

DETEKSI BRUCELLOSIS PADA SAPI POTONG DI STASIUN KARANTINA PERTANIAN KELAS I SUMBAWA BESAR

Nayeng Githa Aiyodya Ayunda¹, Izzul Islam^{1*}, dan Ardiyanto Chandra Wijaya²

¹Bioteknologi, FITH, Universitas Teknologi Sumbawa, Indonesia

²Stasiun Karantina Pertanian Kelas I Sumbawa Besar, Indonesia

Corresponding author: izzul.islam@uts.ac.id

ABSTRAK

Brucellosis merupakan penyakit menular pada sapi potong yang mengakibatkan keguguran karena terinfeksi bakteri *Brucella abortus*. Penyakit ini telah menyebar di seluruh wilayah Indonesia dengan prevalensi kasus yang cukup tinggi. Brucellosis juga dikategorikan sebagai penyakit zoonosis yang dapat terjangkit pada manusia. Meskipun Pulau Sumbawa dinyatakan bebas Brucellosis, peningkatan arus lalu lintas perdagangan dan penyebaran komoditas sapi potong akan membuka peluang masuk dan tersebarnya penyakit ini sehingga menjadi suatu ancaman. Jika arus lalu lintas perdagangan dan penyebaran komoditas sapi potong tidak terkontrol, maka peluang perpindahan penyakit dari daerah tertular ke daerah bebas Brucellosis semakin besar karena sapi yang terjangkit berperan sebagai agen penularan. Selain itu, mengandalkan gejala klinis yang terlihat dinilai tidak efektif dalam identifikasi Brucellosis. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi Brucellosis terhadap sapi potong yang berasal dari berbagai daerah di Pulau Sumbawa (Lunyuk, Moyo Hulu, Empang, dan Kabupaten Bima) dan dikarantinakan di Stasiun Karantina Pertanian Kelas I Sumbawa Besar. Guna mengetahui keberadaan antibodi *Brucella* di dalam serum darah, sebanyak 27 sampel diuji menggunakan metode *Rose Bengal Test* (RBT). Selanjutnya dilakukan pengamatan dan interpretasi hasil berdasarkan *gold standard* yang berlaku. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh sampel serum darah memiliki hasil negatif sehingga sapi potong yang ada di Pulau Sumbawa tidak terinfeksi Brucellosis.

Kata kunci: Brucellosis; *Rose Bengal Test*; Sumbawa.

ABSTRACT

Brucellosis is an infectious disease in beef cattle that causes miscarriage due to infection with the Brucella abortus bacteria. This disease has spread throughout Indonesia with a fairly high prevalence of cases. Brucellosis is also categorized as a zoonotic disease that can be transmitted to humans. Even though Sumbawa Island has been declared free of Brucellosis, the increase in trade traffic and the spread of beef cattle commodities will open up opportunities for the entry and spread of this disease, making it a threat. If the flow of trade traffic and distribution of beef cattle commodities is not controlled, the opportunity for the disease to move from infected areas to Brucellosis-free areas is greater because infected cattle act as transmission agents. In addition, relying on visible clinical symptoms is considered ineffective in identifying Brucellosis. This research aims to detect Brucellosis in beef cattle originating from various areas on Sumbawa Island (Lunyuk, Moyo Hulu, Empang, and Bima district) and quarantined at Class I Agricultural Quarantine Station in Sumbawa Besar. To determine the presence of Brucella antibodies in blood serum, 27 samples were tested using the Rose Bengal Test (RBT) method. Observations and interpretations are carried out based on the applicable gold standard. The results of the study showed that all blood serum samples had negative results so beef cattle on Sumbawa Island were not infected with Brucellosis.

Keywords: Brucellosis; *Rose Bengal Test*; Sumbawa.

1. PENDAHULUAN

Salah satu hewan penghasil daging yang membantu masyarakat Indonesia dalam memenuhi kebutuhan protein hewannya adalah sapi potong. Menurut Badan Pusat Statistik (2022), produksi daging sapi tersebut naik 2,28% dari 487.802,21 ton menjadi 498.923,14 ton di tahun 2022. Jumlah ini dipengaruhi oleh permintaan pasar yang semakin tinggi. Setiap tahun, Pulau Sumbawa selalu berkontribusi dalam mengendalikan permintaan pasar karena menyumbangkan sapi potong dalam jumlah yang cukup besar sehingga Pulau Sumbawa ditetapkan sebagai sumber sapi nasional (Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan, 2016). Hal ini dibuktikan dengan pengiriman sapi potong dari Pulau Sumbawa ke berbagai provinsi di Indonesia yang meningkat dari 23.833 ekor (2022) menjadi 43.614 ekor (2023) (Stasiun Karantina

Pertanian, 2023). Tetapi peningkatan arus lalu lintas perdagangan dan penyebaran komoditas sapi potong akan membuka peluang masuk dan tersebarnya penyakit menular, seperti Brucellosis.

Brucellosis dapat terjangkit pada sapi jantan dan betina akibat terinfeksi bakteri *Brucella abortus* (Bosilkovski *et al.*, 2015). Patogen ini termasuk golongan bakteri gram negatif *coccobacillus* dengan panjang 0,6-1,5 μm dan lebar 0,5-0,7 μm , tidak berspora, serta tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagela (Mathew *et al.*, 2015). Selain itu, *Brucella abortus* bersifat intraseluler fakultatif karena dapat berkembang biak di dalam sel dan menyerang seluruh jaringan tubuh sehingga dapat menimbulkan berbagai infeksi (Usmar *et al.*, 2017). Infeksi pada sapi jantan ditandai dengan pembengkakan skrotum sedangkan sapi betina mengalami keguguran (*abortus*) di usia kehamilan 6-9 bulan. Secara umum, bakteri ini dapat ditemukan pada cairan *fetus*, plasenta, lendir *vagina*, *semen*, *urine*, air liur, dan feses. Hasil ekskresi tersebut dapat mencemari rumput dan air minum sehingga berpotensi masuk ke dalam tubuh sapi melalui mulut, hidung, mata, saluran reproduksi, mukosa konjungtiva, luka terbuka dan *venereal transmission* atau perkawinan. Menurut *World Health Organization* (WHO) dan *Food and Agriculture Organization* (FAO), Brucellosis juga dikategorikan sebagai penyakit *zoonosis* yang mana penyakit ini dapat terjangkit pada manusia (Godfroid, 2017).

Beberapa studi melaporkan bahwa Brucellosis telah menyebar di seluruh wilayah Indonesia dengan angka prevalensi kasus 1-40% bahkan Aceh, Pulau Jawa, Sulawesi, dan Nusa Tenggara Timur dinyatakan sebagai daerah endemik (Balai Besar Penelitian Veteriner, 2016). Hal ini didukung oleh data Balai Besar Veteriner Wates (2018) yang menunjukkan bahwa sebanyak 285 ekor sapi dari DIY, Jawa Tengah, dan Jawa Timur terdeteksi positif Brucellosis. Kasus yang sama juga ditemukan pada sapi yang terinfeksi di kota Kupang dengan angka prevalensi mencapai 57% (Rohyati *et al.*, 2018). Menurut Basri dan Sumiarto (2017), penyakit ini membawa kerugian finansial yang diprediksi mencapai Rp. 3,6 trilyun setiap tahunnya sehingga Brucellosis ditetapkan sebagai Penyakit Hewan Menular Strategis (PHMS) berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian Nomor 4026/Kpts/OT.140/03/2013.

Meskipun Pulau Sumbawa dinyatakan bebas Brucellosis (Direktorat Kesehatan Hewan, 2015), lokasi Pulau Sumbawa yang berdekatan dengan daerah endemik seperti Pulau Flores, Pulau Sumba, dan Pulau Alor dapat menjadi ancaman. Jika arus lalu lintas perdagangan dan penyebaran komoditas sapi potong tidak terkontrol, maka peluang perpindahan penyakit dari daerah tertular ke daerah bebas Brucellosis semakin besar karena sapi yang terjangkit berperan sebagai agen penularan. Selain itu, mengandalkan gejala klinis yang terlihat dinilai tidak efektif dalam identifikasi Brucellosis. Oleh karena itu, perlu pengujian yang dilakukan secara serologis melalui laboratorium (Wilujeng, 2020). Berdasarkan pertimbangan tersebut, diperlukan upaya untuk mendeteksi Brucellosis dengan metode *Rose Bengal Test* (RBT) sehingga diharapkan data yang dihasilkan dapat digunakan sebagai dasar untuk melakukan pencegahan dan pengendalian Brucellosis di Pulau Sumbawa.

2. METODOLOGI

2.1. Waktu dan Tempat



Gambar 1. Peta lokasi penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Agustus 2023 di dua lokasi yang berbeda. Pengambilan sampel darah sapi potong dilakukan di Instalasi Karantina Hewan Wilayah Kerja Pelabuhan Laut Badas sedangkan pengujian Brucellosis dilakukan di Laboratorium Karantina Hewan, Stasiun Karantina Pertanian Kelas I Sumbawa Besar yang dapat dilihat pada (**Gambar 1**). Instansi tersebut memiliki laboratorium yang lokasinya berdekatan dengan instalasi karantina untuk sapi potong yang akan dilalulintaskan keluar-masuk Pulau Sumbawa.

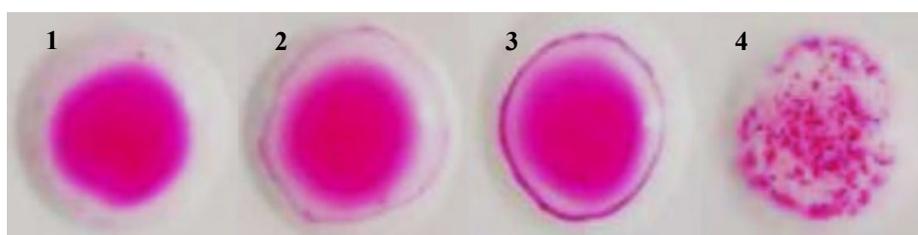
2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu pinset, *venoject 22G x 1"*, *vacutainer holder*, *vacutainer tube non-EDTA 10 ml*, alat tulis, rak tabung reaksi, *freezer*, *centrifuge*, mikropipet, *yellow tip*, *ependorf tube*, *microtube*, dan kaca datar. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu label, kapas steril, alkohol 70%, antigen *Brucella*, serum kontrol positif, dan 27 sampel serum darah sapi potong yang berasal dari berbagai daerah di Pulau Sumbawa seperti Lunyuk, Moyo Hulu, Empang, dan Kabupaten Bima.

2.3. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tiga tahapan, yaitu pengambilan, preparasi, dan pengujian sampel. Pengambilan sampel darah sapi potong dilakukan sebanyak satu kali dengan jumlah populasi 4-6 ekor setiap harinya. Sebanyak 3-5 ml darah setiap individu diambil melalui *vena jugularis* yang terletak di bagian leher menggunakan *blood collection set* yang terdiri dari *venoject*, *vacutainer holder*, dan *vacutainer non-EDTA tube*. Kemudian *tube* yang telah terisi diberi label berupa kode sampel. Dalam rangka memperoleh serum darah yang digunakan untuk pengujian, preparasi sampel dilakukan berdasarkan prosedur yang merujuk pada *Office International des Epizooties* (2013). Proses sentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit dilakukan terhadap sampel darah untuk mendapatkan cairan kuning bening yang selanjutnya disebut sebagai serum. Pada pengambilan sampel serum digunakan tabung dan *tip* yang berbeda agar terhindar dari kontaminasi.

Serum tersebut dilakukan pengujian dengan metode *Rose Bengal Test* (RBT) untuk deteksi Brucellosis dengan prosedur yang merujuk pada Pusat Veteriner Farma (2020) dan *Office International des Epizooties* (2022). Sampel serum, serum kontrol positif, dan antigen *Brucella* ditempatkan pada suhu ruang (22 ± 4 °C) sebelum digunakan. Sebanyak 30 μ l serum yang diuji dan 30 μ l serum sebagai kontrol positif diteteskan berturut-turut pada kaca datar menggunakan mikropipet. Kemudian sebanyak 30 μ l antigen diteteskan pada setiap serum lalu diaduk menggunakan *tip* hingga kontrol positif menunjukkan penggumpalan. Antigen tersebut berasal dari *Brucella abortus* berkoloni *smooth* yang diwarnai dengan *Rose Bengal* dan ditambahkan *buffer* dengan pH $3,65 \pm 0,05$ (*Office International des Epizooties*, 2018). Selanjutnya dilakukan pengamatan dan interpretasi berdasarkan golongan hasil uji RBT yang dapat dilihat pada **Gambar 2**.

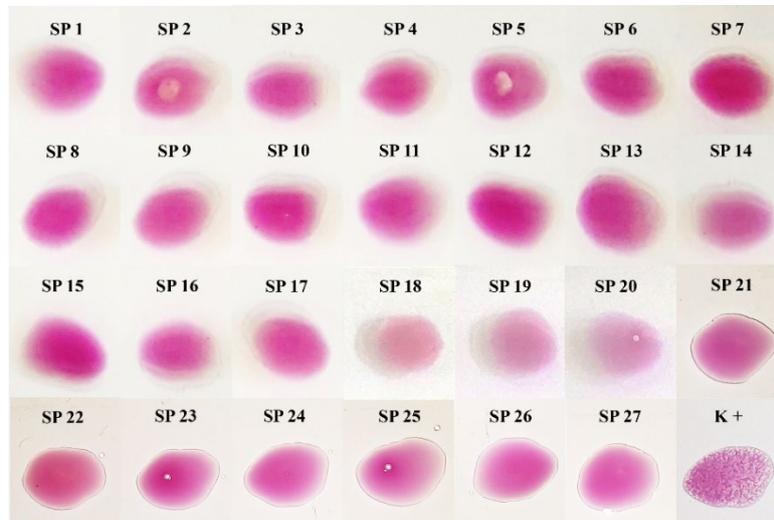


Gambar 2. Golongan hasil uji RBT (*Office International des Epizooties*, 2022)

Terdapat dua kategori penilaian yang menjadi standar perhitungan hasil RBT seperti pada (**Gambar 2**). Hasil negatif (**Gambar 2** (1)) ditunjukkan dengan tidak ada reaksi aglutinasi dan serum berwarna ungu kemerahan sedangkan hasil positif (**Gambar 2** (4)) ditunjukkan dengan reaksi aglutinasi yang menyerupai butiran pasir. Pada pendekatan RBT, hasil uji positif dibagi menjadi tiga golongan. Hasil uji dianggap positif satu (+) jika terjadi aglutinasi halus dan tepinya dikelilingi oleh partikel halus yang membentuk garis putus-putus (**Gambar 2** (2)), positif dua (++) jika aglutinasinya menyerupai butiran pasir dan menghasilkan partikel dengan pinggiran yang lebar (**Gambar 2** (3)), sedangkan hasil uji dinilai positif tiga (+++) jika terdapat aglutinasi yang utuh dengan tekstur yang kasar (**Gambar 2** (4)) (OIE, 2018). Semua data yang diperoleh dari pengujian ini disajikan dalam bentuk Tabel dan Gambar yang dianalisis secara deskriptif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian dilakukan terhadap 27 sampel serum darah sapi potong yang menjalani proses karantina di Instalasi Karantina Hewan Wilayah Kerja Pelabuhan Laut Badas. Berdasarkan pengujian yang dilakukan, hasil menunjukkan bahwa tidak ada reaksi aglutinasi pada serum yang dicampur dengan antigen *Brucella* sehingga semua sampel dinyatakan negatif terinfeksi penyakit Brucellosis. Adanya K+ (Kontrol positif) berfungsi untuk memastikan hasil pengujian sudah tepat dan melihat gambaran hasil positif Brucellosis dengan adanya reaksi aglutinasi sehingga K+ bertindak sebagai pembanding hasil uji RBT yang dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Hasil uji RBT terhadap 27 sampel serum darah sapi potong

Jika sapi terinfeksi suatu patogen, maka tubuh akan membentuk antibodi yang mampu melawan patogen tersebut. Secara umum, sapi yang telah mengalami vaksinasi atau kontaminasi *Brucella abortus* menghasilkan Ab IgM dalam waktu 5-15 hari (Wilujeng *et al.*, 2020). Respon IgM juga diikuti dengan pembentukan IgG dan IgA (Elfaki *et al.*, 2015). Kontaminasi yang terjadi dapat dideteksi dengan uji serologis yang sederhana, mudah, dan cepat, yaitu *Rose Bengal Test* (RBT). RBT merupakan tes cepat yang digunakan untuk mengidentifikasi adanya antibodi (Ab) IgG terhadap Brucellosis dengan cara mencampurkan serum darah sapi dengan antigen (Praja *et al.*, 2017). Antigen tersebut berasal dari *Brucella abortus* berkoloni *smooth* yang diwarnai dengan *Rose Bengal* dan ditambahkan *buffer* pH 3,65±0,05. Penambahan pH dengan konsentrasi asam akan menonaktifkan IgM sehingga hanya titer Ab IgG yang terdeteksi (*Office International des Epizooties*, 2018).

Mulanya IgM dapat digunakan sebagai indikator karena Ab IgM dapat terbentuk sejak awal patogenisasi dan jumlahnya bertambah ketika penyakit berada ditahap akut. Namun pembentukan Ab IgM dari proses vaksinasi menyebabkan adanya reaksi silang antara Ab IgM dan berbagai mikroorganisme asing dapat menghasilkan reaksi positif palsu. Hal ini diperkuat oleh Hosein *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa reaksi silang terjadi akibat adanya bakteri lain seperti *E. coli* dan *Y. enterocolitica* di dalam darah. Selain itu, kadar IgA akan berkurang sehingga menurunkan sensitivitas uji (Yagupsky *et al.*, 2020). Oleh karena itu, untuk mengidentifikasi inang yang terpapar Brucellosis (Shakir, 2021), deteksi terbaik adalah dengan melihat reaksi Ab IgG terhadap antigen *Brucella abortus* (Wilujeng *et al.*, 2020). Ab IgG1 sebagai indikator deteksi terbaik juga didukung oleh Mohamed *et al.* (2015) karena penyakit yang terjadi dalam waktu yang cukup lama menyebabkan kadar Ab IgG1 lebih tinggi dibandingkan dengan kadar Ab IgM. IgG muncul setelah awal kontaminasi berakhir dan dirangsang oleh protein sitoplasma patogen yang tidak dapat ditelan atau dihancurkan oleh sel fagosit sehingga patogen akan tetap berada di dalam tubuh dan berduplikasi secara intraseluler (Guo *et al.*, 2023).

Ketika *Brucella abortus* masuk ke dalam tubuh sapi, bakteri ini akan memicu respon imun alami yang terjadinya proses fagositosis oleh monosit dan makrofag. Pada umumnya, proses ini akan melisiskan patogen yang ada di *phagosome*. Di tahap ini, terjadi penyatuan *phagosome-lysosome* membentuk *phagolysosome* yang mana *lysosome* mengandung enzim hidrolitik. Enzim tersebut rilis di dalam *phagolysosome* untuk menghancurkan *Brucella abortus*. Namun bakteri ini memiliki faktor virulen yang digunakan untuk menghindari endositosis dan menghambat penyatuan *phagosome-lysosome* di dalam sel fagosit, yaitu *non-endotoxic lipopolysaccharide* (LPS) (Praja *et al.*, 2017). Kemudian *secretion system* atau T4SS yang merupakan gabungan dari 12 protein (VirB1–VirB11 dan VirD4) akan mengeluarkan molekul-molekul efektor. Molekul tersebut berperan dalam membantu *Brucella abortus* transit menuju membran *Endoplasmic Reticulum* (ER) yang

memungkinkan bakteri melakukan proses maturasi dan replikasi intraseluler sehingga bakteri dapat berkembang biak. Akibat kemampuan yang dimiliki, *Brucella abortus* akan pindah ke organ lainnya seperti sumsum tulang belakang, hati, testis, dan limpa yang kemudian akan menyebabkan granuloma. Bakteri yang berhasil lolos dari sistem pertahanan tubuh ini akan menyerang seluruh organ melalui sistem peredaran darah sehingga pengujian serologis seperti RBT tepat dilakukan (Kurmanov *et al.*, 2022).

Merujuk pada *Office International des Epizooties* (2022), 27 sampel yang diuji memiliki hasil negatif yang ditandai dengan tidak ada reaksi aglutinasi dan serum berwarna ungu kemerahan. Pacha *et al.* (2014) menyatakan bahwa apabila tidak ada antibodi terhadap *Brucella*, maka tidak ada ikatan dengan antibodi sehingga sampel yang diuji tetap homogen. Hal ini membuktikan bahwa Pulau Sumbawa bebas Brucellosis meskipun lalu lintas pengiriman sapi dari daerah di luar pulau Sumbawa tetap berjalan. Tidak adanya kasus Brucellosis disebabkan oleh tindakan karantina yang dilakukan pemerintah dalam rangka pencegahan masuk, keluar dan tersebarnya Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK) pada kegiatan impor/ekspor maupun antararea dari dan keluar Pulau Sumbawa dengan UU Nomor 21 tahun 2019.

Namun jika terdapat sampel serum darah bereaksi positif pada RBT, maka dapat dilanjutkan uji konfirmasi dengan metode *Complement Fixation Test* (CFT) atau *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (Astarina *et al.*, 2016). CFT merupakan reaksi pengikatan komplemen yang berguna untuk mengukur kadar antibodi serum maupun antigen. Jika RBT memiliki sensitivitas yang tinggi, maka CFT memiliki spesifitas yang tinggi (Kartini *et al.*, 2017). Sedangkan ELISA adalah teknik yang menggabungkan spesifitas antibodi dengan sensitivitas uji enzim secara sederhana dengan menggunakan antibodi atau antigen yang digabungkan ke suatu enzim yang mudah diuji. Setelah itu, sapi yang terinfeksi dapat dilakukan vaksinasi, pengobatan, atau pematangan.

4. KESIMPULAN

Hasil pengujian dalam rangka deteksi antibodi *Brucella* pada 27 sapi potong yang menjalani proses karantina di Instalasi Karantina Hewan Wilayah Kerja Pelabuhan Laut Badas, Stasiun Karantina Pertanian Kelas I Sumbawa Besar dengan menggunakan *Rose Bengal Test* (RBT), dapat disimpulkan bahwa tidak ditemukan reaktor bakteri *Brucella* pada darah sapi, dimana tidak terjadi aglutinasi pada serum yang dicampur dengan antigen *Brucella*. Meskipun RBT dapat menjadi metode deteksi penyakit pada sapi, namun sebaiknya diperlukan pengujian lebih lanjut untuk memastikan infeksi Brucellosis seperti adanya uji konfirmasi dengan metode *Complement Fixation Test* (CFT) atau *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) sebagai lanjutan dari metode RBT.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Astarina, D.K., Pribadi, E.S., dan Pasaribu, F.H. 2016. Penggunaan Imunostik sebagai Uji Serologi untuk Deteksi *Brucella abortus* pada Sapi. *Jurnal Veteriner*. 19 (2): 169-176.
- Badan Pusat Statistik. (2022). *Produksi Daging Sapi di Indonesia*. Jakarta.
- Balai Besar Penelitian Veteriner. (2016). *Laporan Bulanan September 2016*. Bogor.
- Balai Besar Veteriner Wates. (2018). *Peta Penyakit Hewan dan Kesmavet tahun 2018*. Yogyakarta: Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian RI.
- Basri, C. & Sumiarto, B. (2018). Taksiran Kerugian Ekonomi Penyakit Kluron Menular (Brucellosis) pada Populasi Ternak di Indonesia. *Jurnal Veteriner*. 18 (4): 547.
- Bosilkovski, M. Ljiljana, K. Sonja, C. Nikola, L. & Petrovski, M. (2015). Childhood Brucellosis: Review of 317 Cases. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 8 (12): 1027-1032.
- Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan. (2016). *Blue Print NTB Bumi Sejuta Sapi*. Mataram: E-book Kajian Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi NTB.
- Direktorat Kesehatan Hewan. (2015). *Road Map Pengendalian dan Penanggulangan Brucellosis*. Jakarta: Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.
- Elfaki, M.G. Alaidan, A.A. & Al-Hokail, A.A. (2015). Host Response to *Brucella* Infection: Review and Future perspective. *Journal of Infection in Developing Countries*. 9 (7): 697-701.
- Godfroid, J. (2017). Brucellosis in Livestock and Wildlife: Zoonotic Diseases Without Pandemic Potential in Need of Innovative One Health Approaches. *Public Health*. 75 (34): 1-6.

- Guo, X. Zeng, H. Li, M. Xiao, Y. Gu, G. Song, Z. Shuai, X. Guo, J. Huang, Q. Zhou, B. Chu, Y. & Jiao, H. (2023). The Mechanism of Chronic Intracellular Infection with *Brucella spp.* *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 13.
- Hosein, H.I. Roubay, S.R. Menshaway, A. & AbdAl-Ghany, A.E. (2017). Sensitivity and Specificity of the Commonly Used Diagnostic Procedures of Bovine Brucellosis. *Veterinary Sciences: Research and Reviews*. 3 (3): 45-52.
- Kartini, D. Noor, S.M. & Pasaribu, F.H. (2017). Deteksi Brucellosis pada Babi Secara Serologi dan Molekuler di Rumah Potong Hewan Kapuk, Jakarta dan Ciroyom, Bandung. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 5 (2): 66-73.
- Kurmanov, B. Zincke, D. Su, W. Hadfield, T.L. Aikimbayev, A. Karibayev, T. Berdikulov, M. Orynbayev, M. Nikolich, M.P. & Blackburn, J.K. (2022). Assays for Identification and Differentiation of *Brucella* Species: A Review. *Microorganisms*. 10 (8): 1584.
- Mathew, C. Stokstad, M. Johansen, T.B. Klevar, S. Mdegela, R.H. Mwamengele, G. Michel, P. Escobar, L. Fretin, D. & Godfroid, J. (2015). First Isolation, Identification, Phenotypic and Genotypic Characterization of *Brucella abortus* Biovar 3 from Dairy Cattle in Tanzania. *BMC Vet Res*. 11: 156.
- Mohamed, G.E. Alwaleed, A.A. & Abdullah, A.A. (2015). Host Response to *Brucella* Infection: Review and Future perspective. *J Infect Dev Ctries*. 9 (7): 697-701.
- Office International des Epizooties. (2013). *Chapter 1.1.2: Collection, Submission and Storage of Diagnostic Specimens*. Paris: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.
- Office International des Epizooties. (2018). *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals: Brucellosis*. Paris: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.
- Office International des Epizooties. (2022). *Chapter 3.1.4: Brucellosis (Infection with *Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*)*. Paris: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.
- Pacha, B.M. Menoueri, M.N. Said, M. Yamani, R.R.T. & Bouyoucef, A. (2014). Study of The Reliability of Technology Diagnosis of Brucellosis. *UASVM Veterinary Medicine*. 71 (1): 19-22.
- Praja, R.N. Handijatno, D. Koesdarto, S. & Yudhana, A. (2017). Karakterisasi Protein VirB4 *Brucella abortus* Isolat Lokal dengan Teknik Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Jurnal Veteriner*. 18 (3): 416-421.
- Rohyati, E. Toelle, N.N. & Hau, E.R. (2018). Uji Tapis Brucellosis pada Sapi di RPH Oeba Kota Kupang dengan Menggunakan Uji RBT. *Partner*. 23 (2): 705-709.
- Shakir, R. (2021). Brucellosis. *Journal of The Neurological Sciences*. 420.
- Stasiun Karantina Pertanian. (2023). *Laporan Tahunan Stasiun Karantina Pertanian Kelas I Sumbawa Besar 2022*. Sumbawa: Informasi Berkala Stasiun Karantina Pertanian Kelas I Sumbawa Besar.
- Usmar, Arfiansyah, R. & Nainu, F. (2017). Sensor Asam Nukleat sebagai Aktivator Imunitas Intrinsik terhadap Patogen Intraseluler. *Jurnal Farmasi Galenika*. 3 (2): 174-190.
- Wilujeng, E. Suwarno, Praja, R.N. Hamid, I.S. Yunita, M.N. & Wibawati, P.A. (2020). Serodeteksi Brucellosis dengan Metode Rose Bengal Test dan Complement Fixation Test pada Sapi Perah di Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*. 3 (2): 188-195.
- Yagupsky, P. Morata, P. & Colmenero, J.D. (2020). Laboratory Diagnosis of Human Brucellosis. *Clin Microbiol Rev*. 33 (1): e00073-19.