagi sinar matahari sampai mengenai vaksin, maka dapat menurunkan atau bahkan menghilangkan efektifitas vaksin. Penggunaan alkohol yang berlebihan saat vaksinasi dapat mengakibatkan matinya vaksin yang mengakibatkan kegagalan vaksinasi. Hewan yang baru lahir sudah otomatis secara pasif dilindungi oleh antibodi asal induk, sehingga vaksinasi yang dilakukan pada waktu dini tidak akan berhasil dengan baik (Baratawidjaja, 2006).

Kegagalan vaksinasi dapat juga terjadi pada saat dilakukan vaksinasi keadaan tanggap kebal hewan tertekan, misalnya karena adanya infestasi parasit yang berat, malnutrisi serta stress yang dialami oleh hewan (Baratawidjaja, 2006).

Hasil penelitian ini tidak cukup kuat untuk menyatakan keberhasilan vaksinasi, sehingga penelitian lanjutan perlu dilakukan. Adapun saran yang dapat diberikan sebaiknya Dinas Peternakan Provinsi NTT sebelum melakukan program vaksinasi CSF pada babi ada baiknya melakukan survei lapangan. Survei ini bertujuan untuk melihat kondisi hewan yang akan divaksinasi. Untuk penanganan vaksin, perlu diterapkan sistem *cold chain*. Sistem cold chain adalah cara menyimpan dan mendistribusikan vaksin dari produsen sampai kepada pemakai. Hal ini sangat penting karena vaksin akan rusak jika terkena panas. Hal penting yang harus diperhatikan adalah menjaga suhu yang benar selama penyimpanan dan pendistribusian vaksin (WHO, 1998). Kemudian terhadap vaksinator diberikan pelatihan tentang aplikasi vaksin, penanganan vaksinnya, dosis vaksin dan cara *handle* hewan agar tidak stres. Vaksinator sebaiknya orang yang sudah mengerti tentang vaksin dan sudah berpengalaman. Begitu juga dalam pengambilan sampel berupa serum untuk uji ELISA, petugas juga harus mendapat pelatihan dalam pengambilan dan penanganan sampel.

Pengujian Hipotesis

Hipotesis 1: Seroprevalensi antibodi terhadap CSF pada babi yang divaksinasi lebih tinggi dari babi yang tidak divaksinasi.

Penunjang : Dari 358 sampel yang di uji dengan uji ELISA didapatkan adanya antibodi CSF pada 63 sampel dari babi yang tidak divaksinasi yaitu 28,3 % dan 69 sampel dari babi yang divaksinasi yaitu 51,1 %.

Simpulan : Hipotesis diterima.

Hipotesis 2 : Umur babi berpengaruh terhadap titer antibodi CSF

Penunjang : antibodi CSF pada babi yang yang divaksinasi berumur < 6 bulan sebesar 42,9 % sedangkan yang tidak divaksin 19 %. Pada umur 6 - 12 bulan titer CSF pada babi yang divaksin sebesar 46,3 % sedangkan pada babi yang tidak divaksin 22,2 %.

Pada umur > 12 bulan titer antibody CSF pada babi yang divaksinasi sebesar 74,2 % sedangkan pada babi yang tidak divaksin 51,9 %.

Simpulan : Hipotesis diterima.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dengan teknik ELISA untuk mendeteksi antibodi terhadap virus classical swine fever di Sumba – Nusa Tenggara Timur dapat disimpulkan bahwa: seroprevalensi antibodi terhadap CSF pada babi yang divaksinasi lebih tinggi dari babi yang tidak divaksin. Tinggi rendahnya titer antibodi terhadap CSF dipengaruhi oleh umur. Titer antibodi tertinggi ditemukan pada babi yang divaksinasi umur diatas 12 bulan.

SARAN

Perlu adanya penelitian tentang isolasi virus lapangan sebelum dilakukan vaksinasi untuk mempermudah penelitian vaksin yang sudah beredar. Perlu dilakukan pelatihan tentang penanganan vaksin, distribusi dan aplikasi vaksin yang benar kepada vaksinator.

DAFTAR PUSAKA

- Baratawidjaja, Karnen G. 2006. Imunologi Dasar Edisi Ke Tujuh. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran FKUI.
- Departemen of Agriculture, Fisheries and Forestry (DAFF), 2008. Classical Swine Fever. Departemen of Agriculture, Fisheries and Forestry. Australia. <http://www.daff.gov.au/animal-plant-health/pests-diseases-weeds/animal/swine-fever>. Tanggal Akses 14 Juni 2009.
- Dinas Peternakan Nusa Tenggara Timur. 2008. Frekuensi dan Distribusi Hog Cholera di NTT. Kupang.
- Fenner FJ, Gibbs EPJ, Murphy FA, Rott R, Studdert MJ, White DO. 1993. Veterinary Virology 2nd Ed. Academic Press, San Diego, California, USA.

Johns C, Cargill C. dan Patrick I. 2010. Laporan Akhir Budidaya Ternak Babi Komersial oleh Peternak Kecil di NTT – Peluang untuk Integrasi Pasar yang Lebih Baik. ACIAR, Canberra.

Subronto. 2003. Ilmu Penyakit Ternak (Mamalia). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Szent-Ivanyi, T., 1977. Eradication of classical swine fever in Hungary. Proceedings of the CEC Seminar on Hog Cholera/Classical Swine Fever and African Swine Fever. EUR 5904 EN, Hannover, pp. 443–440.

CFSPH (The Center of Food Security and Public Health). 2007. Classical Swine Fever. Collage of Veterinary Medicine. Iowa State University. Ames. http://www.cfsph.iastate.edu/factsheets/pdfs/classical_swine_fever.pdf. Tanggal Akses 18 Februari 2010.

Moennig, Volker. 2000. Introduction to Classical Swine Fever: Virus, Disease and Control Policy. Veterinary Microbiology 73, 93-102.

OIE, 2008. Classical Swine Fever. Office International des Epizooties. http://www.oie.int/eng/maladies/fiches/A_A130.HTM Tanggal Akses 14 Juni 2009

Van Oirschot, JT. 2003. Vaccinology of Classical Swine Fever: From Lab to Field. Veterinary Microbiology 96, 367-384.

WHO. 1998. Safe Vaccine Handling, Cold Chain and Immunization. Global Programme for Vaccine and Immunization. Geneva.

Wirata, IW, Chandra Dewi IAS, Narendra Putra IGN, Wiyana IBO, Suardana IBK dan Mahardika IGNK. 2010. Konfirmasi Virus Classical Swine Fever dari Kasus-Kasus Tersangka pada Babi di Bali Tahun 2007-2008 dengan Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). Laboratorium Biomedik Veteriner, Universitas Udayana, Denpasar.