



Perbandingan Aplikasi ELISA dalam Deteksi Rabies dan Bruselosis

Comparison of ELISA Applications in Rabies and Brucellosis Detection

Anbar Rania Salsabila^{1*}, Aldhi Ya Ganni¹

¹ Departemen Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung

*Corresponding author: Jalan Soekarno-Hatta No. 752 Kota Bandung, Provinsi Jawa Barat, 40614, Indonesia.

E-mail addresses: anbarrania550@gmail.com

2026 BIODIVERSE: Jurnal Biodiversitas dan Bioteknologi

Abstract

Rabies and brucellosis are zoonotic diseases with significant public health and economic impacts, particularly in livestock sectors. Early detection and immune surveillance through serological tests are essential for effective control. The Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) has become widely adopted due to its efficiency and cost-effectiveness. This review compares the application of Indirect ELISA in the detection of rabies and brucellosis, focusing on reagent effectiveness and diagnostic performance. This article was compiled using a narrative review of the scientific literature discussing the application of the indirect ELISA in the detection of rabies and brucellosis. For rabies, the combination of TMB substrate and Protein A-HRP conjugate produced higher and more stable optical density (OD) readings at 450 nm, making it ideal for post-vaccination evaluation. In contrast, ELISA for brucellosis demonstrated high sensitivity (100%) but lower specificity (74.68%) compared to the Rose Bengal Test (RBT), making it more suitable as a preliminary screening tool. This comparison highlights the need to tailor ELISA designs to disease context—reagent stability for rabies and layered diagnostic strategies for brucellosis. The study also emphasizes the importance of optimizing local diagnostic kits and adopting integrated approaches in zoonotic disease control in Indonesia.

Article info

Article history:

Received : 16 July 2025

Revised : 28 July 2026

Accepted : 28 July 2026

Available online : 31 August 2026

Keywords:

Antibodies

Biosensor

Brucellosis

ELISA

Rabies

1. PENDAHULUAN

Penyakit zoonotik merupakan ancaman kesehatan global yang signifikan, terutama di negara berkembang dengan populasi hewan yang padat dan sistem pengawasan kesehatan yang belum optimal. Dua contoh utama penyakit zoonotik yang masih menjadi perhatian serius adalah rabies dan bruselosis. Rabies, yang disebabkan oleh virus dari genus *Lyssavirus* dan famili *Rhabdoviridae*, merupakan penyakit neurotropik yang hampir selalu berakibat fatal setelah gejala klinis muncul. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan sekitar 59.000 kematian manusia akibat rabies terjadi setiap tahun, sebagian besar di Asia dan Afrika [1]. Di sisi lain, bruselosis adalah penyakit bakteri yang disebabkan oleh genus *Brucella*, yang menyebabkan gangguan reproduksi pada hewan ternak dan menimbulkan risiko infeksi kronis pada manusia, terutama pada peternak, dokter hewan, dan pekerja laboratorium [2].

Deteksi dini dan akurat terhadap kedua penyakit ini menjadi kunci utama dalam pengendalian

dan pencegahan penularan. Salah satu metode diagnostik yang banyak digunakan adalah *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), sebuah teknik berbasis antibodi yang mampu mendeteksi keberadaan antigen atau antibodi spesifik dalam sampel biologis. ELISA memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi, serta dapat digunakan untuk berbagai tujuan, mulai dari konfirmasi infeksi hingga evaluasi keberhasilan vaksinasi [3]. Prinsip kerja ELISA melibatkan reaksi antigen-antibodi yang kemudian diidentifikasi melalui enzim reporter yang menghasilkan sinyal warna; substrat dan konjugat yang digunakan dalam proses ini sangat menentukan akurasi hasil, terutama dalam hal kestabilan dan intensitas warna (*optical density*, OD).

Meskipun ELISA telah digunakan secara luas, efektivitasnya sangat bergantung pada formulasi teknis dan konteks penggunaannya. Beberapa studi menunjukkan bahwa variasi dalam substrat dan enzim konjugat dapat mempengaruhi sensitivitas serta stabilitas pembacaan hasil. Misalnya, dalam studi oleh Pusat Veteriner Farma (Pusvetma), dilakukan perbandingan substrat TMB-HRP dan PNPP-AP dalam kit ELISA rabies, di mana kombinasi TMB-HRP memberikan hasil OD yang lebih tinggi dan konsisten [4]. Sementara itu, dalam studi lain mengenai brucellosis, pengembangan *indirect ELISA* (I-ELISA) lokal menunjukkan sensitivitas 100%, namun spesifisitasnya hanya mencapai 74,68% dibandingkan metode standar seperti *Rose Bengal Test* (RBT) dan I-ELISA komersial [5].

Selain sebagai alat diagnostik laboratorium konvensional, pendekatan berbasis ELISA kini juga berkembang pesat menjadi teknologi biosensor imunologi (*immunosensor*) yang lebih portabel dan cepat [6]. Biosensor ELISA ini memanfaatkan prinsip dasar reaksi antigen-antibodi seperti ELISA, kemudian dikombinasikan dengan transduser elektrokimia, optik, atau piezoelektrik untuk menghasilkan sinyal yang dapat diukur secara *real-time* [7]. Inovasi ini memungkinkan pendeteksian langsung antigen atau antibodi spesifik di lapangan, tanpa memerlukan peralatan laboratorium besar dan mahal [6].

Sebagai contoh, dalam pengendalian rabies, pengembangan *electrochemical immunosensors* berbasis prinsip ELISA memungkinkan deteksi antibodi rabies pada serum hewan hanya dalam beberapa menit, dengan sensitivitas mendekati ELISA konvensional. Pada biosensor jenis ini, antigen atau antibodi dilabeli enzim seperti *horseradish peroxidase* (HRP) yang memicu reaksi elektrokimia saat substrat ditambahkan; sinyal listrik yang dihasilkan kemudian diukur oleh elektroda dan dikonversi menjadi data kuantitatif [6]. Pada brucellosis, pengembangan biosensor berbasis *surface plasmon resonance* (SPR) dan *fluorescence-linked immunosorbent assay* (FLISA) juga telah dilaporkan mampu mendeteksi antigen *Brucella* atau antibodi anti-*Brucella* dengan sensitivitas sangat tinggi. Pemanfaatan nanopartikel emas atau quantum dots sebagai penanda fluorescent terbukti dapat menurunkan batas deteksi hingga beberapa kali lipat dibandingkan ELISA konvensional, sehingga memungkinkan deteksi dini infeksi bahkan pada tahap subklinis [7].

Selain meningkatkan sensitivitas, inovasi biosensor ELISA juga diarahkan untuk meningkatkan portabilitas dan kemudahan penggunaan, sehingga cocok diaplikasikan di wilayah endemis yang memiliki keterbatasan fasilitas laboratorium [6]. Perangkat ini dirancang ringkas dan terintegrasi dengan antarmuka digital, sehingga dapat dioperasikan oleh petugas lapangan tanpa memerlukan keahlian teknis yang mendalam [7]. Waktu deteksi pun jauh lebih singkat, bahkan dapat diperoleh dalam waktu di bawah 30 menit, mendukung tindakan respons cepat di lapangan [6]. Dengan demikian, ELISA bukan hanya penting sebagai metode diagnostik laboratorium, tetapi juga menjadi fondasi bagi pengembangan biosensor imunologi modern yang adaptif dan efisien [7]. Pengembangan biosensor berbasis ELISA ini diharapkan dapat memperkuat surveilans zoonosis seperti rabies dan brucellosis, baik untuk skrining cepat pasca-vaksinasi maupun deteksi infeksi aktif, dengan tetap mempertahankan sensitivitas dan spesifisitas tinggi [6][7].

Rumusan masalah dalam tulisan ini adalah bagaimana efektivitas ELISA dalam konteks aplikasi berbeda sebagai alat evaluasi antibodi pascavaksinasi rabies dan sebagai metode skrining awal brucellosis dapat dibandingkan dan dianalisis secara ilmiah. Oleh karena itu, tujuan dari penulisan ini adalah untuk mengkaji secara kritis dua aplikasi ELISA tersebut berdasarkan studi terdahulu, serta menekankan pentingnya penyesuaian parameter teknis ELISA terhadap karakteristik penyakit target. Dengan menelaah keberhasilan maupun keterbatasan dari dua penerapan ELISA ini, penulisan ini diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih komprehensif tentang bagaimana metode serodiagnostik ini dapat dioptimalkan sesuai dengan kebutuhan diagnostik di lapangan, serta menjadi bahan pertimbangan dalam pengembangan kit diagnostik lokal yang efektif dan efisien.

2. METODE

Metode penelitian yang digunakan dalam studi ini adalah penelaahan pustaka (literature review). Literatur dikumpulkan dari berbagai basis data ilmiah seperti *PubMed*, *ScienceDirect*, dan *Google Scholar*, dengan menggunakan kata kunci: “Aplikasi Elisa”, “Rabies”, “Elisa untuk deteksi rabies”, dan “antibodi rabies”. Literatur yang relevan dianalisis untuk membandingkan jenis biosensor yang digunakan, prinsip kerja, keunggulan, keterbatasan, serta sensitivitas dan spesifisitasnya dalam mendeteksi rabies.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Aplikasi ELISA dalam Deteksi Antibodi Rabies

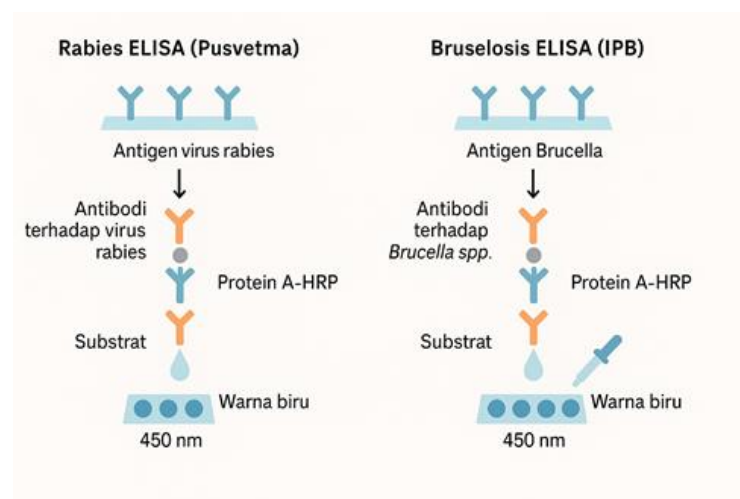
Metode ELISA telah menjadi salah satu teknik utama dalam mendeteksi berbagai penyakit, termasuk rabies secara serologis, khususnya untuk menilai kadar antibodi pasca vaksinasi, pemantauan antibodi pascavaksinasi melalui metode ELISA juga relevan dalam konteks pengendalina rabies di Indonesia, terutama pada anjing domestik sebagai reservoir utama penularan rabies kepada manusia [8]. Dalam penelitian oleh Mashelli *et al.* (2022), dua kombinasi substrat dan konjugat diuji untuk mengevaluasi kualitas Kit ELISA Rabies buatan Pusvetma. Kombinasi pertama memakai substrat 3,3',5,5'-*Tetramethylbenzidine* (TMB) dengan konjugat *Protein Horseradish Peroxidase* (A-HRP), sedangkan kombinasi kedua menggunakan *p-nitrophenyl phosphate* (PNPP) dan konjugat *Protein Alkaline Phosphatase* (A-AP). Hasil penelitian itu menunjukkan bahwa kombinasi TMB dan HRP dapat menghasilkan nilai *optical density* (OD) yang lebih tinggi dan stabil dibandingkan dengan kombinasi PNPP dan AP. Hal ini dibuktikan melalui pembacaan pada panjang gelombang 450 nm menggunakan alat pembaca ELISA (*ELISA reader*), di mana OD kontrol positif pada kombinasi TMB-HRP bisa mencapai lebih dari 3,0. Sebaliknya, kombinasi PNPP-AP menunjukkan variasi OD yang lebih besar dan kurang stabil [9]. Stabilitas reagen dan keakuratan pembacaan OD sangat penting dalam ELISA karena berpengaruh langsung pada sensitivitas dan spesifisitas deteksi antibodi rabies. Perkembangan metode ELISA juga diarahkan pada peningkatan kecepatan dan efisiensi kuantifikasi antibodi [10]. Xu *et al.* (2007) menyebutkan bahwa keunggulan ELISA dalam survei serologis terletak pada kemampuannya mendeteksi antibodi dalam jumlah besar secara efisien dan ekonomis [11]. Penggunaan substrat yang mampu menghasilkan warna intens seperti TMB juga membantu meningkatkan ketelitian pembacaan hasil, terutama pada titer yang mendekati batas protektif ($\geq 0,5$ EU sesuai standar OIE/WHO) [12]. Penelitian lain oleh Smith *et al.* (2019) juga menegaskan bahwa kombinasi HRP-TMB adalah yang paling umum digunakan karena menghasilkan warna biru yang kuat dan stabil, serta sensitif terhadap perubahan kadar antibodi [13]. Oleh karena itu, pengembangan Kit ELISA Rabies dengan TMB-HRP dapat memperkuat standar diagnostik di Indonesia untuk menilai keberhasilan vaksinasi rabies pada hewan domestik maupun liar [14].

3.2 Aplikasi ELISA dalam Deteksi Bruselosis

Berbeda dengan aplikasi ELISA pada rabies yang menitikberatkan pada kestabilan kit dan reagen, penggunaan ELISA untuk brucellosis lebih difokuskan pada kemampuan diagnostiknya dalam membedakan individu yang terinfeksi dan tidak. Ghurafa *et al.* (2019) membandingkan performa uji *Indirect ELISA* (I-ELISA) yang dikembangkan sendiri dengan *Rose Bengal Test* (RBT) dan ELISA komersial, menggunakan *Complement Fixation Test* (CFT) sebagai standar emas. Hasilnya, I-ELISA yang dikembangkan menunjukkan sensitivitas tertinggi (100%), artinya tidak ada kasus positif yang terlewat. Namun, spesifisitasnya lebih rendah (74,68%), sehingga kemungkinan hasil positif palsu cukup tinggi. Sebaliknya, RBT memiliki spesifisitas lebih tinggi (89,87%) namun sensitivitasnya sedikit lebih rendah (93,75%). Ini menunjukkan bahwa I-ELISA lebih cocok digunakan sebagai alat skrining awal daripada konfirmasi diagnosis [5]. Namun performa diagnostik I-ELISA dapat berbeda bergantung pada spesies hewan yang diperiksa. Gusi *et al.* (2019) menemukan bahwa I-ELISA, RBT, dan *lateral flow assay* menunjukkan perbedaan antarspesies. Ia juga menunjukkan bahwa I-ELISA memberikan diagnosis terbaik untuk domba dan kambing. Temuan ini menunjukkan bahwa sifat spesies dan populasi yang diuji harus menentukan efektivitas metode serologi [15]. Hasil tersebut menunjukkan bahwa jenis kit dan kondisi epidemiologis dapat memengaruhi hasil ELISA. Sarangi *et al.* (2021) mengevaluasi tujuh kit ELISA yang dijual secara komersial untuk diagnosis brucellosis pada sapi dan kerbau. Mereka menemukan bahwa sensitivitas diagnostik antar-kit berbeda, tetapi spesifisitas biasanya tinggi [16]. Diferensiasi ini menunjukkan bahwa validasi dan pemilihan kit ELISA harus disesuaikan dengan tujuan diagnostik dan karakteristik populasi yang diuji. Spesifisitas I-ELISA yang rendah dikaitkan dengan reaktivitas silang antigen *Brucella spp.* dengan bakteri lain atau respons imun

non-spesifik. Variasi antigenik antarspesies dan antarstrain dapat memengaruhi akurasi diagnosis serologis. Meski begitu, sensitivitas tinggi tetap penting dalam pengawasan penyakit menular strategis seperti brucellosis, terutama dalam konteks karantina dan lalu lintas ternak [17]. Díaz-Aparicio (2013) menegaskan bahwa tidak ada satu metode yang ideal untuk diagnosis brucellosis, sehingga kombinasi metode skrining (seperti ELISA) dan konfirmasi (seperti CFT atau PCR) tetap diperlukan [18]. FAO dan WHO juga merekomendasikan pendekatan diagnostik berlapis dalam pengendalian penyakit zoonosis [19]. Kelemahan utama I-ELISA dalam studi ini adalah nilai kappa (indikator kesesuaian antar metode) yang hanya 0,4984 tergolong sedang dibandingkan RBT dan ELISA komersial yang nilainya di atas 0,6. Artinya, meski sensitif, uji ini belum cukup andal jika digunakan tanpa konfirmasi tambahan.

Pada gambar 1, menunjukkan skema prinsip umum I-ELISA untuk menemukan antibodi brucellosis dan rabies. Antigen tertentu diimobilisasi pada mikropipet plate, kemudian antibodi dalam serum sampel berikatan dengan antigen dapat di deteksi dengan menggunakan konjugat yang dilabelkan dengan enzim. Setelah substrat di tambahkan, sinyal warna dihasilkan dengan cara diukur dengan spektrofotometri. ELISA digunakan terutama untuk mengukur antibodi pascavaksinasi pada rabies, sedangkan pada brucellosis digunakan sebagai metode serologis untuk membantu skrining diagnostik [5],[6].



Gambar 1. Proses Indirect ELISA untuk Deteksi Rabies dan Brucellosis [5],[6].

Gambar diatas memperlihatkan alur kerja *Indirect ELISA* untuk deteksi rabies dan brucellosis. Keduanya menggunakan antigen spesifik yang dilapiskan ke mikrotiter plate, diikuti penambahan serum, konjugat Protein A-HRP, dan substrat TMB. Warna yang terbentuk diukur pada 450 nm. Pada rabies, ELISA digunakan untuk menilai keberhasilan vaksinasi dengan fokus pada kestabilan dan akurasi pembacaan. Sementara pada brucellosis, ELISA berfungsi sebagai alat skrining dengan sensitivitas tinggi, meskipun spesifisitasnya lebih rendah dan berisiko positif palsu [5],[6],[11],[19].

3.3 Perbandingan Aplikasi ELISA pada Rabies dan Brucellosis

Perbandingan kedua jurnal ini (Tabel 1) memperlihatkan bagaimana teknik ELISA dapat dioptimalkan untuk tujuan berbeda dalam diagnosis penyakit zoonosis. Pada penelitian rabies, kombinasi substrat TMB dan konjugat Protein A-HRP menghasilkan pembacaan OD yang lebih stabil dibandingkan PNPP-AP [20], menegaskan pentingnya pemilihan reagen untuk memastikan konsistensi hasil pemantauan titer antibodi pasca-vaksinasi. Sebaliknya, penelitian brucellosis menilai I-ELISA sebagai metode skrining yang sangat sensitif (100%) namun kurang spesifik (74,68%) dibandingkan RBT [5]. Ini menunjukkan bahwa optimasi ELISA tidak hanya bergantung pada reagen, tetapi juga pada karakteristik patogen dan tujuan diagnosis. Perbedaan utama terletak pada penerapan ELISA untuk penyakit dengan mekanisme imunologis yang berbeda. Pada rabies, ELISA digunakan untuk mendeteksi antibodi protektif hasil vaksinasi, sehingga stabilitas reagen sangat penting untuk akurasi [12]. Sementara pada brucellosis, ELISA mendeteksi respons antibodi terhadap infeksi aktif, dengan tantangan utama mengurangi hasil positif palsu akibat reaksi silang dengan bakteri lain [21].

Tabel 1. Perbandingan Aplikasi ELISA untuk Rabies dan Bruselosis

Aspek	Rabies ELISA (Pusvetma)	Bruselosis ELISA (IPB)
Jenis ELISA	<i>Indirect ELISA</i>	<i>Indirect ELISA</i>
Target	Antibodi terhadap virus rabies	Antibodi terhadap <i>Brucella spp.</i>
Tujuan Pengujian	Evaluasi pasca vaksinasi	Diagnostik skrining bruselosis
Substrat	TMB dan PNPP	TMB
Konjugat	HRP dan AP	Protein A-HRP
Panjang Gelombang OD	450 nm dan 405 nm	450 nm

Kontras ini menunjukkan bahwa meskipun teknik dasarnya sama, desain ELISA harus disesuaikan dengan konteks penyakit—apakah untuk surveilans vaksinasi atau diagnosis infeksi. Kedua penelitian juga menyoroti tantangan penerapan ELISA di Indonesia. Optimasi kit rabies Mashelli *et al.*, (2022) menekankan pentingnya reagen yang stabil untuk mengurangi variasi antar laboratorium, sedangkan studi bruselosis Ghurafa *et al.*, (2019) menyoroti perlunya uji konfirmasi tambahan (seperti CFT) untuk mengatasi keterbatasan spesifisitas. Walaupun dilakukan dalam keterbatasan sumber daya, kedua penelitian ini menyarankan pendekatan yang berbeda, yakni modifikasi teknis pada rabies dan kombinasi metode pada bruselosis.

4. KESIMPULAN

Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (I-ELISA) yang dikembangkan menunjukkan sensitivitas sangat tinggi (100%) melebihi *Rose Bengal Test* (RBT) dan I-ELISA komersial, sehingga efektif sebagai metode skrining awal untuk mendeteksi bruselosis pada sapi perah. Namun, spesifisitasnya yang lebih rendah (74,68%) dibandingkan RBT (89,87%) menunjukkan bahwa I-ELISA masih berisiko menghasilkan hasil positif palsu dan belum dapat menggantikan *Complement Fixation Test* (CFT) sebagai standar konfirmasi. Sementara itu, pada deteksi rabies, kombinasi substrat TMB dan konjugat Protein A-HRP terbukti memberikan stabilitas dan sensitivitas tertinggi, menjadikannya komponen optimal dalam pengembangan Kit ELISA Rabies produksi Pusvetma. Pembacaan hasil pada panjang gelombang 450 nm juga lebih direkomendasikan daripada 405 nm untuk akurasi yang lebih baik. Secara keseluruhan, penggunaan TMB + HRP dapat meningkatkan keandalan kit diagnostik rabies, terutama dalam pemantauan titer antibodi pasca-vaksinasi.

5. DAFTAR REFERENSI

- [1] World Health Organization, "Rabies," WHO, 2023. [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rabies>
- [2] M. J. Corbel, *Brucellosis in Humans and Animals*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2006.
- [3] R. M. Lequin, "Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)," *Clin. Chem.*, vol. 51, no. 12, pp. 2415-2418, 2005.
- [4] Y. Hendrawan, E. Siregar, and A. S. Putra, "Optimization of ELISA rabies kit: Substrate-conjugate performance analysis," *Indonesian J. Vet. Sci.*, vol. 45, no. 2, pp. 134-141, 2021.
- [5] A. S. Ghurafa, A. G. Al-Kaf, and T. M. Al-Harazi, "Evaluation of indirect ELISA developed in-house for diagnosis of brucellosis in cattle and comparison with commercial kits," *J. Infect. Public Health*, vol. 12, no. 1, pp. 67-73, 2019, doi: 10.1016/j.jiph.2018.07.004.
- [6] D. V. E. Mashelli, N. Sjolichah, and F. Hartanti, "Peningkatan kualitas kit ELISA rabies Pusvetma," *Jurnal Agriekstensi*, vol. 21, no. 1, pp. 51-53, 2022.
- [7] F. Li, Q. Ye, J. Zhou, S. Huang, N. Luo, and Y. Sun, "Nanomaterial-enhanced immunosensors for detection of infectious disease biomarkers," *ACS Sens.*, vol. 5, no. 5, pp. 1241-1260, 2020.
- [8] Y. Fitria, N. Febrianto, R. E. Putri, I. Rahmadani, and D. T. Subekti, "Evaluation of in-house ELISA for antirabies antibodies detection in domestic canine," *Vet. Med. Int.*, vol. 2023, art. no. 4096258, 2023, doi: 10.1155/2023/4096258.
- [9] M. Mashelli, S. Sutarno, and W. T. Yuniarti, "Evaluasi kombinasi substrat dan konjugat pada pengembangan kit ELISA rabies produksi Pusvetma," *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia*, vol. 17, no. 2, pp. 135-144, 2022, doi: 10.24843/JITPI.2022.v17.i02.p05.
- [10] L. Schöler, V. T. K. Le-Trilling, M. Trilling *et al.*, "Establishment and clinical validation of an in-cell-ELISA-based assay for the rapid quantification of Rabies lyssavirus neutralizing antibodies," *PLOS Negl. Trop. Dis.*, vol. 16, no. 5, art. no. e0010425, 2022, doi: 10.1371/journal.pntd.0010425.

- [11] K. Xu, Y. Feng, and H. Zhang, "ELISA as a tool for rabies surveillance and post-vaccination monitoring," *Vaccine*, vol. 25, no. 15, pp. 2911-2916, 2007, doi: 10.1016/j.vaccine.2006.12.047.
- [12] I. P. A. T. Cahyana, M. Pharmawati, and I. Narayani, "Detection of antibodies level in Kintamani dog blood serum, post vaccination of rabies with direct ELISA," *Metamorfosa: J. Biol. Sci.*, vol. 8, no. 1, pp. 172-177, 2021, doi: 10.24843/metamorfosa.2021.v08.i01.p19.
- [13] J. L. Smith, D. R. Brown, and A. C. Lee, "Enzyme-substrate combinations in ELISA: Performance and stability comparison in veterinary diagnostics," *J. Immunol. Methods*, vol. 468, pp. 31-38, 2019, doi: 10.1016/j.jim.2019.03.002.
- [14] Kementerian Pertanian Republik Indonesia, *Penyakit Hewan Menular Strategis (PHMS)*. Jakarta, Indonesia: Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, 2021.
- [15] A. M. Gusi, W. J. Bertu, M. J. de Miguel, L. Dieste-Pérez, H. L. Smits, R. A. Ocholi et al., "Comparative performance of lateral flow immunochromatography, iELISA and Rose Bengal tests for the diagnosis of cattle, sheep, goat and swine brucellosis," *PLOS Negl. Trop. Dis.*, vol. 13, no. 6, art. no. e0007509, 2019, doi: 10.1371/journal.pntd.0007509.
- [16] L. N. Sarangi, K. S. N. L. Surendra, S. K. Rana et al., "Evaluation of commercial ELISA kits for diagnosis of brucellosis in cattle and buffaloes in different epidemiological scenarios," *J. Microbiol. Methods*, vol. 195, art. no. 106449, 2022, doi: 10.1016/j.mimet.2022.106449.
- [17] World Organisation for Animal Health (OIE), *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2016*. Paris, France: OIE, 2016. [Online]. Available: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/>
- [18] E. Díaz-Aparicio, "Epidemiology and control of brucellosis in Latin America," *Small Rumin. Res.*, vol. 118, no. 1-3, pp. 56-62, 2013, doi: 10.1016/j.smallrumres.2013.01.008.
- [19] Food and Agriculture Organization and World Health Organization, *Brucellosis in Humans and Animals (WHO/CDS/EPR/2006.7)*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2006. [Online]. Available: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-EPR-2006.7>
- [20] M. D. Zajac, "Development and evaluation of a rabies enzyme-linked immunosorbent assay," M.S. thesis, Kansas State Univ., Manhattan, KS, USA, 2009. [Online]. Available: <https://krex.k-state.edu/server/api/core/bitstreams/29a2eff0-6e74-4284-9d87-b41e39e7f2f8/content>
- [21] T. Zhan, Y. Li, Y. Xie, S. Li, L. Lian, W. Han, and D. Yin, "Multiepitope fusion protein-based ELISA for enhanced brucellosis serodiagnosis," *PLOS Negl. Trop. Dis.*, 2025. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC12685213/>