

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI VIRUS PENYEBAB WABAH PENYAKIT HOG CHOLERA DARI BEBERAPA DAERAH DI INDONESIA 1995-1998

A. SAROSA, SIMSON TARIGAN, TATTY SYAFRIATI, dan SJAMSUL BAHRI

Balai Penelitian Veteriner
Jalan R.E. Martadinata 30, P.O. Box 151, Bogor 16114

ABSTRAK

Virus Hog cholera telah berhasil diisolasi dari wabah penyakit yang menyerang babi di daerah Kapuk (DKI JAKARTA), Pontianak (Kalimantan Barat), Palopo dan Toraja (Sulawesi Selatan), Pekanbaru (Riau) dan Jambi. Identifikasi virus dilakukan dengan teknik *immunoperoxidase monolayer assay* (IPMA). Hasil isolasi dan identifikasi juga didukung deteksi antigen dengan *enzyme linked-immunosorbent assay* (ELISA), gejala klinis, perubahan patologi serta morbiditas dan mortalitas yang cukup tinggi.

Kata kunci : Hog cholera, *immunoperoxidase monolayer assay* (IPMA), *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), babi

PENDAHULUAN

Penyakit Hog Cholera (HC) atau Classical Swine Fever merupakan salah satu penyakit virus yang sangat penting pada ternak babi, karena sangat berbahaya (HARKNESS, 1985). Penyebabnya adalah virus dari genus Pestivirus, Famili Flaviviridae (VAN OIRSCHOT, 1986). Infeksi oleh virus ini pada ternak babi dapat menimbulkan penyakit yang bersifat akut, sub-akut maupun kronik. Kasus penyakit yang akut disebabkan oleh virus yang virulen, dan pada umumnya morbiditas dan mortalitasnya sangat tinggi (VAN OIRSCHOT, 1986). Masa inkubasi pada kasus penyakit yang akut berkisar antara 2-6 hari dengan tanda-tanda klinik berupa demam tinggi sampai 42°C, nafsu makan hilang, radang selaput lendir mata yang disertai dengan leleran air mata, diare kuning, timbul bercak-bercak merah keunguan pada kulit di daerah abdomen dan telinga, paresis, angka kematian sangat tinggi biasanya terjadi antara 10-20 hari setelah infeksi. Bila hewan dapat bertahan hidup lebih dari 30 hari, penyakit berjalan menjadi kronik (TERPSTRA, 1991).

Secara alamiah infeksi virus HC pada umumnya menular melalui oral atau intra nasal. Infeksi oleh virus yang virulen mengakibatkan viremia dan virus dengan titer tinggi dapat ditemukan dalam darah dan jaringan. Virus dapat diekskresikan baik melalui saliva, urin maupun lelera hidung secara kontinyu sampai hewan tersebut mati (TERPSTRA, 1991). Virus HC yang virulensinya rendah dapat menimbulkan gangguan reproduksi, karena virus tersebut dapat mencapai fetus sehingga mengakibatkan abortus, mumifikasi, *stillbirth* atau lahir dalam keadaan lemah (VAN OIRSCHOT, 1986; TERPSTRA, 1991). Infeksi oleh virus HC juga bersifat immunosupresif, karena mengakibatkan defisiensi limfosit B (SUSA *et al.*, 1992).

Penyakit ini telah tersebar luas di berbagai negara namun di beberapa negara tertentu misalnya Australia, Selandia Baru, Amerika Serikat, Inggris, Irlandia, Kanada dan negara-negara Skandinavia dinyatakan bebas dari penyakit tersebut (VAN OIRSCHOT, 1986). Kasus terakhir wabah penyakit HC di Inggris terjadi pada tahun 1986 akibat impor produk daging babi (WILLIAMS dan MATTHEWS, 1988). Biaya yang diperlukan untuk pemberantasan penyakit HC sangat besar, sebagai gambaran untuk pemberantasan penyakit HC di negeri Belanda dalam periode 1983-1985 telah menghabiskan 93 juta dolar Amerika (VAN OIRSCHOT, 1986).

Di beberapa negara, pemberantasan dilakukan dengan sistem *stamping out* disertai dengan penerapan undang-undang veteriner dan sanitasi. Negara yang telah berhasil memberantas penyakit HC dengan cara ini adalah Australia, Kanada, Amerika Serikat, Inggris, negara-negara Skandinavia dan Republik Afrika Selatan (TERPSTRA, 1991).

Diagnosis penyakit dapat dilakukan berdasarkan gejala klinis, isolasi dan identifikasi virus. Ditemukannya perdarahan pada ginjal dan kelenjar limfe, ulserasi pada usus dan infark pada limpa dalam pemeriksaan bedah bangkai sangat membantu sekali dalam diagnosis (VAN OIRSCHOT, 1986). Uji serologik pada akhir-akhir ini telah dikembangkan teknik ELISA dengan menggunakan antibodi monoklonal yang dapat dikerjakan dengan cepat dengan hasil baik (WENSVOORT *et al*, 1988). Selain untuk uji serologik, teknik ELISA dapat juga dipakai untuk mendeteksi virus HC dalam darah hewan yang terinfeksi (SHANNON *et al.*, 1993).

Tulisan ini dimaksudkan untuk memberi informasi tentang keberhasilan Balai Penelitian Veteriner dalam mendiagnosis penyakit Hog Cholera atau Classical Swine Fever di Indonesia dengan melakukan isolasi pada biakan sel lestari PK-15 dan identifikasi dengan uji *enzyme linked-immunosorbent assay* (ELISA) dan *immunoperoxidase monolayer assay* (IPMA).

MATERI DAN METODE

Spesimen

Pada bulan Maret/April 1995, Balai Penelitian Veteriner (Balitvet) Bogor menerima spesimen dari Balai Penyidikan Penyakit Hewan (BPPH) Wilayah I Medan berupa organ-organ dalam babi. Pada surat pengantar dijelaskan bahwa babi-babi tersebut mati karena terserang penyakit menular dengan gejala klinis, demam tinggi 41°C, anoreksia, tremor, diare, terdapat bercak merah di daerah telinga dan abdomen. Pemeriksaan yang diminta adalah diagnosis terhadap kemungkinan penyakit virus.

Pada bulan Mei 1995 penyakit serupa dilaporkan telah menyerang ternak babi di peternakan babi Kapuk, Jakarta Barat, akibat masuknya babi-babi dari Sumatera Utara. Penyakit tersebut menimbulkan banyak kematian. Tim Balitvet telah melakukan diagnosis wabah penyakit tersebut dan melakukan bedah bangkai terhadap 4 ekor babi yang baru saja mati. Dari hewan-hewan tersebut diambil organnya yang terdiri tonsil, paru-paru, ginjal, limpa, kelenjar limfe mesenterika dan usus (ileum) dimasukkan ke dalam medium transpor untuk virus berupa Dulbecco MEM yang mengandung penisilin 200 i.u., streptomisin 200 g dan 1% bovine serum albumin (BSA). Bulan Juni 1995 dari tugas lapangan di Kapuk, diperoleh spesimen 3 ekor babi mati, hasil bedah bangkai menunjukkan bahwa 2 ekor di antaranya mengalami perubahan patologi yang mengarah pada penyakit hog cholera (HC) yaitu dengan ditemukannya infark pada limpa, perdarahan berupa bercak-bercak pada ginjal yang dikenal dengan sebutan *turkey egg kidney* dan ulkus pada usus atau *button ulcer*. Organ tersebut dimasukkan ke dalam medium transpor untuk tujuan isolasi virus.

Pada bulan Agustus 1995, Balitvet menerima spesimen organ babi dari BPPH Wilayah II Bukittinggi. Pada surat pengantar disebutkan bahwa di Kotamadya Padang yaitu di Muara Kasang, Kecamatan Koto Tengah terjadi wabah penyakit dengan gejala-gejala demam tinggi, diare, anoreksia, timbul bercak-bercak perdarahan pada daun telinga dan kulit di bawah perut. Sampai dengan saat pengiriman spesimen tersebut dari populasi sebanyak 3.300 ekor telah mati sebanyak 619 ekor. Pemeriksaan yang diminta adalah terhadap kemungkinan penyakit HC.

Pengiriman spesimen yang sama terjadi pada bulan Januari dan Februari 1996, masing-masing dari BPPH wilayah V Banjarbaru dan Dinas Peternakan Propinsi Kalimantan Barat.

Menurut keterangan dari BPPH Banjarbaru, pada kasus penyakit tersebut ditemukan perubahan patologik berupa perdarahan yang berat pada alat pencernaan, Dinas Peternakan Propinsi Kalimantan Barat melaporkan bahwa wabah penyakit yang terjadi ditandai dengan gejala-gejala berupa demam tinggi 41°C, bercak-bercak merah pada kulit terutama pada daun telinga, eksudat purulen pada hidung, diare, morbiditas dan mortalitas tinggi. Menurut keterangan pada sura pengantar, peternak I dengan populasi 413 ekor telah mati 251 ekor dan sakit 152 ekor. Pada peternak II populasi 47 ekor, sakit 20 ekor, mati 8 ekor, sedangkan pada peternak III dengan populasi 600 ekor, mati sebanyak 560 ekor. Pemeriksaan yang diminta terhadap kemungkinan penyakit HC.

Pada bulan Agustus dan September 1996 BPPH wilayah II Bukittinggi dan BPPH wilayah VI Ujung Pandang mengirimkan spesimen ke Balitvet. Dari BPPH Bukittinggi dikirimkan organ berupa kelenjar limfe, paru-paru, hati, ginjal dan limpa dari babi berumur 1 bulan 10 hari. Menurut keterangan dalam waktu 2 minggu dari populasi sebanyak 700 ekor sudah mati sebanyak 150 ekor. Spesimen dari BPPH Ujung Pandang berupa paru-paru, hati, ginjal limpa yang berasal dari daerah Palopo dan Toraja. Permintaan kedua instansi tersebut diagnosis ke arah penyakit HC.

Spesimen yang terakhir diterima pada bulan April 1998 dari BPPH Bukittinggi berupa limpa dan usus babi yang berasal dari Jambi diduga mati karena terserang penyakit HC.

Isolasi virus pada biakan sel

Dari spesimen organ-organ terutama dari limpa, ginjal, usus, paru-paru, kelenjar limfe hasil kiriman atau yang diambil tim Balitvet diisolasi dan identifikasi dengan menggunakan biakan sel lestari PK-15. Metode isolasi virus dilakukan seperti isolasi virus bovine viral diarrhoe (BVD) *non cytopathogenic* menurut MEYLING (1984). Semua organ dibuat suspensi 10% dalam medium transpor, dibeku-cairkan sebanyak 2 kali, diputar dengan kecepatan 3.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit, kemudian supernatannya disaring dengan alat penyaring berpori 0,45 µm. Filtratnya diencerkan 1:10 dan 1:100 dengan medium transpor dan diinokulasikan pada biakan sel lestari PK-15 yang ditumbuhkan pada mikropelat dengan 96 lubang yang beratas datar (NUNC). Setiap enceran spesimen diinokulasikan pada 4 lubang masing-masing 0,05 ml, untuk kontrol positif diinokulasi dengan virus HC galur ALD, sedang kontrol negatif tidak diinokulasi. Mikropelat kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C dalam inkubator dengan kadar CO₂ 5% selama 3 hari. Setelah 3 hari pengeraman, medium diambil, biakan sel selapis dicuci dengan larutan 0,15 M NaCl, kemudian difiksasi dengan larutan formalin 10% selama 20 menit. Larutan fiksatif dibuang lalu dicuci dengan larutan 0,15 M NaCl, kemudian mikropelat dikeringkan selama 3 jam, kemudian dicuci lagi dengan larutan 0,15 M NaCl. Setelah pencucian, semua lubang diisi dengan antiserum HC (*Central Veterinary Laboratories, Weybridge, UK*) sebanyak 0,05 ml yang telah diencerkan 1:100 dengan larutan PBS-T 0,05% yang mengandung casein 0,2% dan diinkubasikan pada suhu kamar selama 1 jam. Setelah 1 jam, antiserum dibuang, dicuci 4 kali dengan larutan PBS-T 0,05% kemudian diisi 0,05 ml konjugat berupa rabbit anti pig IgG HRPO (Jackson Lab) yang diencerkan 1:2.000 dengan larutan PBS-T 0,05% yang mengandung casein 0,2% dan dibiarkan pada suhu kamar selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan pencucian lagi dengan larutan PBS-T 0,05% dan semua lubang diisi dengan 0,1 ml larutan substrat per lubang yang terdiri dari 2 mg 3-amino ethylcarbazole (Sigma Lab) dalam 0,5 ml dimethylformamide (Merck) dalam 10 ml 0,05 M acetat buffer pH 5,0 mengandung 5 µl 30% H₂O₂ dibiarkan pada 15-20 menit pada suhu kamar kemudian substrat dibuang, dicuci dengan larutan PBS, kemudian tiap lubang tersebut diisi dengan 0,05 ml larutan PBS dan diperiksa di bawah mikroskop.

Terhadap sampel dari Jambi dilakukan pemeriksaan tambahan yang lebih spesifik dengan *immunoperoxidase monolayer assay* (IPMA) memakai antibodi monoklonal yang spesifik terhadap virus HC yang diperoleh dari Dr. A.D. SHANNON (Elizabeth Mc. Arthur Institute, Camden, N.S.W Australia). Pada pemeriksaan ini antibodi monoklonal diencerkan 1:2 dengan larutan PBST 0,05% yang mengandung 1% skim milk, sedang konjugat rabbit anti mouse HRPO diencerkan 1:1.000 dengan larutan PBS gelatin 1%.

Deteksi antigen virus dengan enzyme linked immunosorbant assay (ELISA)

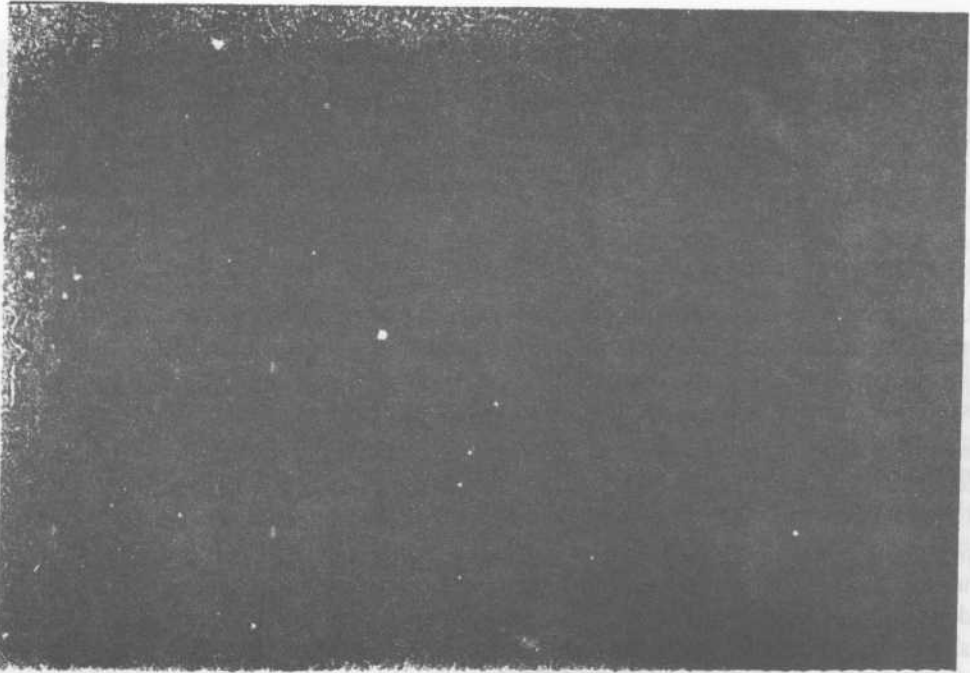
Untuk deteksi antigen pestivirus pada jaringan digunakan kit Serelisa HCV Antigen (Rhone-Merieux). Dalam teknik ini, lubang pada mikroplat telah dilapisi dengan anti HCV (P120) antibodi monoklonal, reagensia kontrol positif dan kontrol negatif, masing-masing sebanyak 0,1 ml diteteskan pada lubang yang telah ditentukan untuk pembandingan. Spesimen berupa organ atau jaringan dibuat ekstrak dengan diluen yang telah disediakan dan dimasukkan ke dalam lubang mikroplat sebanyak 0,1 ml. Tiap sampel menggunakan 2 lubang (duplo) dan diinkubasikan selama 2 jam pada suhu 37°C, kemudian dicuci 4 kali dengan PBST.

Selanjutnya anti HCV (P120) rabbit antiserum diencerkan 1:10 dan dimasukkan ke dalam tiap lubang dengan volume 0,1 ml tiap lubang, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 jam, kemudian dicuci 4 kali seperti sebelumnya, lalu konjugat berupa goat antirabbit IgG antiserum peroksidase dengan enceran 1:10 dan volume 0,1 ml dimasukkan ke dalam semua lubang dan diinkubasikan selama 1 jam dengan suhu 37°C lalu dicuci lagi 4 kali. Setiap melakukan inkubasi, mikroplat selalu ditutup dengan kertas film.

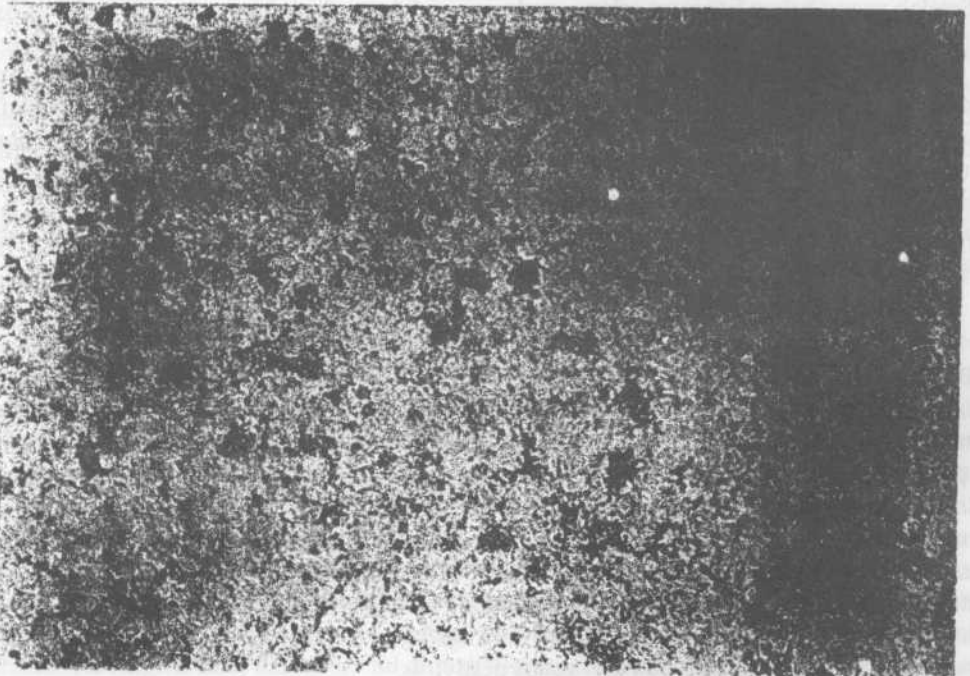
Setelah penambahan konjugat selesai, pada semua lubang diisi dengan 0,1 ml buffer substrate dan diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit tanpa ditutup kertas film, disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya. Setelah 30 menit, reaksi warna yang timbul dihentikan dengan penambahan larutan penyetop sebanyak 0,5 ml tiap lubang dan hasilnya dibaca dengan alat pembaca ELISA untuk mengukur *optical density* (OD) dengan panjang gelombang 450 nm dan 630 nm. Sebagai interpretasi dalam menyatakan positif dan negatif dihitung indeks sampel dengan memakai formula yang telah diberikan oleh Rhone Merieux yaitu : Indeks sampel = $0,5 \times (\text{OD sampel} - \text{OD PC})$ di mana OD sampel adalah rata-rata dari OD sampel sedangkan OD PC adalah rata-rata dari OD kontrol positif. Sampel dinyatakan positif apabila indeksnya $> 0,1 \times \text{OD PC}$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

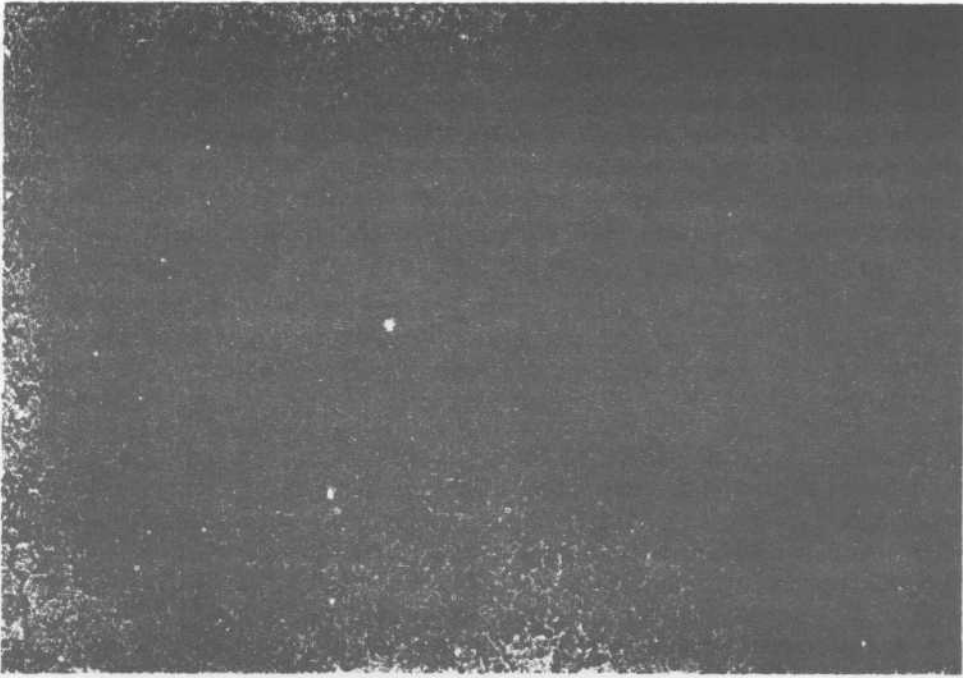
Biakan sel untuk isolasi virus yang diwarnai dengan teknik *immunoperoxidase* (*immunoperoxidase monolayer assay*/ IPMA) pada sel kontrol negatif yang tidak diinokulasi spesimen tetap terlihat jernih transparan atau tak berwarna, karena tidak ada ikatan antara antigen virus pada sel dengan serum positif, konjugat dan substrat (Gambar 1). Hal ini berbeda sekali dengan sel kontrol positif yang diinfeksi dengan virus HC referens galur ALD dan yang diinfeksi dengan spesimen dari lapangan (Gambar 2 dan Gambar 3), semuanya menunjukkan adanya pembentukan foki yang berwarna coklat, menunjukkan terjadinya pembentukan ikatan antara antigen virus, serum positif, konjugat dan substrat. Dengan terjadinya pembentukan foki pada biakan sel yang diinokulasi dengan spesimen dari lapangan tersebut memberikan petunjuk bahwa spesimen tersebut mengandung virus dari genus pestivirus.



Gambar 1. Kontrol negatif (sel PK-15) yang tidak diinfeksi spesimen dan diwarnai dengan IPMA



Gambar 2. Kontrol positif (sel PK15) yang diinfeksi virus hog cholera referens (rujukan) galur ALD dan diwarnai dengan IPMA



Gambar 3. Sel PK15 yang diinfeksi spesimen limpa dari Kapuk (DKI, Jakarta) dan diwarnai dengan IPMA

Pada deteksi antigen virus dengan memakai teknik ELISA, spesimen dari Medan (Sumatera Utara), Padang (Sumatera Barat), Kapuk (DKI, Jakarta), Pontianak (Kalimantan Barat), Palopo dan Toraja (Sulawesi Selatan), Pekanbaru (Riau) yang umumnya berupa limpa semuanya memberikan hasil positif terhadap pestivirus (Tabel 1). Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi virus, deteksi antigen virus dengan ELISA, gejala-gejala klinis penyakit, morbiditas dan mortalitas penyakit yang tinggi serta perubahan patologik yang karakteristik, wabah penyakit babi yang menyerang daerah Sumatera Utara, Sumatera Barat, DKI Jakarta, Riau, Kalimantan Barat, Sulawesi Selatan dan Jambi tersebut adalah Hog Cholera atau *Classical Swine Fever*. Hasil isolasi dan identifikasi virus dari Kapuk, DKI Jakarta pada bulan Juli 1995 yang diperkuat dengan deteksi antigen virus dan perubahan patologik segera dilaporkan oleh Balai Penelitian Veteriner kepada Direktorat Bina Kesehatan Hewan pada bulan Juli 1995. Mengingat SK Menteri Pertanian 31 Januari 1994 tentang jenis penyakit menular di Indonesia, Indonesia dinyatakan bebas dari 11 penyakit hewan menular termasuk Hog Cholera (SOEHADJI, 1995), maka dengan ditemukannya penyakit tersebut di Indonesia, memberi arti bahwa penyakit tersebut merupakan penyakit baru yang untuk pertama kalinya masuk ke Indonesia. Penularan penyakit Hog Cholera di Padang, Sumatera Barat dan Kapuk, DKI Jakarta karena daerah tersebut mendatangkan babi dari daerah wabah Sumatera Utara karena Sumatera Utara tempat awal kejadian wabah penyakit tersebut. Letak Indonesia secara geografis terdiri dari pulau-pulau maka secara alamiah sudah merupakan penghalang terhadap penyebaran penyakit dari satu pulau ke pulau lain, namun dalam kasus penyakit Hog Cholera ini tidaklah demikian. Kemungkinan telah terjadi pemasukan babi-babi antar daerah/antar pulau. Kemungkinan lainnya telah terjadi pencemaran pakan ternak oleh virus, karena hal ini pernah terjadi di Jerman, pakan ternak yang tercemar virus berperan dalam penyebaran penyakit (KRAMER *et al.*, 1995). Menurut informasi, kasus penyakit di Sumatera Utara

diawali dengan masuknya babi dari Malaysia (GUNAWAN, komunikasi pribadi), sedangkan penyakit di Kalimantan Barat berawal dari adanya kasus penyakit pada ternak babi rakyat di daerah perbatasan dengan Malaysia, yaitu Kecamatan Sokan, Kabupaten Sanggau yang dengan cepat menjalar ke daerah sekitarnya (Laporan PDHI, Kalimantan Barat, 1996). Mengenai dugaan bahwa penyakit ini berasal dari Malaysia, ada benarnya mengingat penyakit ini memang sudah ditemukan di Malaysia (HASHIM, 1990). Karena penyakit ini sudah meluas ke beberapa daerah (propinsi) untuk mengatasinya perlu dilakukan vaksinasi massal di daerah-daerah yang terserang baik pada babi rakyat maupun babi komersial. Mengingat virusnya tahan terhadap kondisi lingkungan sedangkan hewan yang divaksinasi dan mempunyai kekebalan yang protektif masih dapat terinfeksi dan menyebarkan virus apabila titer antibodi netralisasi sekitar 32 (TERPSTRA dan WENSVOORT, 1988), maka upaya pemberantasan penyakit ini diduga berlangsung lama. Hal ini terbukti dengan masih adanya kasus penyakit di Jambi tahun 1998. Sehubungan dengan masalah tersebut, pihak yang berwenang dalam hal ini Direktorat Jenderal Peternakan perlu menetapkan daerah tertular, terancam dan bebas. Di daerah tertular dan terancam perlu dilakukan vaksinasi massal. Selain itu harus diterapkan larangan pengeluaran ternak babi dari daerah tertular ke daerah yang terancam dan bebas. Apabila diperlukan impor ternak babi untuk meningkatkan mutu genetik ternak babi di Indonesia, sebaiknya pemerintah tidak mendatangkan babi dari negara-negara yang tidak bebas penyakit HC.

Tabel 1. Hasil isolasi virus Hog Cholera dan deteksi antigen virus dengan uji ELISA terhadap spesimen dari beberapa daerah di Indonesia

Daerah	Jenis spesimen	Deteksi antigen (Elisa)	Isolasi virus (diwarnai dengan IPMA)
Sumatera Utara	Limpa	+	TD
	Usus	+	TD
	Paru-paru	+	TD
Sumatera Barat	Limpa	+	TD
	Usus	+	TD
	Ginjal	+	TD
Kapuk, DKI Jakarta	Limpa	+	+
	Kel. mesenterika	+	+
	Ginjal	+	TD
Kalimantan Barat (BPPH Banjarbaru)	Paru-paru	+	TD
	Hati	+	TD
	Ginjal	+	TD
	Usus	+	TD
Kalimantan Barat (Dinas Peternakan Propinsi)	Paru-paru	+	TD
	Hati	+	TD
	Limpa	+	+
	Ginjal	+	+
	Usus	+	+
Riau (Pekanbaru)	Limpa	+	+
	Kel. limfe	+	+
	Paru-paru	+	TD
	Ginjal	+	TD
Sulawesi Selatan (Toraja dan Palopo)	Limpa	+	+
	Ginjal	+	+
	Paru-paru	+	TD
Jambi	Limpa	TD	+
	Usus	TD	+

Keterangan : TD = tidak dilakukan

KESIMPULAN

Dari hasil isolasi dan identifikasi virus, telah diperoleh 6 isolat virus Hog Cholera, yaitu dari Pekanbaru (Riau), Kapuk (Jakarta), Pontianak (Kalimantan Barat), Toraja dan Palopo (Sulawesi Selatan), serta Jambi.

DAFTAR PUSTAKA

- HARKNESS, Jw. 1985. Classical swine fever and its diagnosis: A current review. *Vet. Rec.* 116: 288-293
- HASHIM, H. 1990. Programme for the eradication of classical swine fever in Malaysia. Control of major livestock disease in Asia. Proceedings of a symposium held joining with the Federation of Asian Veterinary Associations (FAVA), Pataya, Thailand 8-9 November 1990. 36-46.
- KRAMER, M., R. AHL, J. TEUFFERT, K. KROSSCHEWSKI, H. SCHLUTER, and J. OTTE. 1995. Classical swine fever in Germany. Some epidemiological aspects. In: Proceeding of a meeting held at the University of Reading on the 29th, 30th and 31st of March 1995. *Soc. Vet. Epid. Prev. Med.* 110-130.
- MEYLING, A. 1984. Detecting of BVD virus in viraemic cattle by an indirect immunoperoxidase technique. In Recent Advance in Virus diagnosis. Martinus Nijhoff Publishers. 37-46.
- SHANNON, A.D., C. MORRISSY, S.G. MACKINTOSH, and H.A. WESTBURY. 1993. Detection of Hog Cholera virus antigens in experimentally infected pigs using an antigen capture ELISA. *Vet. Microbiol.* 34: 233-248.
- SOEHADJI. 1995. Pembinaan kesehatan hewan dan pengamanan bahan pangan asal ternak. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Veteriner untuk meningkatkan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak. Balai Penelitian Veteriner, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian. Cisarua, Bogor 22-24 Maret 1994. 1-15.
- SUSA, M.M., A. KONIG, SAALMULLER, M. REDDEHASE, and JURGENTHIEL. 1992. Pathogenesis of classical swine fever: B Lymphocytes deficiency caused by Hog Cholera virus. *J. Virol.* 6(2): 1171-1175
- TERPSTRA, C. 1991. Hog cholera: an up date of present knowledge. *Br. Vet. J.* 147:397-406.
- VAN OIRSCHOT, J.T. 1986. *Hog Cholera*. In : *Diseases of Swine*. 6th Ed. Iowa State University Press. pp.247-285.
- WENSVOORT, G., M. BLOEMRAAD, and C. TERPSTRA. 1988. An enzyme immunoassay employing monoclonal antibodies and detecting specifically antibodies to classical swine fever virus. *Vet. Microbiol.* 21:129-140.
- WENSVOORT, G., C. TERPSTRA, J. BOONSTRA, M BLOEMRAAD, and D. VAN ZAANE. 1986. Production of monoclonal antibodies against swine fever virus and their use in laboratory. *Vet. Microbiol.* 12:101-108.
- WILLIAMS, D.R. and D. MATTHEWS. 1988. Outbreaks of classical swine fever in Great Britain in 1986. *Vet. Rec.* 122:479-483.
-