

Penelitian

Kadar Kalsium pada Sapi Perah Penderita Mastitis Subklinis di Pasir Jambu, Ciwidey

(*Calcium Level in Dairy Cattle with Subclinical Mastitis at Pasir Jambu, Ciwidey*)

Retno Wulansari^{1*}, Sugunavathy Palanisamy², Herwin Pisestyani³, Mirnawati B Sudarwanto³, Afton Atabany⁴

¹Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

²Program Sarjana Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

³Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

⁴Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

*Penulis untuk korespondensi: rtiwul@gmail.com

Diterima 27 September 2016, Disetujui 28 November 2016

ABSTRAK

Kalsium merupakan makro mineral yang berperan sangat penting dalam metabolisme ternak sapi perah dan kekurangan kalsium dapat menjadi salah satu penyebab penyakit radang ambing. Penelitian bertujuan mengukur kadar kalsium darah sapi perah penderita mastitis subklinis. Sampel susu dan darah diambil dari 20 ekor sapi perah yang berasal dari peternakan rakyat Pasir Jambu, Ciwidey, Kabupaten Bandung Barat. Kadar kalsium darah diperiksa menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrofotometer* (AAS), sedangkan sampel susu diperiksa untuk menentukan status mastitis subklinis berdasarkan jumlah sel somatik (JSS) dan uji mastitis IPB-1. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa 11 dari 20 ekor sapi (55%) menderita mastitis subklinis dan 6 dari 11 ekor tersebut (54,5%) disertai hipokalsemia subklinis. Sapi penderita mastitis subklinis secara nyata memiliki jumlah sel somatik yang tinggi dan kadar kalsium cenderung rendah. Kadar kalsium dan jumlah sel somatik mempengaruhi produksi susu sebesar 99% ($R^2 = 0,99$). Simpulan penelitian ini adalah sebagian besar sapi perah penderita mastitis subklinis disebabkan kondisi hipokalsemia subklinis serta mengalami penurunan produksi susu.

Kata kunci: hipokalsemia subklinis, jumlah sel somatik, kadar kalsium, mastitis subklinis

ABSTRACT

Calcium is a macro mineral that plays an important role in the metabolism of dairy cattle and calcium deficiency also known as hypocalcemia can be a factor that causes udder inflammation. This study was aimed to measure blood calcium level in dairy cattle with subclinical mastitis. Milk and blood samples taken from 20 dairy cattles from the rural farm Pasir Jambu, Ciwidey, West Bandung district. Calcium levels in bloods determined using *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS), while the milk samples examined to determine the status of subclinical mastitis based on somatic cell count and IPB-1 mastitis test. The results showed that 11 out of 20 cows (55%) suffer from subclinical mastitis and 6 out of that 11 cows (54.5%) suffer subclinical hypocalcemia. In subclinical mastitis dairy cattle showed increased somatic cell count significantly and calcium level with lower tendencies. Somatic cell count and level of calcium from healthy cows and subclinical mastitis cows showed significant differences ($p < 0,05$). Calcium levels and the number of somatic cells affect milk production by 99% ($R^2 = 0.99$). The conclusion of this study was majority dairy cattle suffer subclinical mastitis due to by subclinical hypocalcemia and caused decreased of milk production.

Keywords: calcium level, somatic cell count, subclinical hypocalcemia, subclinical mastitis

PENDAHULUAN

Susu merupakan bahan pangan yang sangat penting bagi masyarakat untuk memenuhi kebutuhan gizinya. Konsumsi susu nasional per tahun di Indonesia telah mencapai 7%, yang merupakan salah satu bentuk kesadaran masyarakat akan pentingnya susu sebagai salah satu sumber gizi. Namun kebutuhan yang tinggi ini belum diimbangi dengan produksi susu nasional yang baru mencapai 3,29% per tahun, sehingga kekurangan akan kebutuhan susu ini masih harus diimport dari negara lain. Rata-rata produksi susu di Indonesia dari setiap sapi masih relatif rendah, sekitar 10-12 liter/ekor/hari (Deny, 2014).

Manajemen pemeliharaan yang baik dalam usaha peternakan sapi perah dapat meningkatkan produksi susu. Faktor-faktor yang harus dipertimbangkan dalam usaha peternakan sapi perah adalah pemuliaan dan reproduksi, penyediaan dan pemberian pakan, pemeliharaan ternak, penyediaan sarana, dan prasarana, serta pencegahan penyakit, dan pengobatan (Mawardi, 2012). Manajemen pakan merupakan faktor yang penting dalam produksi susu. Pakan harus memenuhi unsur-unsur penting diantaranya makro dan mikro mineral dalam jumlah yang secukupnya. Makro mineral terdiri atas kalsium (Ca), fosfor (P), kalium (K), magnesium (Mg), natrium (Na), dan klor (Cl) sedangkan mikro mineral pula terdiri dari seng (Zn), nikel (Ni), molybdenum (Mo), mangan (Mn), kobalt (Co), krom (Cr), dan yodium (I). Makro mineral dibutuhkan lebih banyak dibandingkan dengan mikro mineral. Secara keseluruhan, setiap mineral tersebut mempunyai fungsi-fungsi tertentu pada tubuh ternak (Edeilweys, 2013).

Ketidakeimbangan makro mineral maupun mikro mineral dalam pakan ternak akan menyebabkan timbulnya penyakit-penyakit akibat kekurangan ataupun kelebihan mineral. Penyakit-penyakit yang timbul antara lain pneumonia, diare, anoreksia, patah tulang, kulit kering dan bersisik, gangguan sistem reproduksi, pencernaan maupun pernapasan (Riki, 2010). Kalsium berperan sangat penting pada ternak sapi perah dan kebutuhan tertinggi terhadap kalsium ini terutama pada masa laktasi, kisaran kadar kalsium normal pada sapi adalah 9 – 12 mg/dL. Hipokalsemia merupakan kasus kekurangan kalsium yang dapat terjadi dalam bentuk klinis atau subklinis. Hipokalsemia klinis yang disebut dengan Milk fever ditandai dengan penurunan kadar kalsium secara drastis dan berada pada kisaran 3 – 5 mg/dL, secara klinis hewan ambruk tidak dapat bangkit. Sapi perah dalam kondisi hipokalsemia subklinis

memiliki kadar kalsium pada kisaran 5-8 mg/dL namun hewan tidak menunjukkan gejala klinis seperti yang terdapat pada kasus hipokalsemia klinis (Masoera *et al.* 2003). Kondisi hipokalsemia klinis maupun subklinis meningkatkan risiko kejadian mastitis subklinis, mastitis klinis, retensi plasenta, metritis, dan pneumonia (Timothy *et al.* 2011). Mastitis adalah peradangan pada jaringan internal ambing yang sangat merugikan dengan akibat penurunan kualitas dan kuantitas susu. Mastitis biasanya terjadi sebagai respon imun terhadap invasi bakteri yang berasal dari sekitar kawasan peternakan yang masuk ke dalam jaringan internal ambing melalui lubang puting yang terbuka setelah pemerahan atau melalui luka pada puting (AHDB, 2014). Kerugian akibat mastitis cukup besar karena menyebabkan ambing menjadi kecil, kering, dan tidak produktif sehingga produksi susu akan turun. Mastitis dapat terjadi dalam dua bentuk yaitu mastitis klinis dan mastitis subklinis. Mastitis klinis disertai gejala klinis seperti adanya kebengkakan, panas, nyeri pada ambing, sekresi susu abnormal dan disertai demam. Sedangkan pada mastitis subklinis tanda klinis tersebut tidak nampak, namun terjadi peningkatan jumlah sel radang (sel somatis), ditemukan mikroorganisme patogen dan terjadi perubahan kimia pada susu. Di Indonesia sekitar 80-90% sapi perah mengalami mastitis subklinis yang disertai dengan penurunan produksi susu hingga 30% (Sudarwanto & Sudarnika, 2008). Penelitian ini bertujuan mengukur kadar kalsium darah pada sapi penderita mastitis subklinis dan menganalisis hubungan antara jumlah sel somatik dengan kadar kalsium darah serta produksi susu.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga September 2015. Pengambilan sampel susu dan darah berasal dari 20 ekor sapi perah dalam masa laktasi normal dan dilakukan di peternakan rakyat Pasir Jambu, Ciwidey, Kabupaten Bandung Barat.

Uji Mastitis

Pemeriksaan jumlah sel somatik (JSS) dalam susu dilakukan secara tidak langsung menggunakan uji mastitis IPB-1 dan secara langsung menggunakan metode Breed. Kedua metode tersebut digunakan untuk mendiagnosa mastitis subklinis. Metode uji mastitis IPB-1 yang digunakan mengacu pada Sudarwanto & Sudarnika (2008). Sebanyak 2 ml sampel susu dimasukkan ke dalam paddle,

ditambahkan 2 ml pereaksi IPB-1. Campuran tersebut dihomogenkan selama 15-20 detik dengan cara memutar paddle secara horizontal dan hati-hati. Hasil dibaca berdasarkan perubahan kekentalan yang terjadi; negatif (-) tetap homogen, positif (+, ++, +++) terbentuk lendir/kental.

Jumlah sel somatik dihitung menggunakan metode Breed. Sampel susu dihomogenkan, kemudian 0.001 ml susu diteteskan di atas gelas objek menggunakan pipet Breed. Pewarnaan Breed dilakukan setelah preparat kering. Gelas objek direndam dalam eter alkohol selama 2 menit, diwarnai dengan larutan methylene blue Löffler selama 1-2 menit, dan dimasukkan ke dalam alkohol 96% untuk menghilangkan sisa zat warna yang tidak melekat. Jumlah sel somatik dihitung dibawah mikroskop (objektif: 100x) dengan meneteskan minyak emersi. Jumlah sel somatik diperoleh dengan rumus:

$$\text{Jumlah sel somatik} = F \times B$$

Keterangan:

F = Faktor mikroskop

B = Rataan jumlah sel somatik dari 20 lapang pandang

Mengukur kadar kalsium darah

Penyiapan serum darah untuk analisa kadar kalsium dilakukan dengan cara darah diambil sebanyak 5 ml dari vena coccygealis dan didiamkan selama satu hingga dua jam sehingga terbentuk serum. Serum dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Pengukuran kadar kalsium dilakukan di laboratorium komersial dengan metode Atomic Absorption Spectrofotometer (AAS).

Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dilanjutkan pengujian dengan metode *One-Way Analyze of Variant* (ANOVA) dan uji *Duncan* pada selang kepercayaan 95% serta analisis regresi untuk melihat hubungan antara jumlah sel somatik dan kadar kalsium terhadap produksi susu.

HASIL

Kadar Kalsium Darah

Gambaran kadar kalsium pada serum darah sapi perah di Pasir Jambu ditabulasikan pada Tabel 1. Enam dari 20 sampel yang diperiksa menun-

jukkan kadar kalsium kurang dari 9 mg/dL (kadar normal kalsium dalam darah 9 – 12 mg/dL.) Hal ini dapat dikatakan bahwa sebanyak 6 ekor sapi (30%) mengalami kondisi hipokalsemia subklinis. Lima dari 6 ekor sapi penderita hipokalsemia subklinis (83,3%) merupakan sapi yang berada pada masa laktasi ke-3 atau lebih. Menurut Oetzel (2013), hipokalsemia subklinis umumnya terjadi pada sapi laktasi ke-3 atau lebih. Sapi dalam masa laktasi ketiga dan seterusnya, menghasilkan susu yang lebih banyak, sehingga kebutuhan akan kalsium lebih tinggi (Fikadu et al., 2016). Sapi yang tidak mengalami penurunan kadar kalsium dan berada pada kisaran yang normal adalah sebanyak 14 ekor (70%). Tabel 1 juga menunjukkan hasil bahwa 9 dari 20 ekor sapi menunjukkan status negatif terhadap penyakit mastitis yang subklinis berdasarkan hasil uji IPB1 diperkuat dengan JSS kurang dari 400 000 sel/ml. Sebanyak 11 dari 20 ekor sapi (55%) menderita penyakit mastitis subklinis dan dari 11 ekor sapi tersebut, sebanyak 6 ekor sapi (54.5%) menunjukkan kondisi hipokalsemia subklinis. Sebanyak 5 ekor sapi yang menderita mastitis subklinis tidak mengalami kondisi hipokalsemia subklinis. Hal ini diduga ada penyebab lain yang menimbulkan mastitis subklinis.

Hubungan antara Kadar Kalsium dengan Mastitis Subklinis

Tabel 2 menunjukkan rata-rata jumlah sel somatik pada sapi positif mastitis subklinis adalah 3 697 273 sel/ml dan rata-rata kadar kalsium sebanyak 8.66 mg/dL, sedangkan pada kelompok sapi yang tidak menderita mastitis subklinis menunjukkan rata-rata kadar kalsium 9.95 mg/dL yang berada dalam kisaran normal dan jumlah sel somatik kurang dari 400 000 sel/ml. Jumlah sel somatik dan kadar kalsium dari sapi sehat dan sapi yang menderita mastitis subklinis menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Sapi positif mastitis subklinis juga memiliki rata-rata produksi susu per liter per hari sebesar 11.09 yang lebih rendah dibandingkan sapi sehat.

Kadar kalsium dan jumlah sel somatik memengaruhi produksi susu sebesar 99% ($R^2 = 0,99$). Produksi susu menurun, karena terjadi kerusakan pada jaringan ambing yang disebabkan oleh bakteri penyebab mastitis (Halasa et al., 2009). Mastitis subklinis menyebabkan penurunan produksi susu mencapai 15% (Haerah, 2015)

Tabel 1 Kadar kalsium dan status mastitis subklinis pada sapi perah di Pasir Jambu, Ciwidey, Kabupaten Bandung Barat

No	Kode ternak	Periode laktasi	Produksi (Liter)	Jumlah sel somatik (sel/ml)	Kadar kalsium (mg/dL)	Status penyakit MSK/ IPB I
1	42/CWD	1	12	110 000	9.95	Negatif
2	55/CWD	1	10	310 000	10.18	Negatif
3	66/CWD	6	10	345 000	9.20	Negatif
4	80/CWD	3	15	195 000	10.37	Negatif
5	49/CWD	2	8	105 000	9.43	Negatif
6	25/CWD	3	25	225 000	11.14	Negatif
7	72/CWD	2	14	185 000	9.75	Negatif
8	34/CWD	3	20	75 000	9.92	Negatif
9	35/CWD	2	13	70 000	9.58	Negatif
10	19/CWD	2	6	2 106 667	8.84	Positif
11	12/CWD	2	12	15 070 000	9.82	Positif
12	32/CWD	1	13	2 950 000	9.37	Positif
13	20/CWD	2	12	3 020 000	9.28	Positif
14	11/CWD	3	7	506 667	8.30	Positif
15	21/CWD	2	7	5 430 000	9.09	Positif
16	84/CWD	3	20	1 346 667	7.14	Positif
17	13/CWD	3	10	1 255 000	8.35	Positif
18	48/CWD	3	12	7 165 000	7.35	Positif
19	68/CWD	4	8	1 400 000	7.33	Positif
20	62/CWD	1	15	420 000	10.39	Positif

Huruf dan angka yang dicetak tebal menunjukkan sapi perah yang menderita hipokalsemia subklinis dan mastitis subklinis, MSK : Mastitis subklinis

Tabel 2 Rataan kadar kalsium, jumlah sel somatik dan produksi susu

Status mastitis subklinis	Rataan kadar kalsium (mg/dL)	Rataan jumlah sel somatik (sel/ml)	Rataan produksi susu (liter)
Negatif	9.95 ± 5.37 ^a	180,000 ± 100,031.25 ^a	14.11 ± 0.58 ^a
Positif	8.66 ± 4.13 ^b	3,697,273 ± 4,308,149.60 ^b	11.09 ± 1.07 ^b

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

PEMBAHASAN

Dalam usaha peternakan sapi perah salah satu faktor yang harus dipertimbangkan adalah manajemen pakan untuk meningkatkan produksi susu dan kesehatan ternak. Kalsium merupakan mineral yang sangat dibutuhkan oleh sapi untuk menjalankan fungsi-fungsi tertentu dalam tubuh dan sapi hanya dapat memperoleh kalsium dari pakan. Saat kadar kalsium dalam darah menurun, mekanisme

homeostatis kalsium akan diaktifkan. Mekanisme ini ditentukan terutama oleh penyerapan usus, reabsorpsi ginjal dan resorpsi tulang. Koordinasi mekanisme ini dicapai oleh interaksi antara kalsitonin, hormon paratiroid, dan vitamin D₃ dikenal sebagai 1,25-dihydroxyvitamin D₃ [1,25 (OH)₂D₃] atau calcitriol (Megan, 2007). Kalsium hilang melalui urin dan tinja, serta janin dan produksi susu pada sapi bunting atau menyusui. Beberapa sapi pada situasi ini mampu beradaptasi melalui mekanisme home-

ostatis. Namun, kebanyakan sapi tidak dapat beradaptasi dan memulihkan keseimbangan kalsium, maka sapi-sapi tersebut akan menderita penyakit metabolik seperti hipokalsemia subklinis ataupun hipokalsemia klinis.

Kalsium merupakan elemen penting yang terlibat dalam banyak proses fisiologis pada sapi terutama fungsi neuromuskular (kontraksi otot), dan hal ini merupakan salah satu faktor terjadinya mastitis pada sapi perah. Rendahnya kadar kalsium dalam darah menyebabkan penurunan kontraksi otot salah satunya otot spingter puting yang bertanggung jawab dalam penutupan puting setelah pemerahan, sehingga beresiko terhadap kejadian mastitis. Selain itu rendahnya kadar kalsium akan mengganggu respon imun terhadap aktivasi oleh stimulus (Goff, 2008). Perluasan atau peradangan pada ambung seperti mastitis menyebabkan pelepasan sel somatik ke dalam susu. Kasus mastitis subklinis tidak menunjukkan gejala klinis tetapi pada pemeriksaan susu secara mikroskopik terdapat peningkatan jumlah sel somatik lebih dari 400 000 sel setiap ml susu (Sudarwanto et al., 2006; IDF, 1999).

Sapi perah yang menderita hipokalsemia subklinis mengalami kesulitan dalam kontraksi otot termasuk otot sphincter puting. Otot sphincter puting terdiri dari otot-otot polos yang mengatur lubang puting untuk menutup dan membuka. Penurunan kekuatan dan laju kontraksi otot polos dapat terjadi pada saat hipokalsemia subklinis, sehingga menyebabkan lubang puting tidak menutup dengan sempurna (Nusdianto, 2009). Gangguan penutupan lubang puting akan mempermudah masuknya bakteri melalui lubang puting yang kemudian dapat menyebabkan mastitis subklinis (Goff, 2008). Beberapa penelitian menyatakan bahwa risiko mastitis meningkat 8 kali pada sapi penderita hipokalsemia (Nusdianto, 2009).

Tabel 1 menunjukkan sebanyak lima ekor sapi yang menderita mastitis subklinis tidak mengalami kondisi hipokalsemia subklinis. Hal ini diduga ada penyebab lain yang menimbulkan mastitis subklinis. Penularan patogen penyebab mastitis subklinis dapat terjadi dari sapi yang terinfeksi ke sapi yang tidak terinfeksi pada saat pemerahan yang tidak higienis. Hal ini terjadi karena ketidakbersihan alat-alat pemerahan atau tangan pemerah maupun pakaian pemerah yang kurang higienis. Cara pemerahan yang tidak benar juga akan menularkan patogen pada sapi saat pemerahan dan akhirnya terinfeksi dengan mastitis subklinis (AHDB, 2014).

Mastitis subklinis yang tidak diobati akan menjadi parah dan dapat mematikan puting susu se-

hingga puting tidak berfungsi lagi (Tutik & Sutarto, 2005). Pencegahan terhadap kejadian hipokalsemia subklinis sangat dipengaruhi oleh banyaknya kalsium yang diserap oleh tubuh sapi perah. Pakan dengan diet kalsium selama 6 minggu terakhir periode kering kandang akan mencegah terjadinya hipokalsemia subklinis. Idealnya jumlah kalsium dalam pakan pada waktu kering kandang harus kurang dari 100g per hari (20g). Dietary Cation-Anion Difference (DCAD) merupakan salah satu cara untuk mencegah terjadinya hipokalsemia subklinis (James, 2014). Tindakan ini dapat mencegah kejadian hipokalsemia subklinis. Diharapkan, pada saat penyakit metabolik dapat dicegah, maka mastitis subklinis dapat dikendalikan.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sapi perah penderita mastitis subklinis ditandai dengan tingginya jumlah sel somatik umumnya memiliki kadar kalsium darah lebih rendah dan termasuk dalam kondisi hipokalsemia subklinis serta memiliki produksi susu yang jauh rendah dibandingkan dengan sapi sehat.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”

DAFTAR PUSTAKA

- [AHDB] Agriculture & Horticulture Development Board. 2014. Mastitis in Dairy Cows. <http://dairy.ahdb.org.uk/technical-information/animal-health-welfare/mastitis/>. Download: September 1, 2015.
- Deny S. 2014. 80% Kebutuhan susu nasional masih impor. [Internet]. <http://bisnis.liputan6.com/read/2058443/80-kebutuhan-susu-nasional-masihimpor>. [diunduh 22 April 2016].
- Edeilweys N. 2013. Karakteristik Kimiawi Susu Sapi Perah Friesian Holstein (FH) yang Diberikan Pakan Komplit Berbasis Limbah Bahan Baku Lokal Berupa Limbah Sayur Skripsi S1. Universitas Hasanuddin. Makassar. p3-11
- Fikadu W, Dechassa T, Nejash A, Wahid MA. 2016. Milk fever and its economic consequences in dairy cows. *Global Veterinary Journal* 16 (5): 441-452.
- Goff JP. 2008. The monitoring, prevention and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*. 176: 50-57.

- Haerah D. 2015. Deteksi *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis Subklinis pada Sapi Perah di Kecamatan Cendana Kabupaten Enrekang. Skripsi S1. Universitas Hasanuddin. Makassar. p1-13
- Halasa T, Nielen M, Roos APWD, Van H, Jong G, Lam JGM, Werven T, Hogeveen H. 2009. Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. *Journal of Dairy Science*. 92: 599-606.
- [IDF] International Dairy Federation. 1999. Suggested interpretation of mastitis terminology. *Bulletin International Dairy Federation*. 33: 3-26.
- James A. 2014. Treatment of Metabolic Disease. <http://www.vettimes.co.uk/article/treatment-of-metabolic-disease/>. Download: April 25, 2016.
- Masoera F, Moschini M, Pulimeno AM. 2003. Serum calcium and magnesium level in dairy cows at calving. *Journal Dairy Science* 2(1): 172 -174.
- Mawardi R. 2012. Produksi Susu dan Dangke Sapi Perah yang Diberi Tepung Daun Murbei (*Morus Alba*) Menyubstitusi Ampas Tahu dengan Level yang Berbeda. Skripsi S1. Universitas Hasanuddin. Makassar. P1-19
- Megan ST. 2007. Calcium and Phosphorus Metabolism In Jersey And Holstein Cows During Early Lactation. Dissertation S3. Virginia Polytechnic Institute. Blacksburg. P1-40
- Nusdianto T. 2009. Penyakit Metabolik Pada Sapi Perah Dan Dampaknya Terhadap Respon Kekebalan Dan Penyakit-Penyakit Lain. Makalah disampaikan pada Continuing Education PDHI Jatin 2 di KUD Dau Malang. Malang.
- Oetzel QR. 2013. Minimizing Hypocalcemia During Early Lactation. <http://tristatedairy.org/Proceedings%202013/Garrett%20Oetzel.pdf>. Download: April 9, 2016.
- Riki K. 2010. Status Kandungan Mineral pada Sapi Yang Bunting dan Tidak Bunting Setelah Diinseminasi Buatan di Kecamatan Ketaping Kabupaten Padang Pariaman. Skripsi S1. Universitas Andalas. Padang.p1-25
- Sudarwanto M, Latif H, Muchidin N. 2006. The relationship of the somatic cell counting to subclinical mastitis and to improve milk quality. 1st International AAVS Scientific Conference. Jakarta (ID) 12-13 Juli 2006
- Sudarwanto M, Sudarnika E. 2008. Hubungan antara pH susu dengan jumlah sel somatik sebagai parameter mastitis subklinis. *Media Peternakan* 31(2): 107-113
- Timothy AR, John DL, Brian IM, Jesse PG, Ronald LH. 2011. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal* 188: 122 – 124.
- Tutik NS, Sutarto. 2005. *Beternak Sapi Perah*. PT Musi Perkasa Utama. Jakarta.