

Pengaruh Dipping Menggunakan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn.) Terhadap Total Bakteri Dan Jamur Susu Sapi Perah Mastitis Subklinis

(The effects of Averrhoa bilimbi leaves extract on bacterial and fungal counts in milk of the subclinical mastitic dairy cattle)

Julianto¹, Priyo Sambodho² dan Dian Wahyu Harjanti²

¹Mahasiswa Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang

² Dosen Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang
Corresponding author : dianharjanti@undip.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap jumlah bakteri dan jamur pada susu sapi perah penderita mastitis subklinis. Metode yang digunakan adalah pencelupan puting sapi perah (teat dipping) menggunakan larutan antiseptik berbahan dasar ekstrak daun belimbing wuluh. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Berjenjang (split-plot in time), dengan empat kelompok perlakuan dan masing-masing empat ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah pencelupan puting sapi perah kedalam larutan yang mengandung 1%, 3% dan 5% ekstrak daun belimbing wuluh (T1, T2 dan T3). Kontrol positif menggunakan antiseptik sintesis komersial povidone iodine (K+). Pencelupan puting dilakukan setiap hari selama 9 hari, yaitu setelah pemerahan pagi dan sore. Sampel susu diambil sebelum perlakuan (H0) dan pada hari ke-3, 6 dan 9 (H3, H6 dan H9). Perlakuan konsentrasi ekstrak digunakan sebagai mainplot, sedangkan hari pengambilan sample digunakan sebagai sub plot. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada interaksi antara perlakuan konsentrasi ekstrak dengan hari pengambilan sample pada parameter jumlah bakteri dan jamur pada susu. Ekstrak daun belimbing wuluh dan antiseptik sintesis povidone iodine memiliki kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri, ditunjukkan dengan rata-rata jumlah bakteri yang sama setelah perlakuan pada semua kelompok, dengan persentase penurunan jumlah bakteri yang sama. Semakin lama perlakuan dipping dilakukan, maka jumlah bakteri dalam susu mengalami penurunan yang sangat nyata ($P < 0,01$), hal ini dilihat dari jumlah bakteri yang menurun mulai dari H0 yaitu sejumlah 21.287×10^3 cfu/ml, H3 sejumlah 6.825×10^3 cfu/ml, H6 sejumlah 391×10^3 cfu/ml dan pada H9 sejumlah 46×10^3 log cfu/ml. Namun demikian, semua perlakuan tidak menunjukkan pengaruh terhadap jumlah jamur dalam susu. Oleh karena itu disimpulkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh memiliki daya antibakteri dan dapat digunakan sebagai antiseptik alternatif larutan dipping puting untuk mencegah masuknya bakteri melalui lubang puting dan menurunkan jumlah cemaran bakteri dalam susu.

Kata kunci : Daun belimbing wuluh, antiseptik, pencelup puting, susu, bakteri

ABSTRACT

This study aimed to determine the effects of Averrhoa bilimbi leaves extract as an antiseptic for post milking teat dipping of the subclinical mastitic dairy cattle on the bacterial and fungal counts in milk. A completely randomized design of split plot types was used in this study with 4 treatments and 4 replications. The treatments were post milking teat dipping using antiseptic solutions containing 1%, 3%, and 5% of Averrhoa bilimbi leaves extract (T1, T2 and T3, respectively). Commercially antiseptic povidone iodine was used as positive control (K+). Teat dipping was conducted every day after morning and evening milking for 9 days. Milk samples were collected at before treatment (H0) and on the day 3, 6 and 9 day of the treatments (H3, H6 and H9, respectively). The results showed no interaction between the treatments and sampling days. The bacterial counts after treatment using Averrhoa bilimbi leaves extract were similar with those using povidone iodine, indicating the same effectiveness of Averrhoa bilimbi leaves extract with povidone iodine as antiseptic. Nonetheless, the fungal counts did not effected by all treatments. Averrhoa

bilimbi leaves extract could reduced the bacterial counts in milk significantly ($P < 0.01$), indicated by the decreasing number of bacteria from the H0 (21.287×10^3 cfu/ml), H3 (6.825×10^3 cfu/ml), H6 (391×10^3 cfu/ml), and H9 (46×10^3 cfu/ml). In conclusion, Avorrhoea bilimbi leaves extract could be used as an alternative antiseptic for teat dipping to prevent the bacterial infection via teat canal and to reduce the number of bacterial contamination in milk.

Keywords: Avorrhoea bilimbi leaves, antiseptic, teat dipping, milk, bacteria

PENDAHULUAN

Susu merupakan bahan pangan yang memiliki kandungan nutrisi yang lengkap seperti lemak, protein, laktosa, vitamin, enzim, pH mendekati netral dan kandungan air yang tinggi. Kandungan nutrisi yang tinggi menjadi media yang sangat cocok untuk berkembangnya mikroorganisme, sehingga susu mudah dan cepat rusak jika tidak dilakukan penanganan yang benar. Jawa Tengah merupakan salah satu provinsi penghasil susu yang memiliki peran besar dalam upaya pemasokan kebutuhan konsumsi susu.

Cemaran bakteri dan jamur merupakan masalah yang sering dijumpai oleh peternak. Cemaran bakteri dan jamur yang melebihi nilai ambang batas sangat merugikan peternak. Hal ini dapat mengakibatkan ditolaknya susu yang dihasilkan peternak oleh koperasi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Septiani dan Drastini (2014) menyatakan bahwa jumlah bakteri rata-rata yang terdapat pada koperasi di Jogjakarta dan Jawa Timur masih melebihi standar yaitu $1,0 \times 10^6$ cfu/ml pada koperasi Saroni Makmur, $3,6 \times 10^6$ cfu/ml pada Koperasi Warung Mulya dan $4,0 \times 10^6$ cfu/ml pada Koperasi Unit Tani Tulungagung.

Di Jawa Tengah, Kabupaten Banyumas di laporkan bahwa jumlah bakteri dalam susu ditingkat peternak mencapai angka $2,6 \times 10^6$ cfu/ml. Sedangkan di Kabupaten Klaten, jumlah cemaran bakteri di tingkat peternakan mencapai $4,3 \times 10^6$ cfu/ml (Harjanti et al., 2016). Standar Nasional Indonesia (SNI) 3141.1:2011 menyatakan bahwa cemaran mikroba maksimum pada susu segar adalah 1×10^6 cfu/ml. Hasil penelitian menyatakan bahwa kasus mastitis mikotik di Jawa Barat yang disebabkan oleh cemaran jamur (kapang dan khamir) menunjukkan 71 sampel dari 184 positif terkena mastitis berdasarkan CMT dengan dilakukan isolasi dan identifikasi koloni jamur yang tumbuh dengan total khamir 87% dan

kapang 13%. Penelitian serupa pada tiga lokasi berturut turut Bandung, Bogor dan Jakarta memiliki persentase positif jamur sebesar 50%, 38% dan 27% (Ahmad dan Gholib, 2012).

Penanganan kualitas susu dengan tujuan meminimalisir cemaran bakteri dan jamur pada susu harus diperhatikan secara cermat meliputi kebersihan kandang, ternak, alat pemerahan dan pemerah. Daun belimbing wuluh merupakan tanaman yang berpotensi sebagai antiseptik karena senyawa-senyawa yang terkandung didalamnya. Daun belimbing wuluh merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai obat herbal pada beberapa penyakit diantaranya memperbaiki fungsi pencernaan dan radang rektum. Daun belimbing wuluh selain digunakan sebagai penyedap rasa juga dapat dimanfaatkan sebagai obat stroke karena kandungan senyawa taninnya. Daun belimbing wuluh berkhasiat untuk mengurangi rasa sakit atau nyeri, sebagai pembunuh kuman dan menurunkan kadar gula darah (Wijayakusuma, 2006).

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk menguji apakah ekstrak daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas antibakterial dan antifungal dan dapat digunakan sebagai alternatif pengganti larutan dipping yang sudah ada di pasaran. Manfaat yang diperoleh dari penelitian adalah diperolehnya antiseptik berbahan herbal sebagai pengganti larutan dipping sintesis.

MATERI DAN METODE

Penelitian Pengaruh Dipping Menggunakan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn.) Terhadap Total Bakteri dan Jamur (Kapang dan Khamir) pada Susu Sapi Perah Penderita Mastitis Subklinis dilakukan pada tanggal 13 - 23 Desember 2015 di UPTD Mulyorejo, Tenganan, Jawa Tengah. Materi yang digunakan adalah 16 ekor sapi perah mastitis subklinis periode laktasi ke-1 dengan bulan

laktasi ke-3 dan ke-4, ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) dan povidone iodine.

Rancangan penelitian penelitian ini menggunakan 16 ekor sapi positif mastitis subklinis yang diperoleh melalui uji CMT. Penentuan konsentrasi terdiri dari dua jenis antiseptik yaitu konsentrasi povidone iodine sebanyak 5% (K+) dan ekstrak daun belimbing wuluh 1% (K1), 3% (K3) dan 5% penelitian dilakukan selama sembilan hari dengan melakukan teat dipping setiap pagi dan sore setelah pemerahan. Pengambilan sampel susu dilakukan pada hari sebeluh perlakuan dipping (H0), hari ke-3 perlakuan dipping (H3), hari ke-6 perlakuan dipping (H6) dan hari ke-9 perlakuan dipping (H9).

Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan ethanol 70%. Pembuatan larutan teat dipping dengan empat tingkat konsentrasi yaitu povidone iodine 5% (K+), ekstrak belimbing wuluh 1%, 3% dan 5%. Masing-masing tingkat konsentrasi diencerkan dengan aquades sesuai tingkat konsentrasi masing-masing menjadi 100 ml cairan dipping.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan data pada Tabel 1. diketahui bahwa tidak terdapat interaksi nyata ($P > 0,05$) antara perlakuan konsentrasi dengan lamanya waktu perlakuan teat dipping. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan efektivitas ekstrak daun

Perhitungan total bakteri dilakukan dilakukan berdasarkan SNI (2008). Dengan rumus perhitungan total bakteri sebagai berikut :

$$\text{Total bakteri} = \sum \text{koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Pengujian jamur yang dilakukan dengan mengambil data jumlah kapang dan khamir (yeast and mold) memiliki prinsip uji angka kapang dan khamir pada makanan dan minuman sesuai metode analisis mikrobiologi (MA PPOM 62/MIK/06). Dengan rumus perhitungan jamur sebagai berikut :

$$\text{Total jamur} = \sum \text{koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap Pola Split-Plot in Time yang dilakukan uji statistik dengan menggunakan analisis ragam / ANOVA (Analysis of Variance) dan dilakukan uji lanjut wilayah berganda duncan. Pengujian statistik dengan melakukan transformasi pada data dengan tujuan mengubah skala pengukuran data asli menjadi bentuk lain sehingga data dapat memenuhi asumsi-asumsi yang mendasari analisis ragam.

belimbing wuluh dengan povidone iodine dalam menghambat penurunan bakteri pada susu, hal ini terlihat pada nilai rata-rata akhir jumlah bakteri pada masing-masing perlakuan yaitu K+ (16.296x10³ cfu/ml), K1 (4.419x10³ cfu/ml), K3 (6.665x10³ cfu/ml) dan K5 (1.169x10³ cfu/ml).

Tabel 1. Rataan total bakteri susu akibat dipping pada berbagai konsentrasi.

Perlakuan	Hari				Rata-rata
	H0	H3	H6	H9	
	-----(1×10^3 cfu/ml)-----				
K+	55.375	9.300	480	30	16.296
K1	10.850	6.370	391	68	4.419
K3	15.125	10.937	549	49	6.665
K5	3.800	692	146	37	1.169
Rata-rata	21.287 ^A	6.825 ^B	391 ^C	46 ^D	-

Sumber : Olah data 2016

Keterangan : Superskrip A, B, C dan D yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama pengamatan teat dipping berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap penurunan jumlah bakteri. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan nilai rata-rata bakteri pada pengambilan sampel pertama (H0) sampai pengambilan sampel terakhir (H9) dengan nilai rata-rata berturut-turut adalah 21.287×10^3 cfu/ml (H0) menjadi 6.825×10^3 cfu/ml (H3). Kemudian berkurang menjadi 391×10^3 cfu/ml pada hari ke-6 (H6). Jumlah rata-rata akhir menjadi 46×10^3 cfu/ml pada hari ke-9 (H9) dengan total presentasi penurunan sebesar 99,78%. Hasil penurunan bakteri ini menunjukkan adanya penurunan akibat perlakuan dipping yang dilakukan selama 9 hari. Seperti yang dilakukan oleh Kencanawati et al. (2015) dalam penelitian dengan lama waktu teat dipping yang dilakukan selama 1 bulan berbahan iodosfor dengan kandungan senyawa yang berperan sebagai antiseptik sehingga mampu membunuh bakteri dengan penggunaan secara berkala. Sedangkan pada penelitian ini terjadi penurunan bakteri dengan waktu yang lebih singkat yaitu 9 hari dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya yaitu 1 bulan dimana senyawa yang terkandung pada cairan dipping memiliki peran yang sama sebagai antiseptik.

Hasil penelitian menunjukkan angka penurunan total bakteri pada hari ke-0 sampai dengan hari ke-9. Pada hasil analisis diketahui jumlah bakteri sebelum dilakukan teat dipping menunjukkan angka di atas SNI yaitu pada 21.287×10^3 CFU/ml dan menurun pada hari ke-3 (H3) tetapi masih berada di atas nilai ambang batas yaitu 6.825×10^3 CFU/ml. Kemudian menurun sampai pada nilai dibawah standar cemaran bakteri yaitu hari ke-6 (H6) dan ke-9 (H9) berturut-turut adalah 391×10^3 cfu/ml dan 46×10^6 cfu/ml. Hasil akhir rata-rata jumlah bakteri pada hari terakhir penelitian menunjukkan angka cemaran bakteri dibawah standar yang ditentukan yaitu Syarat mutu susu segar yang baik menurut BPOM (2008) dan SNI (2011) tentang cemaran TPC maksimum adalah 1×10^6 cfu/ml. Penurunan jumlah bakteri setiap pengambilan sampel menunjukkan adanya kinerja dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun belimbing wuluh. Pada penelitian sebelumnya, pemanfaatan daun belimbing wuluh pada manusia ataupun

hewan ternak lain telah dibuktikan bahwa daun belimbing wuluh menurut Ummah (2010) dan Mukhlisoh (2010) secara laboratorium mempunyai potensi sebagai antimikroba. Pendit et al. (2016) yang meneliti tentang aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan rasio bahan:pelarut (1:5) menunjukkan penurunan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 13,13 mm dan *Escherichia coli* sebesar 8,69 mm.

Safangat et al. (2013) pada penelitiannya mengenai teat dipping pada puting sapi perah menyatakan bahwa perlakuan teat dipping dapat menekan jumlah total bakteri, selain itu dengan adanya dipping dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas susu sapi FH dalam jangka waktu yang panjang. Menurut pendapat Ramaliyus (2014) flavonoid berperan untuk melindungi struktur sel, meningkatkan aktivitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik. Sedangkan menurut Lamb (2005) flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Prawira et al. (2013) menyatakan bahwa saponin dapat menekan pertumbuhan dari bakteri karena senyawa tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan dapat mengakibatkan lisis atau pecahnya dinding sel jika terjadi interaksi sehingga dapat mengakibatkan matinya bakterti. Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan masuk dengan mudah kedalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadi kematian pada bakteri (Karlina et al., 2013). Ditambahkan oleh Maliana et al. (2013) bahwa tanin berperan dalam mengerutkan dinding sel bakteri yang dapat mengganggu permeabilitas sel sehingga aktifitas hidup tidak dapat dilakukan sehingga sel akan terhambat pertumbuhannya.

Penelitian penggunaan antiseptik berbahan povidone iodine sebagai kontrol positif dalam penelitian dan antiseptik berbahan herbal dari ekstrak daun belimbing wuluh dengan tiga konsentrasi berbeda untuk membandingkan kinerja antiseptik sintesis dan antiseptik herbal. Hasil penelitian penggunaan antiseptik sintesis berbahan povidone iodine dan antiseptik herbal

berbahan ekstrak daun belimbing wuluh dengan berbagai konsentrasi berbeda tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) dalam penurunan jumlah bakteri karena hasil analisis menunjukkan tidak berbeda nyata. Sehingga ekstrak daun belimbing wuluh berpotensi untuk digunakan sebagai alternatif antiseptik untuk dipping puting. Presentase kemampuan masing-masing konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh dalam penurunan jumlah bakteri berturut turut adalah 98,66% (K1), 98,73% (K3) dan 98,93% (K5) sama besarnya dengan kemampuan povidone iodine (K+) dalam

menurunkan jumlah bakteri yaitu 99,85%.

Pada hasil analisis cemaran jumlah jamur pada susu menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata ($P>0,05$) pemberian ekstrak daun belimbing wuluh melalui teat dipping terhadap penurunan jumlah jamur. Jumlah kapang khamir yang terkandung didalam susu menunjukkan bahwa cemaran kapang khamir belum dapat di kontrol melalui pemberian ekstrak daun belimbing wuluh. Jumlah kapang khamir yang tidak menentu dapat disebabkan oleh reinfeksi pada sapi perah.

Tabel 2. Rataan jumlah Kapang dan Khamir (Yeast and Mold)

Perlakuan	Hari				Rata-rata
	H0	H3	H6	H9	
	------(cfu/ml)-----				
K+	0,00	0,25	1,25	0,25	0,44
K1	1,00	1,00	4,75	1,50	2,06
K3	0,25	0,25	1,00	0,50	0,50
K5	0,25	0,25	1,25	1,00	0,69
Rata-rata	0,37	0,44	2,06	0,81	-

Keterangan: Non Signifikan ($P>0,05$).

Kejadian reinfeksi ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, kandang sapi perah menjadi salah satu faktor penyebab reinfeksi pada sapi perah. Kandang sapi dengan model postal dimana jarak lantai dengan ambing sangatlah dekat. Feses, urine dan sisa pakan yang dihasilkan akan jatuh tepat dibawah tubuh ternak. Pada saat feses, urine dan sisa pakan tidak langsung di bersihkan maka akan terjadi kontak langsung dengan ambing saat ternak merobohkan tubuhnya. Kontak langsung antara ambing dengan feses, urine dan sisa pakan menjadi faktor utama terjadinya reinfeksi. Adanya cemaran jamur yang tidak dapat terkontrol ini dapat memicu munculnya mastitis mikotik. Penyebab mastitis mikotik adalah kebersihan lingkungan kandang, prosedur pemerahan dan kebersihan alat. Selain itu mastitis mikotik terjadi pada ternak perah yang menderita mastitis bakterial. Spanamberg et al. (2008) menyatakan bahwa mastitis biasanya disebabkan oleh bakteri, namun tak jarang juga jamur patogenik (kapang dan khamir) dapat juga menyerang ambing. Pachauri et al. (2013) berpendapat bahwa daerah tropis

cemaran mastitis mikotik yang disebabkan oleh jamur bersifat umum. Pada dasarnya mastitis mikotik bersifat sporadik dan hanya menyerang satu atau beberapa sapi perah dari sekelompok ternak. Ditambahkan oleh Sukumar dan James (2012) yang menyatakan bahwa cemaran jamur disekitar kandang yang kotor dapat masuk kedalam ambing melalui alat perah ataupun alat kesehatan lainnya.

Berdasarkan strukturnya, bakteri dan jamur memiliki susunan yang berbeda. Menurut Campbell et al. (2005) tubuh jamur tersusun oleh sel-sel eukariotik yang memiliki dinding sel dan zat kitin. Zat kitin tersusun atas polisakarida yang mengandung nitrogen, bersifat kuat, tetapi fleksibel. Sel-sel penyusun tubuh jamur makroskopis memanjang membentuk benang yang disebut hifa. Hifa bercabang-cabang membentuk jaringan yang disebut miselium. Miselium menyusun jalinan-jalinan membentuk tubuh buah.

Jamur memiliki bentuk tubuh yang sangat bervariasi, antara lain berbentuk oval, bulat, pipih, bercak-bercak, embun tepung

(mildew), untaian benang seperti kapas, kancing baju, payung, dan mangkok. Sedangkan Fried dan Hademenos. (2006) berpendapat bahwa bakteri tersusun atas beberapa bagian yaitu kapsul, dinding sel, membran plasma, mesosom, sitoplasma, ribosom, DNA, granula, klorosom, vakuola, flagea dan pilus. Perbedaan struktur inilah yang berpengaruh terhadap kinerja senyawa yang terkandung di dalam ekstrak daun belimbing dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Belum diketahui secara pasti faktor yang menyebabkan pertumbuhan jamur tidak dapat dihambat oleh senyawa yang terkandung didalam ekstrak daun belimbing wuluh. Akan tetapi, perbedaan struktur antara bakteri dengan jamur diduga sebagai faktor ketidakmampuan senyawa-senyawa yang terkandung didalam ekstrak daun belimbing wuluh untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan jamur.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian dipping menggunakan ekstrak daun Belimbing Wuluh menunjukkan tidak terdapat interaksi antara perlakuan konsentrasi ekstrak daun Belimbing Wuluh dengan hari pengamatan. Pemberian ekstrak daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) melalui dipping puding dengan berbagai konsentrasi tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Pada taraf 1% penggunaan ekstrak daun Belimbing Wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri sama halnya dengan penggunaan povidone iodine 5%. Ekstrak daun Belimbing Wuluh dapat digunakan sebagai pengganti antiseptik sintetis. Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai penggunaan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) dengan penambahan bahan dengan kandungan senyawa yang dapat menurunkan jumlah cemaran jamur pada susu.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, R.Z. 2012. Mastitis mikotik di Indonesia Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor. 7-8 Juni 2011. Bogor IAARD Press. Badan Litbang Pertanian Kemtan: 403-410.

- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2008. Pengujian Mikrobiologi Pangan. Info POM Edisi Maret. Jakarta.
- Campbell, N. A., J. B. Reece and L. G. Mitchel. Biologi Edisi Kelima-Jilid 2. Erlangga. Jakarta.
- Fried, G. H. and G. J. Hademenos. 2006. Biologi Edisi ke 2. Penerbit erlangga. Jakarta
- Harjanti, D. W., R. J. Yudhonegoro., P. Sambodho dan Nurwantoro. 2016. Evaluasi kualitas susu segar di Kabupaten Klaten (Milk quality evaluation in Klaten Regency). *J. Agromedia* 34 (1) : 8-14.
- Karlina C. Y., M. Ibrahim dan G. Trimulyono. 2013. Aktivitas antibakteri ekstrak herba krokot (*Portulaca oleracea* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *E. J. Unesa Lentera Bio.* 2 (1): 87-93
- Kencanawati, A. P., T.H. Suprayogi dan S.M. Sayuthi. 2015. Total bakteri dan derajat keasaman susu sapi perah akibat perbedaan lama waktu dipping menggunakan larutan iodosfor sebagai desinfektan. *Anim.J. Agr.* 4(1): 127-131.
- Lamb, A. J. And T. P. Cushnie. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrobial Agents* (26): 343-356.
- Maliana, Y., S. Khotimah dan F.S. Diba. 2013. Aktivitas antibakteri kulit *Garcinia mangostana* Linn. terhadap pertumbuhan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* dari *Coptotermes curvignathus* Holmgren. *J. Protabiont* 2 (1): 7-11
- McDonald. 2009. Mastitis in Cow.. A McDonald Campus of McGill University. Faculty of Agricultural and Environmental Sciences. Dairy Cattle Production, Departemen of Animal Sciences ppp. 1-12.
- Mukhlisoh, W. 2010. Pengaruh Ekstrak Tunggal dan Gabungan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn.) terhadap Efektivitas Antibakteri Secara In Vitro. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang. (Skripsi).

- Pachauri, S., P. Varshney., S. K. Dash and M. K. Gupta. 2013. Involment of fungal spesies in bovine mastitis in and around Mathura India. *J. Vet. World* 6(7): 393-395.
- Pendit, P. A. C. D., E. Zubaidah dan F. H. Sriherfyna. 2016. Karakteristik fisik-kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn). *J. Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 400-409.
- Prawira, M., Sarwiyono dan P. Surjowardojo. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntinga calabura* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Penyakit Mastitis pada Sapi Perah. Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang. (Skripsi)
- Ramayulis, Rita. 2014. *Detox is Easy*. Penebar Swadaya, Jakarta
- Septiani, M. dan Y. Drastini. 2014. Jumlah total bakteri susu dari koperasi susu di Yogyakarta dan Jawa Timur. *J. Sci. Vet.* 32 (1): 068-077
- SNI. 2011. *Susu segar-Bagian 1: Sapi*, BSN, Jakarta.
- Spanamberg, A., E.A. Wunder, D.I.B. Pereira, J. Argentina, E.M.C Sanches, P. Valente and L. Ferreiro. 2008. Mastitis in Southern Brazil Diversity of yeasts from bovine. *Rev. Iberoam Micol.* 25: 154-156.
- Sukumar, K. and P. C. James. 2012. Incidence of Fungal Mastitis in Cattle. *Tamilnadu. J. Vet. Anim. Sci.* 8(6): 356-359.
- Ummah, M, K. 2010. Ekstraksi Dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (Kajian Variasi Pelarut). Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang. (Skripsi)
- Wijayakusuma, H. 2006. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Darah Tinggi*. Jakarta: Penebar Swadaya.