

DOI <http://dx.doi.org/10.36722/sst.v9i1.2117>

# Deteksi Keberadaan Antigen dan Antibodi terhadap *Equine Influenza* pada Kuda Impor dari Belanda

Amrie Muhammad<sup>1</sup>, Sri Murtini<sup>2\*</sup>, Eko Sugeng Pribadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu Biomedis Hewan, Sekolah Pascasarjana Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

<sup>2</sup>Divisi Mikrobiologi Medik, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga Bogor, 16680

Penulis untuk Korespondensi/E-mail: [smurtinifs@yahoo.com](mailto:smurtinifs@yahoo.com)

**Abstract** – Equine Influenza (EI) is a highly contagious respiratory infection disease in equidae caused by two subtypes of Influenza A Virus (H7N7 and H3N8). Indonesia is recently importing high amounts of horses from The Netherlands intended for equestrian sports, pets, and breeders. This study was aimed to discover the presence of Equine Influenza Virus (EIV) and antibody titres against EIV in imported horses from the Netherlands using Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) and Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) techniques. The results obtained were then compared to imported horses' data. A total of 199 nasopharyngeal swabs and 55 blood samples were collected. The results showed no material genetic of EIV was found in horses imported from the Netherlands, not all recently imported horses had antibodies against EIV, it's indicated that the imported horses need to be measured the antibody post vaccination before arrived in Indonesia.

**Abstrak** – Equine Influenza (EI) adalah penyakit infeksi saluran pernafasan yang sangat menular pada hewan jenis equidae yang disebabkan oleh Influenza Virus A (H7N7 dan H3N8). Indonesia saat ini memasukkan kuda dari Belanda dalam jumlah yang tinggi untuk keperluan olahraga berkuda, hewan kesayangan, dan upaya pembibitan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan Virus Equine Influenza (EIV) dan titer antibodi terhadap EIV pada kuda impor asal Belanda melalui pengujian laboratorium dengan cara Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) dan Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Hasil uji yang didapatkan kemudian dihubungkan dengan data kuda impor. Spesimen nasofaring diambil dari 199 ekor kuda dan spesimen darah diambil dari 55 ekor kuda. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada muatan genetik EIV yang terlacak pada kuda impor dari Belanda, tidak semua kuda impor yang baru didatangkan memiliki antibodi terhadap EIV. Hal ini menunjukkan perlunya data pemeriksaan keberadaan antibodi pasca vaksinasi sebelum kuda dikirim ke Indonesia.

**Keywords** - Horse, Equine Influenza, The Netherlands, PCR, ELISA

## PENDAHULUAN

**E**quine Influenza (EI) adalah penyakit infeksi saluran pernafasan akut yang sangat menular pada kuda, yang disebabkan oleh *Influenza virus A*. Virus ini diketahui memiliki tingkat penularan yang sangat tinggi dengan cakupan jenis hewan rentan yang luas. Virus EI merupakan salah satu agen patogen penyebab penyakit pernafasan yang paling penting pada kuda. Penyakit EI memiliki gejala klinik seperti flu yang utamanya menyerang saluran

pernafasan [1]. Sejak tahun 1930-an, terdapat dua sub tipe virus EI yang telah ditemukan pada kuda yaitu H7N7 (dikenal sebagai *A/equi-1*) dan H3N8 (dikenal sebagai *A/equi-2*). Virus H7N7 terakhir ditemukan pada akhir tahun 1970-an dan hanya virus H3N8 yang menyerang kuda hingga saat ini [2]. Perjalanan dengan jalur udara sebagai sarana lalu lintas yang penting pada kuda untuk kepentingan olahraga berkuda dan pembibitan memainkan peran penting dalam penyebaran virus EI secara internasional [3].

Penyakit EI adalah penyakit yang wajib dilaporkan pada *World Organisation for Animal Health* (WOAH) atau *Office International des Epizooties* (OIE) karena sebagai *WOAH-notifiable disease* pada kuda domestikasi sesuai dengan Kode Kesehatan Hewan Terrestrial [4]. Pemeriksaan laboratorium dalam rangka diagnosis penyakit EI yang dianjurkan oleh WOAH di antaranya menggunakan spesimen usap nasofaring untuk melacak virus EI dengan cara *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dan spesimen serum darah untuk melacak antibodi terhadap virus EI dengan cara *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) [5].

Belanda memiliki status dicurigai (*suspected disease*) terhadap penyakit EI pada kuda peliharaan sejak tahun 2009 hingga saat ini [6]. Indonesia merupakan negara kepulauan di Asia Tenggara dengan jumlah populasi kuda yang cukup tinggi, yaitu sebanyak 401.328 ekor [7]. Kuda yang didatangkan dari Belanda ke Indonesia ditujukan sebagai kuda pacu, hewan kesayangan, dan pembibitan.

Keputusan Menteri Pertanian Nomor 3238/Kpts/PD.630/9/2009 tentang Penggolongan Jenis-Jenis Hama Penyakit Hewan Karantina, Penggolongan dan Klasifikasi Media Pembawa menyatakan bahwa EI digolongkan ke dalam Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK) Golongan 1 yang belum pernah dilaporkan keberadaannya di Indonesia (penyakit eksotik) [8]. Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK) Golongan I adalah HPHK yang mempunyai sifat dan peluang penyebaran penyakit yang serius, cepat, belum diketahui cara penanganannya dan belum terdapat di Indonesia. Pencegahan masuknya penyakit EI pada kuda impor diperlukan sebagai cara untuk mempertahankan status Indonesia sebagai negara bebas penyakit EI.

Berdasarkan data Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian (2021) dan IQ-FAST Badan Karantina Pertanian (2021), Belanda saat ini merupakan negara eksportir kuda terbesar ke Indonesia [9,10]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan virus (antigen) EI dan antibodi terhadap virus EI pada kuda impor asal Belanda yang dimasukkan melalui Bandar Udara Internasional Soekarno-Hatta (*Soekarno-Hatta International Airport*, SHIA).

## METODE

### Desain, tempat dan waktu

Penelitian ini dilakukan di Balai Besar Karantina Pertanian (BBKP) Soekarno-Hatta, Balai Besar Uji Standar Karantina Pertanian (BBUSKP). Pengambilan spesimen usap dan darah pada kuda dilakukan di Instalasi Karantina Hewan BBKP Soekarno-Hatta, pemeriksaan laboratorium menggunakan cara *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dilakukan di Laboratorium BBKP Soekarno-Hatta, dan cara *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dilakukan di Laboratorium BBUSKP. Penelitian ini dilakukan pada bulan April hingga Desember 2022. Persetujuan Etik pada penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Hewan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University dengan nomor 021/KEH/SKE/VII/2022.

### Bahan dan alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *PCR-Chamber*, *Biosafety Cabinet* (BSC) level 2, *single micropipette* 100 -1000 µl, 20 -200 µl, 0,5 -10 µl, *aerosol resistant Tips* (ART) 1000 µl, 200 µl, 10 µl, tabung mikro 1.5 ml dan 200µl dan tabung 15 ml, rak tabung mikro dan rak tabung 15 ml, vortex, mesin sentrifugasi, *Thermal Cycler*, (*Veriti*, *Applied Biosystem*), *horizontal agarose gel electrophoresis apparatus* (*GC Plus*), *well-forming combs* (sisir pembentuk sumur), *power supply*, *microwave*, *UV transilluminator*, kamera, timbangan, parafilm, *multi-channel micropipettors* ukuran 10 µl, 100 µl, 200 µl, *disposable tip*, *96-well microplate reader*, sistem pencucian manual atau otomatis, kulkas. Adapun bahan yang digunakan adalah alat usap kapas panjang, media pengangkut spesimen usap, jarum suci hama, *Terumo Venoject*, kapas, *Onestep RT-PCR* (*Qiagen*), *Qiaamp® Viral Mini Kit*, Agarosa, *ethidium bromide*, *TAE/TBE Buffer*, *DNA ladder* 100 bp, *loading dye* (*blue juice*), etanol absolut, DNA sintetik, primer H3N8, finntip, tabung PCR, tabung mikro, sarung tangan suci hama, klorin, alkohol 70%, *ID Screen Influenza A Antibody Competition Multi-species kit*, air suling atau deionisasi.

### Pengumpulan data

Data kuda impor dikumpulkan dari pejabat karantina, importir/pemilik kuda, sertifikat kesehatan (*health certificate*) negara asal, *World Animal Health Information System* WOAH (WAHIS WOAH), pustaka, penerbitan ilmiah, dan pengamatan langsung.

### Pengambilan spesimen

Spesimen usap cairan nasofaring untuk pemeriksaan laboratorium dengan cara RT-PCR diambil dari seluruh kuda impor (100%) yang didatangkan dari Belanda pada bulan April hingga September 2022, yang berjumlah 199 ekor sedangkan sampel darah diambil dari setiap kuda yang masuk dan mendapatkan izin pengambilan darah dari pemilik kuda dan diperoleh sebanyak 55 ekor. Kuda diistirahatkan selama 5-7 hari sebelum dilakukan pengambilan spesimen serta diberi pakan dan minum yang cukup.

### Pemeriksaan untuk melacak virus EI

Pemeriksaan untuk melacak virus EI menggunakan cara RT-PCR konvensional dengan usapan cairan nasofaring kuda sebagai spesimen [5]. Primer PCR yang digunakan adalah oligo deoksiribonukleotida pendek, atau oligomer yang dirancang untuk melengkapi urutan akhir sekuen dari amplicon sasaran PCR dan digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA. Primer yang digunakan adalah primer khusus untuk H3N8 yaitu: 485F (5'-TCTTTAGCCGACTGAATTGGCTAAC-3') dan 632R (5'-ATGTACAATTTTGTCTGCTCTT-3') [11].

Pada tahap awal, RNA diisolasi menggunakan *QIAamp® Viral Mini Kit. Master Mix PCR* menggunakan perangkat *One Step RT-PCR System (Qiagen)*. Proses amplifikasi dalam uji RT-PCR dibagi menjadi tiga tahap. Pertama, denaturasi cetakan *deoxyribonucleic acid (DNA)* beruntai ganda pada suhu di atas 90 °C selama 30 detik sehingga menjadi DNA cetakan berantai tunggal. Kedua, penempelan (*annealing*) primer oligonukleotida ke DNA cetakan berantai tunggal yang dilakukan pada suhu 50-60 °C selama 30 detik. Ketiga, perpanjangan potongan DNA (*extension/elongation*) dengan *enzim polimerase* dan primer yang akan menghasilkan salinan DNA sebagai DNA cetakan. Siklus ini berlangsung pada suhu 72 °C selama satu menit dan perpanjangan akhir selama 10 menit. Hasil PCR dipisahkan menggunakan cara elektroforesis menggunakan 2% agarosa yang telah ditambahkan 0,5 µg/ml etidium bromide pada tegangan 120 V selama satu jam. Hasil elektroforesis dilihat menggunakan *PCR Gel-Documentation*, hasil uji yang positif akan memunculkan pita gen H3N8 pada titik 148 bp.

### Pemeriksaan untuk melacak antibodi terhadap virus EI

Pemeriksaan untuk melacak antibodi terhadap virus EI menggunakan cara ELISA [5]. Spesimen serum

diperiksa menggunakan perangkat diagnostik *IDvet ID SCREEN® Influenza A Antibody Competition Multi-species* untuk menemukan antibodi terhadap nukleokapsid internal dari virus Influenza A. Cara pengerjaan dilakukan sesuai dengan petunjuk pabrik (*ID Vet Innovative Diagnostics, Montpellier, Prancis*).

Sumur mikro dilapisi antigen Virus Influenza A (Ag A). Spesimen serum yang akan diuji dan kontrol ditambahkan secara terpisah pada masing-masing sumur mikro yang telah dilapisi oleh antigen. Konjugat anti-Ag A-peroksidase yaitu *horseradish peroxidase (HRP)* ditambahkan pada sumur mikro yang berisi sampel dan kontrol, sehingga akan terbentuk ikatan antigen-konjugat-HRP. Pencucian dilakukan menggunakan larutan penyangga *ELISA Wash Solution*. Larutan substrat *tetramethylbenzidine (TMB)* ditambahkan sebagai substrat, selanjutnya ditambahkan larutan  $H_2SO_4$  sebagai *ELISA Stop Solution*. Hasil pengujian dibaca dalam bentuk kerapatan optik (*optical density, OD*) pada panjang gelombang 450 nanometer (nm) menggunakan perangkat spektrofotometer *Multiskan™ FC Microplate Photometer (Thermo Scientific™)*. setiap spesimen, dihitung nilai persen persentase persaingannya berdasarkan nilai pembagian nilai OD sampel dengan nilai OD kontrol negatif dan dikalikan 100. Persentase kompetisi sebesar  $\leq 45\%$  diartikan sebagai hasil positif, 45-50% diartikan sebagai hasil yang bias (*doubtful*), dan  $\geq 50\%$  diartikan sebagai hasil negatif.

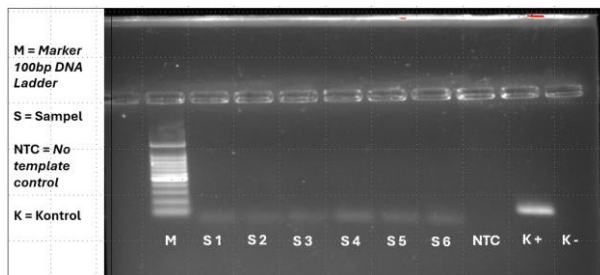
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pemeriksaan untuk melacak virus EI

Hasil pemeriksaan laboratorium terhadap spesimen usap nasofaring dengan metode uji RT-PCR menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya antigen virus EI (Tabel 1 dan Gambar 1).

Tabel 1. Hasil uji RT-PCR terhadap virus EI pada kuda asal Belanda yang masuk pada bulan April-September 2022

Periode	Jumlah spesimen (ekor)	Hasil pemeriksaan (ekor)	
		Positif	Negatif
April	47	-	47
Mei	42	-	42
Juni	16	-	16
Juli	36	-	36
Agustus	12	-	12
September	46	-	46
Jumlah	199	0	199



Gambar 1. Hasil elektroforesis

Berdasarkan pedoman OIE [5], RT-PCR baik konvensional maupun *real-time*, dapat digunakan secara rutin untuk menemukan genom virus EI dalam cairan hidung karena lebih peka dibandingkan pembiakan virus dalam telur atau penemuan nukleoprotein menggunakan alat deteksi antigen cepat (*rapid antigen detection test*, RAD test) flu manusia. Penggunaan primer khusus dalam uji RT-PCR untuk wilayah konservasi virus ini diketahui dapat memberikan hasil yang cepat dengan tingkat kepekaan (*sensitivity and specificity*) yang tinggi, meskipun jumlah virus dalam spesimen sangat sedikit [12].

Berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium untuk melacak virus EI yang dilakukan dalam penelitian ini dan keterangan dari pejabat karantina, selama ini tidak pernah ditemukan hasil pemeriksaan laboratorium dengan hasil positif virus EI pada kuda yang masuk ke Indonesia. Gejala klinik pada kuda impor yang muncul selama masa karantina secara umum antara lain demam, leleran, dehidrasi, dan kelelahan. Hal ini kemungkinan diakibatkan oleh lamanya waktu perjalanan udara, proses adaptasi dengan lingkungan baru, dan bukan disebabkan oleh virus EI. Kuda dengan gejala klinis tersebut kembali sehat dan hilang gejala klinisnya setelah dilakukan tindakan pengobatan. Peraturan Pemerintah No.82 Tahun 2000 tentang Karantina Hewan r bahwa apabila saat dilakukan pengasingan dan pengamatan, kuda menunjukkan gejala klinik HPHK Golongan I dan hasil pemeriksaan laboratorium positif, maka dilakukan tindakan karantina berupa pemusnahan [13]. Hal ini dilakukan untuk mencegah masuk dan tersebarnya HPHK ke wilayah Indonesia.

Pengiriman kuda dari Belanda ke Indonesia dilakukan menggunakan alat angkut pesawat udara dengan jenis pesawat penumpang dan/atau pesawat barang (kargo). Tindakan karantina terhadap kuda yang datang dari Belanda dilakukan oleh BBKP Soekarno-Hatta berupa pemeriksaan sertifikat kesehatan dari negara asal, keterangan mengenai jumlah, ciri-ciri kuda, dan keterangan vaksinasi yang

tertera di dalam paspor kuda. Pemeriksaan fisik kuda dilakukan oleh dokter hewan karantina dan paramedik karantina di atas pesawat pada saat kedatangan. Jika ditemukan gejala klinik HPHK atau berkas persyaratan tidak lengkap, dilakukan tindakan penolakan. Kuda diturunkan dari pesawat dan dibawa ke area Kargo setelah terbitnya surat perintah bongkar menggunakan Sertifikat Karantina Hewan KH-5. Jika seluruh persyaratan telah terpenuhi, kuda segera dimasukkan ke dalam Instalasi Karantina Hewan (IKH) untuk tindakan karantina pengasingan dan pengamatan selama 14 hari. Instalasi Karantina Hewan yang digunakan adalah IKH BBKP Soekarno-Hatta yang terletak di jalan perimeter area SHIA.

Berdasarkan Undang-Undang No. 21 Tahun 2019 tentang Karantina Hewan, Ikan, dan Tumbuhan, Pemerintah Pusat (Badan Karantina Pertanian, Kementerian Pertanian) berkewajiban membangun instalasi karantina di tempat pemasukan dan tempat pengeluaran dan/atau di luar tempat pemasukan dan tempat pengeluaran untuk keperluan tindakan karantina. Jika sarana instalasi karantina Pemerintah Pusat belum tersedia atau daya tampung dalam instalasi karantina tidak dapat menampung keseluruhan media pembawa, Pemerintah Pusat dapat menunjuk instalasi karantina pihak lain [14]. Kuda impor yang sedang dalam masa karantina tidak diperbolehkan untuk melakukan hubungan langsung dengan kuda lain yang terlebih dahulu berada di IKH tersebut. Kandang khusus karantina diletakkan dalam wilayah yang berbeda dan terpisah dari kandang kuda lainnya. Selama masa karantina di IKH, beberapa tindakan yang dilakukan antara lain pemeriksaan fisik, pengamatan gejala klinik HPHK, dan pemeriksaan laboratorium.

#### **Pemeriksaan untuk melacak antibodi terhadap virus EI**

Hasil pemeriksaan untuk melacak antibodi terhadap virus EI pada kuda impor yang didatangkan dari Belanda disajikan pada Tabel 2. Pemeriksaan untuk melacak antibodi terhadap virus EI menggunakan perangkat diagnostik *ELISA IDvet* adalah cara pemeriksaan pendukung yang bermanfaat dalam diagnosis penyakit EI [15]. Cara ini cocok digunakan dalam surveilans EI, khususnya pada populasi kuda yang belum memiliki riwayat kekebalan terhadap virus EI. Cara ini sangat peka dan terbukti dapat menemukan antibodi pada hari ketujuh pasca infeksi virus EI [16]. Seluruh kuda dalam keadaan sehat dan tidak menunjukkan gejala klinik penyakit EI saat pengambilan spesimen.

Tabel 2. Hasil uji ELISA pada kuda impor asal Belanda

Keterangan kuda	Jumlah spesimen (ekor)	Hasil pemeriksaan (ekor)	
		Positif	Negatif
<b>Kelompok</b>			
Impor Februari 2022	6	-	6
Impor Maret 2022	3	1	2
Impor April 2022	3	1	2
Impor Mei 2022	7	4	3
Impor Juni 2022	2	2	-
Impor Juli 2022	15	7	8
Impor September 2022	10	7	3
Impor Oktober 2022	9	8	1
<b>Jumlah</b>	<b>55</b>	<b>30</b>	<b>25</b>

Hasil pemeriksaan ELISA dalam penelitian ini menunjukkan bahwa antibodi terhadap nukleokapsid internal dari virus EI ditemukan pada kuda yang didatangkan bulan Maret hingga Oktober tahun 2022 dari Belanda, meskipun tidak semuanya menunjukkan adanya antibodi anti EI. Hasil pemeriksaan terhadap 55 ekor kuda meskipun telah diberikan vaksin sebelum dikirim ke Indonesia, namun hanya 55% dari kuda kuda tersebut yang memiliki antibodi terhadap EI. Berdasarkan informasi dari jenis vaksin yang digunakan, vaksin mampu menimbulkan kekebalan yang akan berlangsung hingga satu tahun. Vaksin EI terbukti mampu memberikan masa kekebalan pada kuda hingga 15 bulan pasca vaksinasi dalam uji coba [17]. Kuda-kuda impor tersebut seharusnya masih memiliki antibodi terhadap virus EI karena kewajiban vaksinasi sebelum pengiriman kuda. Hal ini menunjukkan ada kemungkinan program vaksinasi yang dilakukan di negara asal tidak menghasilkan kekebalan yang cukup, yang akhirnya berpengaruh pada hasil uji. Berbagai jenis vaksin terhadap EI telah tersedia saat ini, namun masih ada beberapa vaksin yang belum mampu menginduksi kekebalan yang optimal pada kuda, di antaranya akibat mutasi virus, kerusakan vaksin, kesenjangan kekebalan yang dimiliki kuda, dan gangguan oleh antibodi yang diperoleh dari induk (*maternal antibody*) pada kuda muda [18].

### KESIMPULAN

Tidak ada virus EI yang terlacak pada kuda impor dari Belanda dan tidak semua kuda impor yang baru didatangkan dari Belanda memiliki antibodi yang melindungi terhadap virus EI. Hal ini menunjukkan adanya risiko kemungkinan infeksi virus EI pada kuda yang tidak memiliki antibodi terhadap EI dan

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai keberadaan virus EI pada populasi kuda di Indonesia.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Menteri Pertanian yang telah memberikan beasiswa dalam tugas belajar dan penelitian. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada Badan Karantina Pertanian, Balai Besar Karantina Pertanian Soekarno-Hatta, Balai Besar Uji Standar Karantina Pertanian, Asosiasi Dokter Hewan Kuda Indonesia (ADHKI), Persatuan Olahraga Berkuda Seluruh Indonesia (PORDASI), dan pemangku kepentingan di bidang perkudaan yang telah membantu dalam pengumpulan data dan pengambilan spesimen.

### REFERENSI

- [1] R.K. Singh, K. Dhama, K. Karthik, R. Khandia, A. Munjal, S.K. Khurana, S. Chakraborty, Y.S. Malik, N. Virmani, R. Singh, B.N. Tripathi, M. Munir, J.H. van der Kolk, A Comprehensive Review on Equine Influenza Virus: Etiology, Epidemiology, Pathobiology, Advances in Developing Diagnostics, Vaccines, and Control Strategies Front. Microbiol. 9: p.1941, 2018. DOI:10.3389/fmicb.2018.01941.
- [2] A. Khan, M.H. Mushtaq, J. Muhammad, B. Ahmed, E.A. Khan, A. Khan, S.A. Zakki, E. Altaf, I. ul Haq, A. Saleem, M.A. Warrach, N. Ahmed, A.A. Rabaan, Global Epidemiology of Equine Influenza Viruses: A Possible Emerging Zoonotic Threat in Future, An Extensive Systemic Review with Evidence, Brazilian Journal of Biology, 83: e246591, 2021.
- [3] A. Cullinane, Equine Influenza and Air Transport, Equine Vet Educ, 26(9): p.456-457, 2014. DOI:10.1111/eve.12215.
- [4] World Organisation for Animal Health, WOA Terrestrial Manual Chapter 3.5.7: Equine Influenza (Infection with Equine Influenza Virus), <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/>, 2019. (Diakses pada 6 November 2021)
- [5] World Organisation for Animal Health, WOA Terrestrial Manual Chapter 3.6.7: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, <https://www.woah.org/fileadmin/Home/en>

- g/Health\_standards/tahm/A\_summry.htm, 2019. (Diakses pada 6 November 2021)
- [6] World Organisation for Animal Health, World Animal Health Information System, <https://wahis.woah.org/#/dashboards/country-or-disease-dashboard>, 2022. (Diakses pada 16 Desember 2022)
- [7] Badan Pusat Statistik, Populasi Kuda Menurut Provinsi, <https://www.bps.go.id/indicator/24/475/1/populasi-kuda-menurut-provinsi.html>, 2021. (Diakses pada 6 November 2021)
- [8] Kementerian Pertanian Republik Indonesia, Keputusan Menteri Pertanian Nomor 3238/Kpts/PD.630/9/2009 tentang Penggolongan Jenis-Jenis Hama Penyakit Hewan Karantina Penggolongan dan Klasifikasi Media Pembawa, Jakarta, 2009.
- [9] Kementerian Pertanian Republik Indonesia, Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, <http://database.pertanian.go.id/eksim/index1.asp>, 2021. [Diakses pada 9 April 2022]
- [10] Badan Karantina Pertanian, Data Komoditas Hewan Impor BBKP Soekarno-Hatta, Jakarta, IQ-FAST, 2021.
- [11] C. Wang, Q. Wang, J. Hu, H. Sun, J. Pu, J. Liu, Y. Sun, A Multiplex RT-PCR Assay for Detection and Differentiation of Avian-Origin Canine H3N2, Equine-Origin H3N8, Human-Origin H3N2, and H1N1/2009 Canine Influenza Virus, *Journal PloS One*, 12 (1): p.1-12, 2017. DOI:10.1371/journal.pone.0170374.
- [12] S. Aeschbacher, E. Santschi, V. Gerber, H.P. Stalder, R.G. Zanoni, Development of a Real-time RT-PCR for Detection of Equine Influenza Virus, *Schweiz Arch Tierheilkd*, 157: p.191-201, 2015. DOI:10.17236/sat00015.
- [13] Pemerintah Republik Indonesia, Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2000 tentang Karantina Hewan, Jakarta, 2000.
- [14] Pemerintah Republik Indonesia, Undang-Undang No. 21 Tahun 2019 tentang Karantina Hewan, Ikan, dan Tumbuhan, Jakarta, 2019.
- [15] P. Galvin, S. Gildea, S. Arkins, C. Walsh, A. Cullinane, The Evaluation of Nucleoprotein ELISA for the Detection of Equine Influenza Antibodies and the Differentiation of Infected from Vaccinated Horses (DIVA), *Influenza Other Respir. Viruses*, 7: p.73-80, 2013. DOI:10.1111/irv.12195.
- [16] R. Kittelberger, A.M. McFadden, M.J. Hannah, Comparative Evaluation of Four Competitive/Blocking ELISAs for the Detection of Influenza A Antibodies in Horses, *Vet. Microbiol.* 148: p.377-83, 2011. DOI:10.1016/j.vetmic.2010.08.014.
- [17] J.A. Mumford, D.M. Jessett, E.A. Rollinson, D. Hannant, M.E. Draper, Duration of Protective Efficacy of Equine Influenza Immunostimulating Complex/Tetanus Vaccines, *Vet Record*. 134(7): p.158-162, 1994. DOI:10.1136/vr.134.7.158. PMID: 8160328.
- [18] F.S. Oladunni, S.O. Oseni, L. Martinez-Sobrido, T.M. Chambers, Equine Influenza Virus and Vaccines, *Viruses*, 13: p.1657, 2021. DOI:10.3390/v13081657.