

PENGARUH SUPLEMEN ZN-ORGANIK, CU-ORGANIK DAN TEPUNG KUNYIT DALAM RANSUM TERHADAP DAYA TAHAN DAN JUMLAH BAKTERI SUSU SAPI PERAH FH

U.H. TANUWIRIA*, E. HARLIA*, D.S. TASRIPI*, N.R. MANIKAM** dan P. INDRASWARI**

* Staf Pengajar Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran

** Alumni Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran

ABSTRAK

TANUWIRIA, U.H., E HARLIA, D.S. TASRIPI, N.R. MANIKAM dan P. INDRASWARI. Pengaruh Seuplemen Zn-Organik, Cu-Organik dan Tepung Kunyit dalam Ransum terhadap Daya Tahan dan Jumlah Bakteri Susu.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh suplemen Zn-organik, Cu-organik dan tepung kunyit pada ransum sapi perah terhadap daya tahan dan jumlah bakteri dalam susu sapi perah FH (*in vivo*). Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan rancangan acak kelompok (RAK), enam perlakuan dan empat kelompok sebagai ulangan. Perlakuan adalah R1=ransum kontrol (ransum KUD); R2 = R1+ 2% Zn-organik; R3 = R1+2% Cu-organik; R4 = R1+2% tepung kunyit; R5 = R1+2% Zn-organik + 2% Cu-organik; R6 = R5+ 2% tepung kunyit. Peubah yang diamati adalah daya tahan (uji alkohol 70%, uji reduktase) dan jumlah bakteri susu (coliform dan Staphylococcus) dalam susu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan R6 memiliki daya tahan susu tertinggi (13,63 jam), jumlah bakteri coliform (0,29 MPN/ml) dan Staphylococcus ($1,07 \cdot 10^5$ CFU/ml) terendah dalam susu.

Kata kunci: Zn-organik, Cu-organik, tepung kunyit, daya tahan susu, bakteri susu

ABSTRACT

TANUWIRIA, U.H., E HARLIA, D S TASRIPI, N R MANIKAM and P. INDRASWARI. Effect of Supplementation of Zn-organic, Cu-organic and Tumeric (*Curcuma domestica* Val) in Rations on Resistance of Milk and Bacteria Count in Milk Dairy Cattle.

The research adressed to study the effect of supplementation of Zn-organic, Cu-organic and tumeric (*Curcuma domestica* Val) in rations on resistance of milk and bacteria count in milk FH dairy cattle. The Experiment was arranged in Randomized Block Design (RBD), were six treatments and four block as replication. The treatments consisted of R1 = control ration (a ration used by most dairy farmers); R2 = R1 + 2% Zn-organic; R3 = R1 + 2% Cu-organic; R4 = R1 + 2% Tumeric; R5 = R1 + 2% Zn-organic + 2% Cu-organic; R6 = R5 + 2% Tumeric. The following variables were determined: resistance of milk (alcohol test and peroxidase test) and bacteria count (Coliform and Staphylococcus count) in milk. The result of reserch indicated that the R6 treatment is the highest resistance of milk (13.63 hours), the lowest coliforms count (0.29 MPN/ml) and the lowest Staphylococcus count ($1.07 \cdot 10^5$ CFU/ml) in milk.

Keywords: Zn-organic, Cu-organic, tumeric, resistance of milk, bacteria count

PENDAHULUAN

Umumnya pakan asal limbah mengandung mineral seng (Zn) dan tembaga (Cu) kurang dari yang dibutuhkan ternak. Mineral Zn terdapat pada semua jaringan tubuh dan esensial bagi ternak dan merupakan kofaktor pada lebih dari 30 macam enzim. Seng sebagai komponen metalloenzim banyak terlibat dalam enzim

polimerase DNA, peptidase karboksi A dan B dan fosfatase alkalis. Enzim-enzim tersebut berperan pada proliferasi DNA, sintesis protein, proses pencernaan protein dan absorpsi asam amino, serta metabolisme energi (LARVOR, 1983). Di samping itu mineral Zn berperan dalam sistem imunitas yang ditunjukkan oleh menurunkan kejadian mastitis pada sapi perah (HARMON dan TORRE, 1997). Tembaga

dibutuhkan untuk sintesis hemoglobin yang normal. Peran biologis Cu diantaranya sebagai komponen seruloplasmin, superoksida dismutase (SOD), oksidase lisil dan oksidase sitokrom (NRC, 2001). Seruloplasmin berperan dalam penyerapan dan transpor Fe pada sintesis hemoglobin dan berfungsi sebagai antioksidan serta agen pertahanan dalam tubuh (HARMON dan TORRE, 1997).

Mineral Zn dan Cu dalam bentuk organik memiliki ketersediaan hayati yang tinggi. Ketersediaan hayati Zn dalam bentuk Zn-proteinat lebih tinggi daripada ZnSO₄ (SCHELL dan KORNEGAY, 1996). Hal yang sama ketersediaan hayati Cu dalam bentuk Cu-proteinat lebih tinggi daripada CuSO₄. Bukti lainnya WARD *et al.* (1993) melaporkan bahwa metionin dalam Zn-metionin tidak dapat didegradasi oleh mikroba rumen, sehingga Zn-metionin tersebut tetap utuh di dalam rumen dan berikatan dengan partikel pakan membentuk kompleks yang tidak larut.

Kunyit mengandung berbagai zat aktif seperti 0,5-6% kurkumin, 1,3-6% minyak atsiri, 40-60% pati dan senyawa kimia lainnya seperti vitamin C dan E serta mineral Selenium (Se) (PURSEGLOVE, 1981). Komponen terpenting dalam rimpang kunyit adalah kurkuminoid dan minyak atsiri. Senyawa kurkuminoid terdiri atas tiga komponen yaitu kurkumin, desmetoksikurkumin dan bis-desmetoksikurkumin (PURSEGLOVE, 1981). Kunyit mengandung antioksidan alami yang dapat menjaga dan memelihara membran sel dari kerusakan (SUGIARTO *et al.*, 1986). Sifat kunyit tersebut memungkinkan mampu memelihara membran sel pada jaringan ambing tetap utuh sehingga tahan terhadap infeksi mikroba.

Kelenjar ambing merupakan kelenjar kulit yang tersusun atas sel-sel khusus dan bekerja secara harmonis dimana saluran pentingnya dilapisi oleh keratin untuk mencegah terjadinya infeksi. Suplementasi Zn dapat mempertinggi daya tahan terhadap mastitis. Hal tersebut dibuktikan oleh kejadian *hypozincemia* darah yang hebat ketika terjadi mastitis akut oleh *coliform*. Pada percobaan dengan cara infeksi intramammary oleh *E coli*, kadar Zn dalam plasma menurun setelah enam jam infusi (Lohuis *et al.*, 1990). Hal yang sama defisiensi Cu secara klinis menyebabkan menurunnya level

seruloplasmin dalam darah dan berpotensi menurunkan kekebalan tubuh. Sapi yang tidak disuplementasi mineral Cu cenderung memiliki *somatic cell count* (SCC) dalam susu lebih tinggi daripada sapi yang disuplementasi Cu setelah di "challenge" endotoksin, walaupun tidak terjadi perbedaan dalam jumlah produksi susu.

Mastitis adalah penyakit yang jarang disadari oleh peternak sebagai penyumbang kerugian terbesar dalam usaha sapi perah. Mastitis disebabkan oleh dua faktor, yaitu (a) bukan oleh infeksi (*non-infectious*) seperti luka fisik pada kelenjar susu, dan (b) oleh infeksi mikroba patogen. Lebih dari 99% seluruh infeksi *intramammary* disebabkan oleh bakteri. Bakteri yang umum menyerang kelenjar ambing adalah *Streptococcus*, *Staphylococcus*, dan *Coliform*. *Staphylococcus* dan *Streptococcus* adalah bakteri penyebab umum mastitis yang bersifat patogen, berdasarkan perhitungan 90% dari seluruh penderita mastitis terinfeksi oleh bakteri tersebut (GUIDRY, 1985).

Pada penelitian ini dicobakan suplemen Zn-organik, Cu-organik dan tepung kunyit dalam ransum. Zn-organik dan Cu-organik dibuat melalui proses fermentasi dengan melibatkan aktivitas jamur *Neurospora sp.* yang memiliki aktivitas proteolitik dan amilolitik (TANUWIRIA, 2004). Melalui reaksi hipotesis maka mineral Zn dan Cu yang ditambahkan dalam substrat akan dimetabolisasi, atau diikat oleh gugus karboksil protein atau polisakarida sederhana. Mineral organik yang diperoleh ditambahkan ke dalam ransum, selanjutnya diberikan pada sapi perah FH yang sedang laktasi untuk dilihat responsnya terhadap kualitas susu.

BAHAN DAN METODE

Bahan

- Zn-organik (Zn = 4050 ppm), Cu-organik (Cu = 1320 ppm), Prinsip pembuatan adalah terinkorporasinya Zn atau Cu ke dalam protein atau karbohidrat substrat dan atau jamur *Neurospora sp.* Substrat untuk pertumbuhan *Neurospora sp* terdiri atas onggok, tepung bulu, tepung tapioka (7:2:1). Substrat dicampur dengan larutan standar (NH₄NO₃ 0,5%; KCl 0,05%; MgSO₄.7H₂O 0,05%; FeSO₄.7H₂O 0,001%; CuSO₄.5H₂O

- 0,0001%); $ZnCl_2$ 0,1 M dan $CuCl_2$ 0,1 M. Disterilisasi dalam autoklav pada suhu $121^{\circ}C$, 15 psi selama 15 menit, dan diinokulasi dengan biakan *Neurospora* sp dosis 2% setelah suhu $39^{\circ}C$. Inkubasi dilakukan selama empat hari pada suhu kamar, dikeringkan pada suhu $60^{\circ}C$ dan selanjutnya digiling halus (TANUWIRIA, 2004).
- Tepung kunyit diperoleh dengan cara dicuci, mencincang dan menjemur rimpang kunyit, setelah kering selanjutnya digiling atau dibuat tepung.
 - Ransum sapi perah terdiri atas rumput dan konsentrat.

Percobaan *in-vivo* pada Sapi Perah

Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) terhadap 24 ekor sapi perah FH laktasi, enam perlakuan dalam empat kelompok sebagai ulangan (produksi $<11,6$ kg.hari⁻¹, produksi 11,6-13,2 kg.hari⁻¹, produksi 13,8-14,3 kg.hari⁻¹, dan produksi $>15,1$ kg.hari⁻¹). Penelitian dilakukan di peternakan anggota kelompok Renteng KPGS Cikajang Garut, pada bulan Agustus sampai dengan Desember 2005. Ransum terdiri atas rumput dan konsentrat. Air minum diberikan *ad libitum*. Kandungan nutrisi konsentrat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan nutrisi dalam konsentrat

No	Komponen	Persentase
1	Air	8.37
2	Abu	11.01
3	Protein kasar	11.39
4	Serat kasar	15.19
5	Lemak kasar	4.56
6	Calcium	1.73
7	Posphor	1.32
8	BETN	49.48
9	Energi Bruto (kkal/kg)	4211

Sumber: Pabrik makanan ternak Koperasi Peternak Garut Selatan KPGS, 2005

Perlakuan adalah sebagai berikut :

- R1 = Ransum kontrol
- R2 = R₁ + 2% Zn-proteinat
- R3 = R₁ + 2% Cu-proteinat
- R4 = R₁ + 2% Kunyit
- R5 = R₁ + 2% Zn-proteinat + 2% Cu-proteinat
- R6 = R₁ + 2% Zn-proteinat + 2% Cu-proteinat + 2% Kunyit

Peubah yang diamati adalah (a) Daya tahan susu (Uji Alkohol 70% dan Uji Reduktase) (b) Jumlah bakteri susu (Coliform dan *Staphylococcus aureus*) dalam susu. Data dianalisis dengan Sidik Ragam (*Analysis of Variance*) dan efek perlakuan diuji dengan kontras ortogonal (STEEL DAN TORRIE, 1991).

Pengambilan sampel susu dilakukan pada hari ke-30. Sampel susu dari setiap sapi diambil sebanyak 50 ml untuk diuji daya tahan, jumlah Coliform susu, dan jumlah bakteri dalam susu. Model matematika dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan kelompok ke-j

μ = Nilai tengah umum

τ_i = Pengaruh aditif dari perlakuan ke-i

β_j = Pengaruh aditif dari kelompok ke-j

ϵ_{ijk} = Pengaruh galat dari percobaan dari perlakuan ke-i pada kelompok ke-j

i = Banyaknya perlakuan (1,2,3,4,5,6)

j = Banyaknya ulangan (1,2,3,4)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daya Dahan Susu

Daya tahan susu diukur dengan uji Alkohol 70% dan uji Reduktase, dilakukan pada jam ke-0 dan jam ke-5. Hasil uji alkohol pada jam ke-5 disajikan pada Tabel 2. Tabel 2 menunjukkan bahwa suplementasi Zn-organik, Cu-organik dan kunyit mempengaruhi daya tahan susu. Susu pada perlakuan R1 (ransum kontrol) dan R4 (Perlakuan kunyit) kurang tahan setelah penyimpanan 5 jam, hal ini ditunjukkan oleh adanya susu pecah (uji alkohol 70%) sebanyak 50%. Pada perlakuan R5 dan R6 yaitu ransum yang ditambah Zn-organik dan Cu-organik, susu yang dihasilkan tahan terhadap kerusakan ketika disimpan sampai 5 jam. Hal tersebut memberikan indikasi bahwa suplemen yang terdiri atas campuran Zn-organik, Cu-organik dan tepung kunyit mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembentuk asam dalam susu. Bakteri pembentuk asam akan menyebabkan laktosa menjadi asam laktat, sehingga pada tingkat keasaman tertentu susu akan mengendap dan menggumpal. Hal ini

sesuai dengan pendapat ERSKINE dan BARTLET (1993) bahwa konsentrasi mineral Cu, Fe dan Zn dalam serum dapat mengurangi jumlah mikroba patogen dalam susu.

Kunyit sebagai antibakteri dan antioksidan lebih efektif jika digabungkan dengan Zn-organik dan Cu-organik dalam stabilitas membran ambing dan sistem imunitas tubuh sapi. Zn-organik berperan dalam pertahanan dari luar yaitu mengurangi kemungkinan masuknya bakteri melalui ambing. Sedangkan Cu-organik berfungsi dalam pertahanan dari dalam yaitu meningkatkan imunitas tubuh sapi sehingga resisten terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri.

Aktivitas dan jumlah bakteri dalam susu diukur dengan uji reduktase dan jumlah bakteri

Coliform yang hasilnya disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3 nilai reduktase pada susu sapi perlakuan berkisar antara 8,75 dan 13,63 jam. Berdasarkan klasifikasi uji reduktase susu, apabila warna *methylene blue* hilang dalam waktu lebih dari 5,5 jam maka susu tersebut mempunyai mutu baik (mutu I) dengan jumlah kuman sekitar 500.000/ml.

Rataan nilai reduktase pada setiap perlakuan disajikan pada Gambar 1. Gambar 1 menunjukkan bahwa waktu reduktase pada R1 lebih cepat ($P < 0,05$) daripada perlakuan lainnya. Waktu reduktasi bertambah seiring dengan semakin lengkapnya suplemen yang ditambahkan ke dalam ransum, dan terlama pada perlakuan R6 (13,63 jam).

Tabel 2. Pengaruh perlakuan terhadap uji alkohol 70% pada jam ke-5

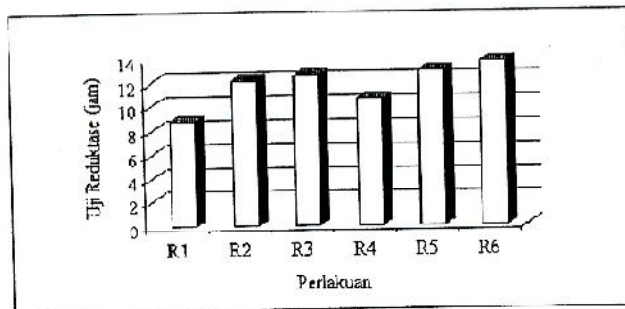
Kelompok (ulangan)	Perlakuan					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6
1	+	-	+	-	-	-
2	+	+	-	-	-	-
3	-	-	-	+	-	-
4	-	-	-	-	-	-

Keterangan: R₁ = Ransum kontrol, R₂ = R₁ + 2% Zn-organik, R₃ = R₁ + 2% Cu-organik, R₄ = R₁ + 2% Kunyit, R₅ = R₁ + 2% Zn-organik + 2% Cu-organik, R₆ = R₁ + 2% Kunyit + 2% Zn-organik + 2% Cu-organik

Tabel 3. Uji reduktase dan jumlah bakteri koliform pada susu perlakuan

Perlakuan	Reduktase (jam)	Coliform (MPN/ml)
R1	8,75 ^a	14,30 ^e
R2	12,13 ^c	6,65 ^c
R3	12,50 ^c	4,28 ^c
R4	10,63 ^b	11,65 ^d
R5	12,88 ^c	2,04 ^b
R6	13,63 ^d	0,29 ^a

Keterangan: Huruf yang berbeda ke arah kolom menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)



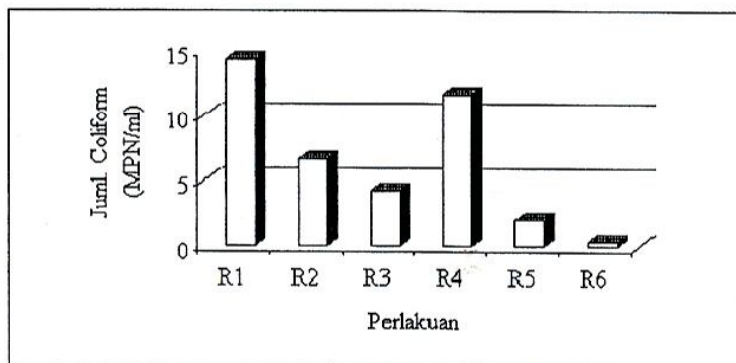
Gambar 1. Nilai uji reduktase masing-masing perlakuan

Kunyit berperan sebagai bakteriostatik yang dapat membuat bakteri menjadi inaktif. Hasil ini sejalan dengan HERMAWAN dan DWI CIPTO (1996) bahwa kunyit dalam ransum sapi perah dapat meningkatkan kandungan vitamin E dan Se dalam serum darah sehingga dapat mengurangi jumlah bakteri pada penderita mastitis. Suplementasi kunyit (R4) dapat memperlambat waktu reduktase susu akan tetapi lebih efektif jika dicampur dengan Zn-organik dan Cu-organik (R6).

Dilihat dari angka reduktase susu, penggabungan Zn-organik dengan Cu-organik (R5) lebih baik daripada suplemen tunggal seperti pada R2 dan R3. Mineral Zn dan Cu bersifat antagonisme, sehingga imbang yang tepat antara kedua tersebut dalam ransum harus diperhatikan. Zn berperan dalam stabilitas dan integritas membran kulit ambing pada sapi perah, sehingga mengurangi kemungkinan masuknya bakteri ke dalam ambing. Mineral Zn berperan dalam memelihara sel kulit atau keratin

yang dapat menyebabkan terjadinya mastitis (HARMON dan TORRE, 1997). Mineral Cu berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan jaringan yang disebabkan oleh infeksi dan peradangan. Hewan yang menderita defisiensi Cu memiliki resiko besar terhadap infeksi dibandingkan dengan hewan normal (STABEL *et al.* 1993).

Suplementasi Zn-organik, Cu-organik dan kunyit mampu menurunkan jumlah bakteri dalam susu sapi sehingga dapat memperlambat waktu reduktase susu. Daya mereduksi terhadap zat warna disebabkan oleh jenis dan banyaknya jumlah bakteri yang hidup di dalam susu. Umumnya *Streptococcus lactis* dan *Coliform* mereduksi warna dengan cepat, sedangkan bakteri tahan panas mereduksi *methylene blue* lebih lambat. Semakin banyak bakteri di dalam susu, maka waktu reduksi semakin cepat (HAMMER dan BABEL, 1957). Jumlah coliform pada berbagai perlakuan antara 0,29 MPN/ml dan 14,30 MPN/ml (Gambar 2).



Gambar 2. Rata-rata jumlah coliform pada masing-masing perlakuan

Gambar 2 memberikan petunjuk bahwa penggunaan Zn-organik, Cu-organik dan tepung kunyit secara bersamaan dalam ransum sapi perah mampu menurunkan jumlah coliform dalam susu. Coliform merupakan salah satu bakteri penyebab mastitis yang bersifat patogen. Dengan demikian pemberian suplemen Zn-organik, Cu-organik dan kunyit mampu memperbaiki mastitis pada sapi perah.

Mineral Zn mempunyai hubungan dengan mastitis, hal ini didasarkan pada defisiensi Zn pada ruminansia dapat menyebabkan kulit dan

lapisan epitel menjadi lemah, puting susu mengeras, rapuh, pecah dan mengundang infeksi bakteri patogen penyebab mastitis ke dalam kelenjar ambing (SUTTLE dan JONES, 1986). Selanjutnya SCALETTI *et al.* (2003) menyatakan bahwa bakteri susu dan SCC susu sapi yang diberi suplemen Cu lebih rendah dibandingkan dengan sapi kontrol. Defisiensi Cu secara klinis dapat menurunkan level *ceruloplasmin* dan SOD dalam darah sehingga berpotensi menurunkan kekebalan tubuh (HARMON dan TORRE, 1997). Kunyit berperan dalam antioksidan untuk

menjaga dan memelihara membran sel dari kerusakan, sehingga membran sel pada jaringan ambing tetap utuh.

Hasil pengamatan bakteri coliform fekal dan non fekal pada berbagai perlakuan disajikan pada Tabel 4. Coliform dapat dibedakan atas dua grup yaitu: (1) coliform fekal, misalnya *Escherichia coli* dan (2) Coliform non-fekal, misalnya *Enterobacter aerogenes*. Banyaknya

koloni coliform non-fekal yang terbentuk menunjukkan dominasi dalam mengkontaminasi susu. Kontaminasi coliform-fekal (*Escherichia coli*) berasal dari air yang terkontaminasi oleh kotoran, sedangkan coliform non fekal (*Enterobacter aerogenes*) berasal dari berbagai sumber biasanya ditemukan pada hewan atau tanaman yang telah mati.

Tabel 4. Bakteri coliform fekal (F) dan non-fekal (NF) dalam susu

Kelompok (ulangan)	Perlakuan					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6
1	NF	NF	NF	NF	NF	-
2	F	NF	NF	NF	F	NF
3	F	NF	NF	F	NF	NF
4	NF	F	NF	NF	NF	NF

Bakteri *Staphylococcus aureus* dalam susu sering menjadi penciri dari terjadinya mastitis pada sapi perah. Susu sapi yang menderita mastitis biasanya mengandung bakteri *Staph. aureus* yang tinggi. Rataan jumlah *Staph. aureus* dalam susu untuk setiap perlakuan disajikan pada Tabel 5.

Penambahan Zn-organik, Cu-organik dan tepung kunyit cenderung menurunkan jumlah bakteri *Staph. aureus* dalam susu. Jumlah bakteri *Staph. aureus* paling sedikit terjadi pada perlakuan R6 yaitu ransum yang diberi campuran Zn-organik, Cu-organik dan kunyit.

Tabel 5. Jumlah bakteri *staph. aureus* dalam susu

No	Perlakuan	Bakteri <i>Staph. aureus</i> (x10 ⁵ CFU/ml)
1	R1	3,62 ^a
2	R2	3,02 ^b
3	R3	2,25 ^b
4	R4	2,17 ^b
5	R5	1,52 ^c
6	R6	1,07 ^d

Keterangan: Huruf yang berbeda ke arah kotom menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)

Perlakuan R6 menghasilkan jumlah bakteri *Staph. aureus* yang paling sedikit (P<0.05) dibandingkan perlakuan lainnya. Hasil ini sejalan dengan jumlah Coliform dan angka reduktase. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan mineral Zn-organik, Cu-organik dan kunyit mampu memperbaiki kualitas susu.

KESIMPULAN

Susu asal dari sapi yang mendapat ransum mengandung Zn-organik, Cu-organik dan tepung kunyit masing-masing 2% dalam ransum memiliki daya tahan terhadap kerusakan selama penyimpanan 5 jam paling baik yang ditandai dengan uji alkohol 70% (negatif), uji reduktase (13,63 jam), jumlah bakteri coliform (0,29 MPN/ml), dan bakteri *Staphylococcus aureus* (1,07 x 10⁵ CFU/ml).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian yang berjudul "Minimalisasi Mastitis Subklinis pada Usaha Sapi Perah Skala Kecil Anggota Koperasi Peternak Garut Selatan melalui Manajemen Pemerahan dan Pemberian Ransum Berimbangan Mineral Zn, Cu Proteinat dan Kunyit". Terima kasih diucapkan kepada Program Hibah Kompetisi A3 Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Peternakan Unpad yang telah mendanai sepenuhnya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ERSKINE, R.J. and BARTLET, P.C. 1993. Serum concentration of copper, iron, and zinc during *Escherichia coli*-induced mastitis. *J. of Dairy Science*. 76:408-413.

- GUIDRY, A.J. 1985. Mastitis and the immune system of the mammary gland. Di dalam: B.L. LARSON, editor. Lactation. Iowa: The Iowa State University Press. hlm 229.
- HAMMER, B.W and F.J BABEL. 1957. Dairy bacteriology. Fourth Ed. John Wiley and Sons. Inc. New York.
- HARMON, R.J. and TORRE, P.M. 1997. Economic implications of copper and zinc proteinates: Role in mastitis control. Departemen of Animal Science, University of Kentucky, Lexington, Kentucky, USA.
- LARVOR, P. 1983. The pools of cellular nutrients mineral in dynamic biochemistry of animal production. PM. Riis. Ed Elseiver. Amsterdam.
- LITTLE, D.A. 1986. The mineral content of ruminant feeds and potential for mineral supplementation in South-East Asia with particular reference to Indonesia. Di dalam: R.M. DIXON, editor. Ruminant Feeding Systems Utilizing Fibrous Agricultural Residues 1985. Canberra: IOD.
- LOHUIS, J.A.C.M., Y.H. SCHUKKEN, J.H.M. VERHEIJEN, A. BRAND, and A.S.J.P.A.M. VAN MIERT. 1990. Effect of severity of systemic sign during the acute phase of experimentally induced *Escheria coli* mastitis on milk production loss. *J. Dairy Sci.* 73:333.
- NRC. National Reseach Council. 2001. Nutrient requirment of dairy cattle. 7th revised Ed. Washington, D.C: National Academy Press.
- PURSEGLOVE, J. W. 1981. Spices. Vol II. Longmans. London.
- SCALETTI, R.W, D.S. TRAMMELLI, B.A. SMITH and R.J. HARMON. 2003. Role of dietary copper in enhancing resistance to *Escherichia coli* mastitis. *J. Dairy Science* 86:1240-1249.
- STABEL, J.R., J.W. SPEARS and T.T. BROWN, JR. 1993. Effect of copper deficiency on tissue, Blood characteristic and immune function of calf chalenge with *Infectious bovine rhinotracheitis* virus and *Pasteurella hemolitica*. *J. Anim. Sci* 71:1247-1255.
- STEEL, R.G.D. and JAMES H. TORRIE. 1989. Prinsip dan prosedur statistika suatu pendekatan biometrik. Gramedia. Jakarta.
- SUTTLE, N.F., and D.G. JONES. 1986. Copper and discase resistance in sheep: A rare natural confirmation of interaction between a spesific nutrient and infections. *Proc. Nutr. Soc.* 45:317.
- TANTIRWIRIA, U.H. 2004. Suplemen seng dan tembaga organik, serta kompleks kalsium-minyak ikan dalam ransum berbasis limbah industri-agro untuk pemacu pertumbuhan dan produksi susu pada sapi perah (disertasi). Bogor: Institut Pertanian Bogor. Program Pascasarjana, Program Studi Ilmu Ternak.
- WARD, J.D., J.W. SPEARS and E.B. KEGLEY. 1993. Effect of copper level and source (copper lysine vs copper sulfate) on copper status, performance, and immuno response in growing steers fed diets with or without supplemental molybdenum and sulfur. *J. Anim. Sci.* 71:2782-2755.