

Suplementasi Mineral Pada Pakan Sapi Bali Terhadap Diferensial Leukosit Di Empat Tipe Lahan

(MINERAL SUPPLEMENTATION ON BALINESE CATTLE TOWARD LEUCOCYTE DIFFERENTIAL IN FOUR TYPES OF LAND)

I Putu Cahyadi Putra¹, Ni Ketut Suwiti², Ida Bagus Komang Ardana³,

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

²Laboratorium Histologi Veteriner Universitas Udayana

³Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Universitas Udayana

Jln. PB. Sudirman Denpasar-Bali

Email: *cahyadi.pt@gmail.com*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian mineral pada pakan sapi bali yang dipelihara di empat tipe lahan (sawah, tegal, kebun dan hutan) terhadap diferensial leukosit. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola tersarang pada 48 ekor sapi bali jantan. Sapi dikelompokkan dalam empat perlakuan pemberian mineral yaitu kontrol, 2,5 gram, lima gram dan 7,5 gram pada masing-masing tipe lahan. Selanjutnya dilakukan pengambilan darah di vena *auricularis superficialis* pada bulan ke tiga setelah perlakuan. Pembuatan apusan darah menggunakan metode slide dan diwarnai dengan Giemsa. Apusan darah diperiksa terhadap diferensial leukosit menggunakan metode *battlement* dengan pembesaran $1000\times$, kemudian data dianalisis sidik ragam dan uji Cochran. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan pemberian mineral tidak mengubah diferensial leukosit. Sementara itu, persentase limfosit di tipe lahan kebun lebih rendah daripada di tipe lahan sawah, tegal dan hutan, namun tidak ada perbedaan persentase neutrofil, eosinofil, basofil dan monosit di empat tipe lahan, sehingga disimpulkan pemberian mineral sampai pada konsentrasi 7,5 gram tidak mengubah diferensial leukosit sapi bali

Kata kunci: sapi bali, mineral, diferensial leukosit, tipe lahan

ABSTRACT

The aims of this research were to know the effect of mineral intake on Balinese cattle that has been fed on four different types of land (rice field, grassland, garden, and forest) towards the leukocytes differential. The research design follows a completely randomized design (CRD) using a nested pattern on 48 males from Balinese cattle. The cattle were grouped according to four treatments of mineral intake, namely: controls, 2.5 grams, five grams, and 7.5 grams in each type of land. Furthermore, the blood was taken from the *auricularis superficialis* vein in the third month after treatment. A blood smear was prepared using the slide method and a sample was stained with Giemsa. The blood smear was examined by leukocytes differential using battlement method with $1000\times$ magnification. Then, the collected data were analyzed using analysis of variance and Cochran test. The research results show that the given treatment of minerals has no change the leukocytes differential. In contrast, the percentage of lymphocytes in the type of garden land has lower than on the type of forest, rice land and grassland, but has no differences the percentage of neutrophils, eosinophils, basophils, and monocytes in the four types of land. The conclusion is giving to a concentration of 7.5 gram does not change the differential leukocyte Bali cattle.

Keywords: bali cattle, mineral, leucocytes differential, types of land

PENDAHULUAN

Tipe lahan tempat pemeliharaan sapi bali dibedakan atas: lahan sawah, tegal, kebun dan hutan. Peternak sapi bali di Bali sebagian besar merupakan peternak kecil dengan tujuan pemeliharaan sapi sebagai tabungan. Pakan sapi yang diberikan berasal dari lahan di sekitar lingkungan peternakan. Lahan untuk menanam pakan sapi merupakan lahan nonproduktif, sedangkan lahan produktif digunakan untuk tanaman pangan. Kondisi tersebut menyebabkan kualitas pakan tidak maksimal. Ketersediaan mineral dalam tanah terbukti berbeda-beda pada setiap tipe lahan, sehingga berpengaruh terhadap kandungan mineral pada sumber pakan (Suwiti *et al.*, 2012). Kecukupan asupan mineral dipengaruhi faktor kondisi kesuburan tanah (dipupuk atau tidak), jenis tanah tipe lahan dan jenis tanaman yang tumbuh di lahan tersebut (Darmono, 2007; Devi *et al.*, 2014).

Peternak sering mengabaikan pemberian mineral dan cenderung memberikan pakan hijauan saja. Padahal mineral sangat berperan dalam proses fisiologis tubuh yaitu proses enzimatis, hormonal, perbaikan sel, sebagai katalis, regulator, reproduksi dan kekebalan tubuh yang diperankan oleh leukosit (Arifin, 2008; Soetan *et al.*, 2010). Mikro mineral Zn, Mn, Se dan Cu berperan pada sistem kekebalan tubuh, secara humorai ataupun seluler (Ahola *et al.*, 2010). Disamping itu sapi bali di Bali mengalami defisiensi mineral makro (P, K dan Cl) serta defisiensi mineral mikro (Zn, Mn dan Cu) (Suwiti *et al.*, 2012). Defisiensi mineral makro akan mengganggu proses pertumbuhan dan reproduksi (Arifin *et al.*, 1999), sedangkan defisiensi mineral mikro tersebut dapat menyebabkan penurunan produksi, fungsi dan sekresi sel leukosit seperti antibodi dan sitokin (Arthington, 2006).

Untuk mengetahui keadaan imunitas hewan dilakukan dengan dua cara yaitu penghitungan total leukosit dan hitung jenis leukosit. Salah satu faktor yang mempengaruhi jumlah leukosit darah adalah defisiensi mineral (Harvey, 2012). Defisiensi tersebut dapat disebabkan oleh ketersediaan kandungan mineral sumber pakan di lingkungan tempat pemeliharaan yang rendah (Suwiti *et al.*, 2012). Dari uraian diatas penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian mineral pada pakan dan tipe lahan tempat pemeliharaan terhadap diferensial leukosit sapi bali.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Sampel yang digunakan adalah darah sapi bali jantan berumur 12 bulan yang dipastikan sehat. Sampel diambil dari empat tipe lahan yaitu lahan sawah, kebun, tegal dan hutan masing-masing 12 ekor. Bahan yang digunakan adalah *methyl alcohol absolute* (Merck, USA), pewarna Giemsa, alkohol 95%, aquadest, minyak Emersi dan mineral premix (produk Ultra-Mineral® produksi PT. Eka Farma Semarang) dengan komposisi kalsium karbonat (50%), fosfor (25%), mangan (0,35%), iodium (0,2%), kalium (0,1%), tembaga (0,15%), sodium klorin (23,05%), besi (0,8%), seng (0,2%) dan magnesium (0,15%). Alat yang digunakan adalah spuit 3 ml (OneMed®), objek gelas, gelas fiksasi (*coplin jar*), beaker gelas, rak pewarna dan mikroskop (Olympus CX-51, Japan).

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola tersarang yaitu terdiri dari empat tipe lahan (sawah, tegal, kebun dan hutan) dan empat perlakuan pemberian mineral (tidak diberikan mineral sebagai kontrol, mineral premix 2,5 gram, lima gram dan 7,5 gram) yang tersarang pada masing-

masing tipe lahan dengan ulangan sebanyak tiga kali. Selama tiga bulan sapi diberikan pakan berasal dari tanaman disekitar lahan tempat pemeliharaan berdasarkan formula ransum pada Tabel 1. Ransum selanjutnya dicampur dengan konsentrasi mineral sesuai perlakuan.

Setelah tiga bulan perlakuan, sampel darah diambil melalui vena *auricularis superficialis* dengan menggunakan sputit tiga ml secara aseptik, kemudian dibuat apusan darah sebanyak 48 buah sesuai jumlah sampel sapi.

Tabel 1. Formula ransum standar

Nama Bahan	Berat Bahan		BK (Kg)	PK (Kg)	TDN (Kg)	ME (mcal/kg)	Ca (Kg)	P (Kg)
	(Kg)	%						
Rumput	15,71	49,95	3,30	0,27	1,65	5,94	0,0195	0,010
Leguminosa	8,13	36,93	2,44	0,57	1,88	7,22	0,0342	0,005
Dedak padi	0,50	6,51	0,43	0,05	0,30	1,17	0,0003	0,007
Jagung kuning	0,50	6,51	0,43	0,04	0,34	1,34	0,0001	0,001
Total	24,84	100	6,60	0,94	4,17	15,68	0,05	0,023
Diperoleh		100	6,6	14,3%	63,2%	2,4	0,82%	0,34%
Diperlukan		100	6,6	11,5%	65,1%	2,4	0,42%	0,29%

Sumber: Suwiti *et al.*, (2012)

Pembuatan dan fiksasi apusan darah langsung dibuat di lahan tempat pemeliharaan sapi. Pembuatan apusan darah menggunakan metode slide. Objek gelas dibersihkan dengan alkohol 95% dan dikeringkan. Darah diteteskan ke salah satu ujung objek gelas. Objek gelas kedua untuk penghapus diletakkan dekat tetesan darah membentuk sudut 30° – 45° dengan objek gelas yang tertetes darah.

Gelas penghapus digeser ke arah tetesan darah sehingga darah tersebar ke seluruh permukaan gelas penghapus. Gelas penghapus dengan cepat digeser berlawanan dengan arah geseran sebelumnya, akan didapatkan apusan darah yang tipis dan merata. Hapusan darah dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian dimasukkan ke *coplin jar* yang telah diisi dengan methyl alkohol selama 3 menit untuk proses fiksasi (Houwen 2000; Harvey, 2012). Hapusan diwarnai dengan metode pewarnaan Giemsa selama 30 menit kemudian dibilas dengan air mengalir dan

dikeringkan (Houwen, 2002). Penghitungan dan identifikasi jenis leukosit dilakukan di bawah mikroskop terhadap 100 leukosit menggunakan *battlement method* dengan pembesaran 1000 kali (Weiss dan Wardrop, 2010)

Analisis Data

Data persentase neutrofil, eosinofil, limfosit dan monosit yang diperoleh dianalisis dengan ragam, bila berbeda nyata ($P<0,05$) dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Data persentase basofil di uji dengan Cochran. Prosedur analisis menggunakan program SPSS 17 (Sampurna dan Nindhia, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang diperoleh adalah rataan persentase diferensial leukosit dari masing-masing perlakuan di tiap tipe lahan. Rata-rata persentase diferensial leukosit dari 48 sampel adalah neutofil 23,98%, eosinofil 3,17%, basofil

0,13%, limfosit 68,85% dan monosit 3,88%. Menurut Meo (2009), persentase agranulosit normal pada sapi bali yaitu $64,78\% \pm 11,46$ (limfosit) dan $1,75\% \pm 0,85$ (monosit), sedangkan menurut Utama *et al.* (2013) diferensial leukosit sapi bali jantan adalah limfosit 46,48%, monosit 9,84%, neutrofil 40,51%, eosinofil 1,48%, basofil 0,45% dan band 0,57%. Nilai normal diferensial leukosit pada sapi adalah neutrofil 15-47%, limfosit 45-75%, monosit 2-7%, eosinofil 0-20%

dan basofil 0-2% (Weiss dan Wardrop, 2010). Dibandingkan dengan nilai normal, persentase leukosit hasil penelitian masih dalam taraf normal.

Setelah dilakukan analisis ragam didapatkan hasil yaitu perlakuan pemberian mineral di tiap tipe lahan tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap persentase neutrofil dan eosinofil. Tipe lahan tempat pemeliharaan sapi bali tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap persentase neutrofil dan eosinofil.

Tabel 2. Rataan Persentase Leukosit Pada Pemberian Mineral Dari Empat Tipe Lahan

Tipe Lahan	Mineral	Rataan Persentase				
		Granulosit			Agranulosit	
		Neutrofil	Eosinofil	Basofil	Limfosit	Monosit
Sawah	Kontrol	24,33	3,00	0,00	70,67	2,00
	2,5 gram	17,00	3,00	0,00	76,00	4,00
	5 gram	19,67	1,00	0,00	74,67	4,67
	7,5 gram	25,67	3,00	0,33	66,00	5,00
Kebun	Kontrol	25,33	7,00	0,00	63,00	4,67
	2,5 gram	26,33	2,33	0,67	66,33	4,33
	5 gram	27,00	2,00	0,67	64,00	6,33
	7,5 gram	30,67	4,67	0,00	61,33	3,33
Tegal	Kontrol	20,33	2,33	0,00	75,33	2,00
	2,5 gram	23,33	4,33	0,00	69,67	2,67
	5 gram	26,67	2,00	0,00	68,67	2,67
	7,5 gram	23,00	3,33	0,33	69,00	4,33
Hutan	Kontrol	16,67	3,00	0,00	75,33	5,00
	2,5 gram	23,00	1,33	0,00	72,00	3,67
	5 gram	23,67	2,33	0,00	69,67	4,33
	7,5 gram	31,00	6,00	0,00	60,00	3,00
Rata-rata		23,98	3,17	0,13	68,85	3,88

Hasil uji Cochran pengaruh pemberian mineral terhadap persentase basofil didapatkan besaran Cochran yaitu 2,571 dengan signifikansi 0,463, sehingga perlakuan pemberian mineral tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap persentase basofil. Hasil uji Cochran pengaruh tipe lahan terhadap persentase basofil didapatkan besaran Cochran 6,750 dengan signifikansi 0,080, sehingga tipe lahan tempat pemeliharaan sapi bali tidak

berpengaruh ($P>0,05$) terhadap persentase basofil.

Dapat diamati juga bahwa tipe lahan tempat pemeliharaan dan perlakuan pemberian mineral pada masing – masing tipe lahan tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap persentase monosit. Tipe lahan tempat pemeliharaan sapi bali berpengaruh nyata ($P<0,05$) dan perlakuan pemberian mineral pada masing-masing tipe lahan tidak

berpengaruh ($P>0,05$) terhadap persentase limfosit. Untuk mengetahui pengaruh tipe lahan tempat pemeliharaan terhadap persentase limfosit dilanjutkan dengan uji BNT.

Dari Uji BNT terhadap persentase limfosit pada empat tipe lahan (Tabel 3) menunjukkan bahwa persentase limfosit terendah yaitu pada lahan kebun ($P<0,05$), sedangkan yang tertinggi adalah pada tipe lahan sawah namun tidak berbeda ($P>0,05$) dengan lahan tegal dan hutan.

Pemberian mineral 2,5 gram, 5 gram ataupun 7,5 gram tidak mengubah persentase granulosit. Nilai persentase neutrofil, eosinofil dan basofil tidak berubah setelah diberikan pemberian mineral, padahal peningkatan dan penurunan persentase granulosit dapat diakibatkan oleh berbagai faktor. Neutrofilia dapat diakibatkan oleh lingkungan yang panas, proses peradangan dan stres (Weiss dan Wardrop, 2010). Neutropenia dapat disebabkan oleh defisiensi Cu serta defisiensi Se dapat menyebabkan penurunan kerja neutrofil (Randhawa *et al.*, 2002; Schuschke *et al.*, 2002; Arthington, 2006).

Tabel 3. Hasil uji BNT terhadap persentase limfosit pada empat tipe lahan

Tipe Lahan	Rataan	Signifikansi (P)	
		0,05	0,01
Sawah	71,8333	a	A
Tegal	70,6667	a	Ab
Hutan	69,2500	a	Ab
Kebun	63,6667	b	B

Ket: Nilai dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda ($P>0,05$), sedangkan nilai dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$).

Defisiensi mikro mineral Cu terjadi pada sapi bali (Suwiti *et al.*, 2012), namun dari ditemukannya persentase

neutrofil yang normal dapat diketahui bahwa defisiensi yang terjadi belum dapat menyebabkan neutropenia. Manifestasi klinis berupa neutropenia tersebut terjadi jika hewan mengalami defisiensi yang parah (Ahola *et al.*, 2010). Pemberian mineral tetap dibutuhkan untuk mencegah terjadinya defisiensi yang dapat berakibat pada penurunan persentase neutrofil.

Hasil penelitian menunjukkan pemberian mineral tidak mengubah persentase eosinofil. Peningkatan eosinofil dapat disebabkan oleh reaksi alergi, estrus, penyakit parasitik, kompleks eosinofilik granuloma dan leukemia eosinofilik (Bush, 1991). Penurunan eosinofil (eosinopenia) disebabkan oleh kelainan sumsum tulang belakang dan kaheksia parah karena defisiensi nutrisi (Dharmawan, 2002). Kelainan sumsum tulang belakang dan kaheksia sangat dipengaruhi oleh makro mineral Ca, Mg, Na, K dan P, mineral tersebut diperlukan untuk menyusun tulang, protein dan lemak (Arifin, 2008). Eosinopenia sering ditemukan pada sapi bali namun hal tersebut lebih terkait kepada stres dan akibat penekanan granulopoeisis (Utama *et al.*, 2013). Belum ada laporan terkait defisiensi mineral pada sapi bali dapat menyebabkan terjadinya eosinopenia.

Peningkatan basofil (basofilia) jarang terjadi, biasanya disertai eosinofilia dan leukemia granulosit basofilik. Penurunan jumlah basofil (basopenia) karena diberikan obat kortikosteroid (Bush, 1991). Penurunan jumlah basofil sangat sulit dikatakan menurun, hal ini dikarenakan jumlah basofil dari awal sangat rendah (Lawhead dan Meecee, 2003).

Tipe lahan tempat pemeliharaan tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap persentase neutrofil, eosinofil dan basofil.

Lahan sawah digolongkan pada dataran rendah, sedangkan lahan tegalan dan kebun digolongkan pada dataran tinggi. Menurut Marcolina (2009)

perbedaan kondisi wilayah berdasarkan ketinggian tempat, yaitu dataran tinggi dan rendah tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap jumlah granulosit sapi bali. Brian *et al.* (2003) menyatakan, tidak ada perbedaan yang signifikan antara jumlah neutrofil pada suhu panas ataupun dingin. Sehingga kondisi tipe lahan tidak banyak memberikan pengaruh pada persentase granulosit. Granulosit lebih banyak dipengaruhi oleh faktor infeksi bakteri yang berakibat pada peningkatan jumlah neutrofil ataupun infeksi parasit yang berakibat pada peningkatan eosinofil.

Pemberian mineral tidak mengubah persentase agranulosit (limfosit dan monosit). Penurunan persentase limfosit (limfopenia) dapat diakibatkan defisiensi mineral Zn (Klaus dan Rink, 2003). Limfopenia akibat defisiensi Zn terjadi karena terganggunya perkembangan sel-sel limfosit, penurunan proliferasi, peningkatan apoptosis dan atrofi timus (Shankar dan Prasad, 1998). Defisiensi mineral Zn dapat menyebabkan penurunan fungsi sel T dan B, produksi sitokin menurun serta penurunan kemampuan sel T untuk berdiferensiasi dan berproliferasi (Widhyari, 2012). Mikromineral lain yang dapat mempengaruhi limfosit adalah Cu, Mn dan Se. Sapi bali di Bali mengalami defisiensi Zn, Mn dan Cu, dengan kadar mineral Zn pada darah 0,109-0,331 mg/l, mineral Mn 0,0625-0,075 mg/l dan mineral Cu 0,0125-0,0875 mg/l tergantung tipe lahan (Suwiti *et al.*, 2012).

Defisiensi mineral Cu dapat menurunkan jumlah limfosit perifer (Ahola *et al.*, 2010), defisiensi Mn dapat mempengaruhi limfosit B dalam memproduksi dan mensintesis antibodi (Gentile, 2008). Selenium (Se) berperan dalam pembentukan antibodi, proliferasi limfosit B dan T serta penghancuran sel oleh sel limfosit dan sel *natural killer* (Politis *et al.*, 2004).

Gejala defisiensi akan timbul jika sudah dalam keadaan yang parah, sedangkan pada penelitian ini sapi dalam keadaan normal, sehat dan tidak menunjukkan gejala klinis sakit. Sehingga pemberian mineral tetap penting dilakukan karena akan mendapatkan persentase agranulosit yang normal. Selain itu limfopenia dapat diakibatkan oleh stres transportasi (Galipalli *et al.*, 2004), lingkungan yang panas atau dingin, trauma dan *shock* (Harvey, 2012). Peningkatan persentase limfosit (limfositosis) secara signifikan dapat diakibatkan oleh peradangan kronis akibat virus, kelainan limphoproliferatif, insufisiensi korteks adrenal dan secara fisiologis (ketakutan, kecemasan dan rasa sakit) (Stockham dan Scott, 2008; Vasconcelos dan Galyean, 2014).

Hasil penelitian menunjukkan pemberian mineral tidak mengubah persentase monosit. Peningkatan monosit (monositosis) dapat terjadi akibat penyakit kronis dan peningkatan steroid akibat stres. Peningkatan monosit relatif dapat terjadi jika adanya neutropenia. Penurunan monosit (monositopenia) jarang terjadi dan tidak mengandung arti penting (Dharmawan, 2002; Stockham dan Scott, 2008). Salah satu mineral yang berpengaruh terhadap monosit adalah Zn. Defisiensi Zn dapat menyebabkan kegagalan sel monosit dan makrofag dalam fagositosis (Widhyari, 2012).

Tipe lahan tempat pemeliharaan sapi bali berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap persentase limfosit, namun tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap monosit. Menurut Brian *et al.* (2003) pada kondisi panas jumlah limfosit lebih tinggi daripada kondisi dingin, hal tersebut terjadi karena tingkat stres pada kondisi panas lebih tinggi daripada kondisi dingin. Ketinggian tempat juga dapat berpengaruh terhadap jumlah limfosit.

Marcolina (2009) menyatakan jumlah limfosit dan monosit pada sapi bali di dataran rendah cenderung lebih

tinggi dibandingkan dengan dataran tinggi ($P<0,05$). Dataran rendah memiliki suhu yang lebih tinggi daripada dataran tinggi. Jumlah limfosit tertinggi ($P<0,05$) ditemukan di tipe lahan sawah dengan rataan 71,83%, sedangkan terendah pada tipe lahan kebun 63,67%. Pada lahan sawah memiliki suhu lingkungan yang lebih tinggi daripada lahan kebun. Suhu dan kelembaban yang terlalu tinggi akan meningkatkan stres (Shimon *et al.*, 1997). Hal itu akan berpengaruh pada peningkatan limfosit. Tingkat stres dapat diketahui dengan menghitung rasio neutrofil dan limfosit (N/L), jika rasio tersebut di atas 1,5 maka hewan mengalami stres (Kannan *et al.*, 2000).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Perlakuan pemberian mineral 2,5-7,5 gram tidak mengubah persentase neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit dan monosit sapi bali. Persentase limfosit sapi bali di tipe lahan kebun lebih rendah daripada di tipe lahan sawah, tegal dan hutan, namun tidak ada perbedaan di keempat tipe lahan.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian mineral terhadap total leukosit dan produksi antibodi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada pemerintah melalui Menteri Pendidikan dan Kebudayaan CQ Dirjen Pendidikan Tinggi melalui hibah penelitian kompetitif nasional (PENPRINAS MP3EI 2011/2025).

DAFTAR PUSTAKA

Ahola JK, Engle TE, Whittier JC. 2010. Trace minerals and the immune

system in cattle. *Western Beef Resource Committe*, 315: 1-5.

Arifin Z, Darmono S, Rachmawati, Safuan A. 1999. Konsentrasi mineral makro (ca, mg dan p) dalam serum sapi selama masa kebuntingan. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner: 315-317.

Arifin Z. 2008. Beberapa unsur mineral esensial mikro dalam sistem biologi dan metode analisisnya. *J Litbang Pertanian*, 27(3): 99-105.

Arthington JD. 2006. Trace mineral nutrition and immune competence in cattle. Florida Ruminant Nutrition Symposium, Best Western Gateway Grand, Gainesville FL. February 1-2, 2006.

Bush B. 1991. Interpretation of laboratory results for small animal clinicians. Blackwell Science USA

Brian K, McFarlin, Joel BM. 2003. Exercise in hot and cold environments: differential effects on leukocyte number and nk cell activity. *Aviation, Space, and Environmental Medicine* 74(12): 1231-1236.

Darmono. 2007. Penyakit defisiensi mineral pada ternak ruminansia dan upaya pencegahannya. *J Litbang Pertanian*, 26(3): 104-108.

Devi G, Sharman MC, Dimri U, Shekhar P, Deepa PM. 2014. Micromineral status of soil, fodders and cattle from idukki and ernakulam districts of kerala state, India and their interrelation. *Int J of Advanced Research*, 2(7): 11-15.

Dharmawan NS. 2002. *Pengantar patologi klinik veteriner, hematologi klinik*. Pelawa Sari, Denpasar.

Galipalli S, Gadiyaram KM, Kouakou B, Terrill TH, Kannan G. 2004. Physiological responses to

- preslaughter transportation stress in tasco-supplemented boer goats. *South African J of Anim Sci*, 34: 198-200.
- Gentile D. 2008. Effect of trace mineral amount and source on aspects of immune function in dairy cows. Honors. (Thesis). Presented to the College of Agriculture and Life Sciences Animal Science Department of Cornell University.
- Harvey JW. 2012. veterinary hematology a diagnostic guide and color atlas. Elsevier. Saunders. Florida
- Houwen B. 2000. Blood film preparation and staining procedures. *Lab Hematol*, 6: 1-7.
- Houwen B. 2001. The differential cell count. *Lab Hematol*, 7: 89-100.
- Kannan G, Terrill TH, Kouakou B, Gazal OS, Gelaye S, Amoah EA, Samake S. 2000. Transportation of goat: effects on physiological stress responses and live weight loss. *J of Animal Sci*, 78: 1450-1457.
- Klaus HI, Rink L. 2003. Zinc-altered immune function. *J Nutr*, 133: 1452-1456.
- Lawhead JB, Meecee B. 2003. Introduction to veterinary science. Delmar Learning: New York.
- Marcolina KN. 2009. Profil sel darah putih sapi bali. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar.
- Meo MSNS. 2009. Identifikasi sel darah putih agranulosit limfosit dan monosit pada sapi bali. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar
- Politis I, Iosif B, Anastios T, Antonella B. 2004. Effect of vitamin e supplementation on neutrophil function, milk composition and plasmin activity in dairy cows in a commercial herd. *J of Dairy Research*, 71:273-278.
- Randhawa CS, Randhawa SS, Sood NK. 2002. Effect of molybdenum induced copper deficiency on peripheral blood cells and bone marrow in buffalo calves. *Asian-Aust J Anim Sci*, 15(4): 509-515.
- Sampurna IP, Nindhia TS. 2008. *Analisis data dengan SPSS*: dalam rancangan percobaan. Udayana University Press. Denpasar.
- Schuschke DA, Percival SS, Lominadze D, Saari JT, Lentsch AB. 2002. Tissue-specific icam-1expression and neutrophil transmigration in the copper-deficient rat. *Inflammation*, 26(6): 297-303.
- Shankar AH, Prasad AS. 1998. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *Am. J Clin Nutr*, 68: 447S-463S
- Shimon I, Taylo JE, Dong JZ. 1997. Somatostatin receptor subtype specificity in human fetal pituitary cultures. Differential role of sstr2 and sstr5 for growth hormone, thyroid-stimulating hormone, and prolactin regulation. *J Clin Invest*, 99: 789-798
- Soetan KO, Olaiya CO, Oyewole OE. 2010. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: a review. *African J of Food Sci*, 4(5): 200 -222.
- Stockham SL, Scott MA. 2008. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. Blackwell Publishing. USA.
- Suwiti NK, Putra S, Puja N, Watiniash NL. 2012. *Peningkatan produksi sapi bali unggul melalui pengembangan model peternakan terintegrasi*. Laporan Penelitian Prioritas Nasional MP3EI Pusat

- Kajian Sapi Bali Univ. Udayana.
- Utama IH, Kendran AAS, Widyastuti SK, Virgania P, Sene SM, Kusuma WD, Arisandi BY. 2013. hitung diferensial dan kelainan-kelainan sel darah sapi bali. *J Veteriner*, 14(4): 462-466.
- Vasconcelos, Galyean ML. 2014. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2007 Texas Tech University survey. *J of Anim Sci*, 85(10): 2772-2781
- Widhyari SD. 2012. Peran dan dampak defisiensi zinc (zn) terhadap sistem tanggap kebal. *Wartazoa*, 22(3): 141-148.
- Weiss DJ, Wardrop KJ. 2010. Schalm's veterinary hematology. 6th Ed. Singapore. Blackwell Publishing Ltd.