

## **Gambaran Histopatologi, Kadar Kadmium Limpa dan Paru-Paru Sapi Bali yang Dipotong di Tempat Pemotongan Hewan Tradisional**

*(HISTHOPATHOLOGY, CADMIUM LEVELS OF SPLEEN AND LUNGS OF THE BALI CATTLE THAT WERE SLAUGHTERED IN THE TRADITIONAL ABATTOIR)*

**Ni Luh Putu Nadia Apsari<sup>1</sup>,  
I Ketut Berata<sup>2</sup>, I Wayan Sudira<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan,

<sup>2</sup>Laboratorium Patologi Veteriner,

<sup>3</sup>Laboratorium Fisiologi, Farmakologi dan Farmasi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia 80234;

Telp/Fax (0361)223791,

e-mail: [apsariinadia09@gmail.com](mailto:apsariinadia09@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Kebutuhan daging sapi di Indonesia kian meningkat, sehingga dalam pemeliharaannya diberikan pakan dengan nutrisi yang cukup. Sapi bali yang dipelihara secara sembarangan tidak menutup kemungkinan akan mengonsumsi pakan yang tidak wajar dan mengandung logam berat seperti kadmium (Cd). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar logam berat Cd dan gambaran histopatologi pada limpa dan paru-paru sapi bali yang dicurigai mengandung logam berat Cd, yang dipotong di tempat pemotongan hewan tradisional. Sampel yang digunakan adalah dua bagian limpa dan dua bagian paru-paru dari 10 ekor sapi bali yang dipotong di tempat pemotongan hewan tradisional. Satu bagian dari masing-masing sampel digunakan untuk membuat preparat histopatologi dengan teknik *paraffin embedded block* dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin, bagian lainnya digunakan untuk pemeriksaan kadar Cd dengan teknik AAS (*Atomic Absorption Spectrofotometric*). Hasil pemeriksaan kadar logam berat Cd kedua organ sangat bervariasi. Kadar rata-rata pada limpa adalah 10,81 ppm, pada paru-paru 2,7 ppm. Perubahan histopatologi limpa ditemukan adanya deplesi dan proliferasi, sedangkan pada paru-paru ditemukan adanya kongesti dan infiltrasi sel radang bersifat fokal-multifokal. Kadar logam berat Cd merupakan pemicu radikal bebas (ROS) dapat menyebabkan rusaknya jaringan, akan tetapi dari hasil penelitian ada kemungkinan perubahan histopatologi dikarenakan faktor lain. Hal tersebut berbahaya bagi konsumen, dan dihindari kepada konsumen untuk berhati-hati dan selektif dalam memilih produk asal sapi bali. Simpulannya adalah kadar rata-rata Cd pada limpa sebanyak 10,81 ppm lebih tinggi dari paru-paru yaitu sebanyak 2,7 ppm. Perubahan histopatologi pada limpa yang tercemar Cd yaitu deplesi dan proliferasi, sedangkan pada paru-paru yaitu kongesti dan infiltrasi sel radang bersifat fokal-multifokal.

Kata-kata kunci: histopatologi; kadmium; limpa; paru-paru; sapi bali; tempat pemotongan hewan tradisional

### **ABSTRACT**

The need for beef in Indonesia is increasing, so that in its maintenance it is given adequate nutrition. Bali cattle that are raised carelessly do not rule out eating unnatural feed and contain heavy metals such as cadmium (Cd). This study aims to determine the levels of heavy metal Cd and the histopathological features of the spleen and lungs of bali cattle suspected of containing heavy metal Cd, which were slaughtered at traditional abattoir. The samples used were two parts of the spleen and two

parts of the lungs of 10 Balinese cows which were slaughtered in traditional slaughterhouses. One part of each sample was used to make histopathological preparations with the paraffin embedded block technique and the Haematoxylin-Eosin staining, the other part was used for the examination of Cd levels using the AAS (Atomic Absorption Spectrophotometric) technique. The results of the examination of Cd heavy metal levels in the two organs varied widely. The average level in the spleen was 10.81 ppm, in the lungs 2.7 ppm. Changes in the histopathology of the spleen were found to be depletion and proliferation, while the lungs were found to have focal-multifocal congestion and inflammatory cell infiltration. The level of heavy metal Cd is a trigger for free radicals (ROS) that can cause tissue damage, however, from the results of the study there is a possibility that histopathological changes are due to other factors. This is dangerous for consumers, and consumers are encouraged to be careful and selective in choosing products from Bali cattle. The conclusion is that the average level of Cd in the spleen was 10.81 ppm higher than the lungs, which was 2.7 ppm. Histopathological changes in the spleen contaminated with Cd are depletion and proliferation, while in the lungs were focal-multifocal congestion and inflammatory cell infiltration.

Keywords: histopathology; cadmium; spleen; lungs; bali cattle; traditional slaughterhouses

## PENDAHULUAN

Kebutuhan daging sapi di Indonesia saat ini dipasok dari tiga pemasok yaitu peternakan rakyat (ternak lokal), industri peternakan rakyat (hasil penggemukan sapi potong *ex-import*) dan impor daging (Oetoro, 1997; Chamdi, 2004). Jenis sapi yang dimanfaatkan dagingnya (sapi potong) ada bermacam-macam, salah satunya adalah sapi bali. Sapi bali merupakan salah satu bangsa sapi asli di Indonesia yang merupakan hasil domestikasi langsung dari banteng liar (Martoyo, 2003). Populasi sapi bali di Indonesia tercatat sebanyak 4.789.521 ekor atau sebesar 32% (14.824.373) dari total populasi sapi potong (Ditjenak, 2011).

Sapi bali merupakan sapi yang paling banyak dipelihara pada peternakan kecil karena fertilitasnya baik dan angka kematian yang rendah (Purwantara *et al.*, 2012). Dalam hal pemeliharaan, sapi bali hendaknya dipelihara ditempat dengan sumber pakan yang baik dan ketersediaan air yang melimpah. Pada kenyataannya, sapi bali yang dipelihara di perkotaan tidak mendapat sumber pakan dan air yang mencukupi, sehingga mereka mencari sumber pakan alternatif yang ada di sekitarnya. Bahkan sapi bali dipelihara di tempat pembuangan akhir atau TPA (Berata *et al.*, 2017).

Dengan keterbatasan lahan penggembalaan, sapi terpaksa memakan bahan-bahan organik yang bercampur dengan bahan anorganik termasuk logam berat. Salah satu jenis logam berat yang membahayakan adalah kadmium. Keracunan Cd dapat mengakibatkan kerusakan jaringan karena logam berat bersifat menimbulkan stress oksidatif pada sel dan jaringan. Manusia yang

mengonsumsi daging sapi yang tercemar Cd dapat menyebabkan gangguan kesehatan seperti fungsi organ ginjal, diare, sakit perut, keretakan tulang, kegagalan reproduktif, kerusakan sistem saraf pusat, kerusakan sistem imunitas, gangguan psikologis dan kerusakan DNA sehingga mengakibatkan kanker (Agustina, 2010).

Limpa dan paru merupakan dua organ *visceral* yang banyak dilaporkan dapat tercemar oleh logam berat Cd. Limpa merupakan organ pertahanan sekunder yang berfungsi untuk memproduksi sel-sel limfosit dan berperan penting dalam menahan agen yang berhasil mencapai sirkulasi darah guna menahan invansi organisme atau toksin sebelum menyebar lebih luas (Etriwati *et al.*, 2017). Jika limpa terpapar oleh logam berat, dapat menyebabkan imunotoksisitas yang persisten (Gwani dan Tyokumbur, 2019). Karena limpa dan paru merupakan bahan pangan bagi masyarakat Indonesia, maka penelitian ini bertujuan meneliti adanya cemaran logam Cd pada organ tersebut.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian observasional-eksploratif dengan rancangan *cross-sectional study*. Objek dari penelitian ini berupa organ limpa dan paru-paru sapi Bali yang dipotong di salah satu abattoir atau tempat pemotongan hewan tradisional. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan metode penarikan contoh acak sederhana (*simple random sampling*), yaitu masing-masing jaringan limpa dan paru dari 10 ekor sapi Bali. Variabel yang diukur pada penelitian ini adalah kadar logam berat kadmium dengan satuan *part per million* (ppm) pada organ limpa dan paru sapi Bali. Gambaran histopatologi limpa dan paru-paru diukur berdasarkan perubahan histologi berupa deplesi, dan proliferasi sel-sel limfoid, serta peradangan, dan kongesti. Sampel histopatologi organ limpa dan paru-paru sapi Bali diperoleh dari Tempat Pemotongan Hewan Tradisional Desa Darmasaba, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung. Data hasil pengukuran kadar logam berat kadmium dan histopatologi limpa dianalisis secara deskriptif kuantitatif, sedangkan data non-parametrik histopatologi paru dianalisis dengan uji *Mann-Whitney*.

Sampel masing-masing jaringan dibagi atas dua bagian yaitu sebagian untuk dibuat preparat histopatologi dan sebagian lagi untuk pemeriksaan kadar logam berat Cd. Pemeriksaan kadar Cd pada limpa dan paru dilakukan dengan teknik *Atomic Absorption Spectrofotometric*

(AAS). Jaringan diambil sebanyak 10 g dari masing-masing sampel (Sikiric *et al.*, 2003). Pembacaan preparat dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer serapan *atom graphite furnace* pada panjang gelombang 288,3 nm untuk logam Cd.

Pembuatan preparat histopatologi limpa dan paru sesuai dengan metode Kiernan (2015). Jaringan difiksasi dengan merendam organ ke dalam larutan *Buffer Neutral Formalin 10%* selama 24-48 jam pada suhu kamar. Jaringan kemudian diiris dengan ukuran 1 x 1 x 1 cm agar dapat dimasukkan ke dalam kotak untuk diproses dalam *tissue processor*. Tahap selanjutnya adalah dehidrasi dengan merendam sediaan ke dalam alkohol secara berturut-turut dengan konsentrasi alkohol 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I, alkohol absolut II, selanjutnya *clearing* untuk membersihkan sisa alkohol dari jaringan. Setelah dibersihkan, jaringan siap untuk dimasukkan ke dalam blok parafin.

Langkah berikutnya adalah *embedding* dan *blocking*. Organ ditanam pada blok parafin yang telah disediakan kemudian disimpan dalam lemari es selama 24 jam. Blok-blok parafin tersebut kemudian dipotong (*cutting*) dengan menggunakan mikrotom. Jaringan yang terpotong selanjutnya diapungkan dalam *water bath* dengan suhu 60<sup>0</sup>C untuk menghindari terjadi lipatan irisan jaringan setelah pemotongan. Sediaan dipindahkan ke *object glass*. Selanjutnya dikeringkan dalam suhu kamar 26-27<sup>0</sup>C. Proses selanjutnya adalah pewarnaan sediaan jaringan dengan metode Haris Hematoksilin-Eosin (HE). Prosedur pewarnaan meliputi tahap deparafinasi yaitu merendam preparat diatas gelas objek dalam *xylol* bertingkat I-III masing-masing selama lima menit.

Setelah itu dehidrasi dengan tujuan untuk memberikan air pada jaringan yaitu dengan cara merendam preparat dalam larutan alkohol absolut lalu dipindahkan ke larutan alkohol 95% dengan durasi masing-masing lima menit. Lalu dibilas dengan air mengalir selama satu menit. Preparat kemudian direndam dalam larutan Harris Hematoksilin selama 15 menit. Celupkan ke dalam aquades selama satu menit dengan cara mengangkat dan menurunkan, selanjutnya celupkan ke dalam campuran asam-alkohol 1% secara lima hingga tujuh celupan. Lalu bilas dalam aquades selama satu menit dan bilas kembali dengan aquades selama 15 menit. Celup sebanyak tiga hingga lima kali dalam larutan lithium karbonat selama 15-30 detik hingga potongan berwarna biru cerah dan kemudian cuci dengan air mengalir selama 15 menit. Preparat kemudian direndam dalam eosin selama dua hingga tiga menit. Berikutnya dilakukan tahapan

dehidrasi dengan memasukkan preparat dalam alkohol bertingkat dari 80%, 90% dan 95% hingga alkohol absolut I-III.

Selanjutnya dilakukan *clearing* yaitu dengan memasukkan preparat pada *xylol* I-II dan dikeringkan. Selanjutnya dilakukan proses *mounting* yaitu penutupan preparat dengan *cover glass* dengan menggunakan *permount* sebagai perekat. Selanjutnya sediaan histopatologi diamati dibawah mikroskop.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan kadar logam berat Cd dan perubahan histopatologi pada limpa sapi bali disajikan dalam Tabel 1, serta hasil pemeriksaan kadar logam berat Cd dan skoring perubahan histopatologi pada paru disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 1. Kadar logam berat kadmium dan perubahan histopatologi pada limpa sapi bali

No.	Kadar Cd (ppm)	SNI* (ppm)	Tingkat Perubahan Histopatologi	
			Depleksi	Proliferasi
1	19,31	0,5	+	-
2	0	0,5	+	-
3	10,34	0,5	+	-
4	12,05	0,5	-	+
5	0	0,5	+	-
6	0	0,5	+	-
7	0	0,5	-	+
8	0	0,5	+	-
9	0	0,5	+	-
10	1,53	0,5	+	-

\*Standar Nasional Indonesia (SNI) 7387:2009

Struktur histologi pada limpa sapi bali tersusun atas kapsula, pulpa putih dan pulpa merah (Setiasih *et al.*, 2011). Pada limpa terdapat empat sampel yang positif mengandung logam berat Cd (Tabel 1) dan ditemukan adanya perubahan histopatologi berupa depleksi dan proliferasi sel-sel limfoid. Pada Tabel 2 menunjukkan terdapat tiga sampel paru yang positif mengandung logam berat Cd dan ditemukan adanya perubahan histopatologi berupa kongesti dan peradangan. Hasil pemeriksaan organ paru-paru diskoring berdasarkan tingkat keparahannya, dan diperoleh data seperti tersaji pada Tabel 2. Data tersebut di uji dengan uji statistika non-parametrik *Mann-*

Whitney. Hasil uji statistika non-parametrik *Mann-Whitney* menunjukkan hasil tidak ada perbedaan yang signifikan ( $P>0,05$ ) sesuai dalam Tabel 3.

Dari hasil pemeriksaan 10 sampel organ limpa dan paru sapi bali yang dipotong di tempat pemotongan hewan tradisional, tampak organ limpa lebih banyak terpapar logam berat dari pada paru-paru. Dari aspek kadarnya juga limpa lebih tinggi dari pada di paru. Hal ini sesuai dengan laporan penelitian Berata *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa tempat akumulasi logam berat umumnya di organ pembentukan eritrosit (*eritropoiesis*).

Tabel 2. Kadar logam berat kadmium dan skoring perubahan histopatologi pada paru-paru sapi bali

No.	Kadar Cd (ppm)	SNI* (ppm)	Tingkat Perubahan Histopatologi	
			Kongesti	Peradangan
1	0	0,5	2	2
2	0	0,5	0	2
3	1,65	0,5	2	1
4	3,04	0,5	2	2
5	0	0,5	0	1
6	0	0,5	2	1
7	0	0,5	2	1
8	0	0,5	1	2
9	0	0,5	1	1
10	2,98	0,5	0	0

Keterangan : 0 = tidak ada lesi, 1 = lesi fokal, 2 = lesi multifokal, 3 = lesi difusa

Tabel 3. Nilai rata-rata skoring perubahan histopatologi pada sampel paru yang positif dan negatif logam berat kadmium

Kadar Cd	Kongesti	Sig	Peradangan	Sig
-	1,43 <sup>a</sup>	0,45	1,14 <sup>a</sup>	0,72
+	1,00 <sup>a</sup>		1,33 <sup>a</sup>	

Keterangan:

\* (-) : Sampel sapi yang tidak mengandung logam berat Cd

(+) : Sampel sapi yang mengandung logam berat Cd

\*\*Huruf superskrip sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata ( $P>0,05$ ) antar kelompok sampel

Kadmium merupakan salah satu jenis logam berat yang berbahaya karena elemen ini beresiko tinggi terhadap pembuluh darah, oleh sebab itu organ-organ eritropoiesis perlu diperiksa lebih detail terhadap cemaran logam berat jika akan mengonsumsinya. Berdasarkan data tersebut, kandungan logam berat Cd pada organ limpa dan paru telah melampaui ambang batas maksimum cemaran logam berat dalam pangan yang telah ditetapkan. Menurut Sandar

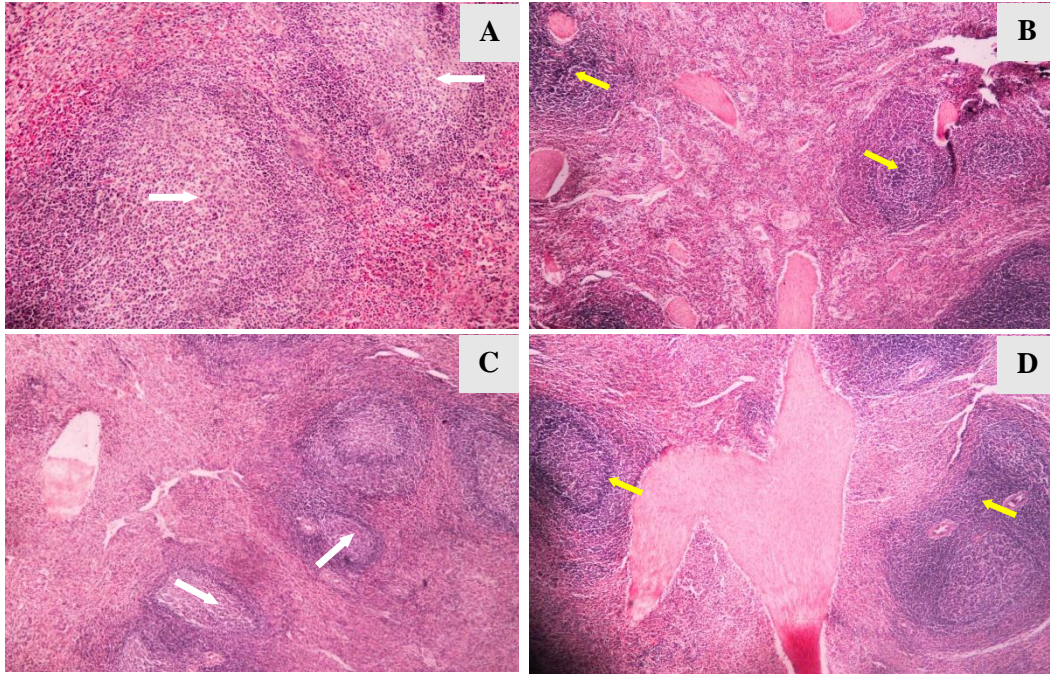
Nasional Indonesia (SNI) tahun 2009, kadar cemaran logam berat pada pangan khususnya jeroan yang diperbolehkan adalah sebesar 0,5 ppm (BSN, 2009). Hal tersebut jelaslah berbahaya, karena akumulasi logam berat Cd pada tubuh sapi bali yang melebihi ambang batas maksimum menyebabkan sapi tersebut baik daging maupun jeroannya tidak layak untuk dikonsumsi oleh manusia. Hal ini menyebabkan intoksikasi baik bersifat akut maupun kronis (Chakraborty dan Dutta, 2013).

Kandungan logam berat Cd yang terakumulasi pada tubuh sapi bali yang dipotong di tempat pemotongan hewan tradisional ini disebabkan karena asal sapi bali tidaklah diketahui. Pemilik tempat pemotongan hewan tradisional tersebut hanya membeli sapi pada pengepul ataupun membeli di pasar hewan, sehingga kesehatan dari sapi bali ini tidak diketahui secara pasti. Bagi pengusaha pemotongan sapi, sebelum membeli sapi perlu dilakukan penelusuran tempat sapi dipelihara atau bentuk pakan yang diberikan. Karena sapi bali yang dipelihara ditempat pembuangan sampah terutama di perkotaan seperti Kota Denpasar, terbukti telah terpapar oleh logam berat Pb maupun Cd (Berata *et al.*, 2017).

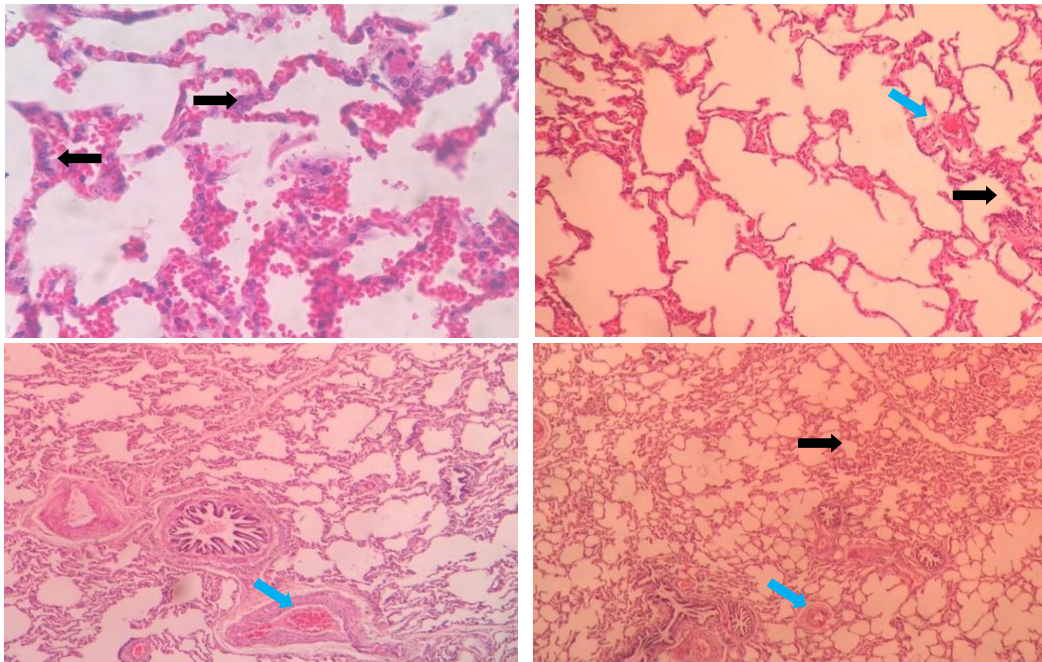
Hasil pemeriksaan histopatologi limpa menunjukkan adanya perubahan deplesi yang lebih banyak dari pada proliferasi sel-sel limfoid. Dari empat limpa yang terpapar logam berat Cd, tampak tiga diantaranya mengalami deplesi dan satu mengalami proliferasi sel-sel limfoid (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa sel-sel limfoid mengalami kerusakan akibat paparan logam berat Cd. Logam berat umumnya bersifat radikal bebas atau sebagai *reactive oxygen species* (ROS), sehingga akan merusak jaringan terutama jaringan *eritropoiesis* (Draszawka – Bołzan, 2014). Monisha *et al.* (2014) menyatakan bahwa stres oksidatif pada sel terjadi apabila terdapat radikal bebas yang tinggi. Faktor lain penyebab stres oksidatif adalah peroksidasi lipid, hal ini terjadi ketika terkumpulnya elektron radikal bebas dari molekul lipid berada dalam membran sel. Deplesi pada limpa terjadi karena kerusakan yang bersifat kronis akibat adanya paparan logam berat Cd menyebabkan sel didalamnya mengalami nekrosis, sedangkan proliferasi sel limfoid adalah proses aktivasi sel melakukan pembelahan secara mitosis yang penyebab pastinya belum diketahui. Pada sampel limpa yang negatif logam berat Cd, ditemukan pula adanya perubahan histopatologi berupa deplesi dan proliferasi. Hal tersebut dikarenakan adanya faktor lain yang belum diketahui seperti adanya infeksi oleh agen biologis.



Gambaran lesi histopatologi yang ditemukan pada limpa dan paru-paru disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2



Gambar 1. Gambaran histopatologi limpa A) dan C) yang menunjukkan perubahan adanya deplesi sel-sel limfoid (panah putih) serta B) dan D) yang menunjukkan proliferasi sel-sel limfoid (panah kuning) (HE 100X)



Gambar 2. Gambaran perubahan histopatologi paru-paru yang menunjukkan adanya kongesti (tanda panah biru), peradangan (tanda panah hitam) (HE 200x)



Perubahan histopatologi paru tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara paru yang terpapar logam berat Cd dengan yang tidak terpapar, baik perubahan berupa kongesti maupun peradangan. Hasil ini menunjukkan bahwa ada faktor lain yang memengaruhi adanya perubahan kongesti maupun peradangan pada paru. Hal ini menunjukkan bahwa paru bukan merupakan organ utama lokasi akumulasi logam berat Cd. Sebagaimana hasil penelitian Berata *et al.* (2017) melaporkan bahwa hati, limpa dan ginjal merupakan lokasi utama akumulasi logam berat, namun adanya paru-paru yang terpapar logam berat Cd dengan kadar yang melebihi ambang batas maksimal yang ditoleransi SNI-2009, maka penting untuk diperhatikan bagi masyarakat Indonesia yang mengonsumsi jeroan paru sapi.

### **SIMPULAN**

Kadar logam berat Cd pada 10 sampel menunjukkan hasil yang positif pada empat limpa dan tiga paru-paru. Perubahan histopatologi pada 40% limpa yang terpapar logam berat Cd kebanyakan mengalami deplesi dan sebagian kecil yang proliferasi, sedangkan perubahan paru ditemukan adanya kongesti dan peradangan.

### **SARAN**

Kepada peternak sapi diperlukan adanya kesadaran dan edukasi untuk tidak memelihara sapi pada lingkungan yang buruk seperti TPA. Disampaikan pula kepada pemilik tempat pemotongan hewan tradisional untuk lebih selektif dalam memilih dan membeli sapi yang hendak disembelih. Kepada masyarakat dihimbau untuk tetap berhati-hati dan selektif dalam memilih daging sapi yang sehat untuk dikonsumsi. Penelitian lanjutan mengenai mekanisme perubahan histopatologi akibat murni oleh paparan logam berat Cd juga sangat diperlukan kedepannya

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih penulis ucapkan kepada pemilik Tempat Pemotongan Hewan Tradisional di Desa Darmasaba, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung, Bali, Laboratorium Analitik Universitas Udayana, Laboratorium Patologi Veteriner dan Laboratorium Fisiologi, Farmakologi

dan Farmasi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, serta seluruh pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Agustina T. 2010. Kontaminasi Logam Berat pada Makanan dan Dampaknya pada Kesehatan, *Teknubuga*. 2:53-65.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2009. Standar Nasional Indonesia (SNI) 7387-2009 tentang Batas Maksimum Cemar Logam Berat dalam Pangan. 1-25.
- Berata IK, Susari NNW, Kardena IM, Winaya IBO, Manuaba IBP. 2017. Comparison of lead contamination in innards and muscle tissues of Bali cattle reared in Suwung Landfill. *Bali Med.J.* 6(1): 147-149.
- Chakraborty S, Dutta AR. 2013. Ailing Bones and Failing Kidneys: A Case of Chronic Cadmium Toxicity. *Ann Clin Biochem.* 50(5): 492-495.
- Chamdi AN. 2005. Karakteristik Sumberdaya Genetik Ternak Sapi bali (*Bos- bibos banteng*) dan Alternatif Pola Konservasinya. *Biodiversitas.* 6(1): 70-75.
- Ditjennak Direktorat Jendral Peternakan. 2011. Buku Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta. Departemen Pertanian
- Draszawka - Bołzan B. 2014. Effect of Heavy Metals on Living Organisms. *World Scientific News.* 5: 26-34.
- Etriwati, Ratih D, Handharyani E, Setiyaningsih S. 2017. Studi Histopatologi Limpa Dan Bursa Fabricious Ayam Berpenyakit Tetelo (*Newcastle Disease*) Pada Kasus Lapang. *Jurnal Veteriner.* 18(4): 510-515.
- Gwani HFL, Tyokumbur ET. 2019. Appraisal of Heavy Metals (Lead and Cadmium) in the Muscle and Internal Organs of Cattle Slaughtered in Ibadan. *American Journal of Zoology.* 2(1): 1-5.
- Kiernan JA. 2015. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. 5<sup>th</sup>. edition, *Banbury, United King. Scion Publishing.* pp: 330-334
- Martojo H. 2003. A Simple Selection Program for Smallholder Bali Cattle Farmers. Dlm : Strategies to Improve Bali Cattle in Eastern Indonesia. Entwistle K, Lindsay DR (Eds). *Canberra ACIAR Proc. No. 110.*
- Monisha J, Tenzin T, Naresh A, Blessy BM, Krishnamurthy NB. 2014. Toxicity, Mechanism and Health Effects of Some Heavy Metals. *Interdiscip Toxicol.* 7(2): 60-72.
- Oetoro. 1997. Peluang dan tantangan pengembangan sapi potong. Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Bogor.
- Purwantara B, Noor RR, Andersson G, Rodriguez-Martinez H. 2012. Banteng and Bali Cattle in Indonesia: Status and Forecasts. *Reprod Dom Anim.* 47 (Suppl. 1): 2- 6.
- Setiasih NLE, Suwiti NK, Suastika, Piraksa IW, Susari, WNN. 2011. Studi Histologi Limpa Sapi bali. *Buletin Veteriner Udayana.* 3(1): 9-15.
- Sikiric M, Brajenovic N, Pavlovic I, Havranek JL, Plavljanic N. 2003. Determination of metals in cow's milk by flame atomic absorption spectrophotometry. *Czech J.Anim. Sci.* 48(11): 481-486.