

KERACUNAN NITRAT-NITRIT PADA SAPI DI BALAI PEMBIBITAN TERNAK UNGGUL SAPI POTONG (BPTUSP) PADANG MANGATAS DAN UPT PTU DISNAK DAN KESWAN RIAU

Katamtama, Helmi, Sofina latief, Sri Wilyani, Herman, Azfirman

ABSTRAK

Telah terjadi kematian secara akut pada 2 ekor sapi dari 44 ekor yang baru datang dari Australia, yang sebelumnya sapi tersebut dalam keadaan sehat, segar-bugar. Gejala yang timbul adalah sesak nafas, temperatur lebih 41°C, hipersalivasi, tremor, inkoordinasi kemudian roboh dan mati. Seekor sapi yang lain juga mengalami kematian yang didahului dengan keguguran terlebih dahulu, tampak gejala sampai mati tidak lebih dari 6 jam. Sebelum mati, sapi sempat ditreatmen dengan analgesik, anti spasmodik, dan antibiotik. Kematian secara akut yang serupa terjadi pada 3 ekor sapi Bali dari 26 ekor di UPT PTU Salo milik Disnak dan Keswan Provinsi Riau, sapi mati tidak lebih dari satu jam dari gejala.

Paparan Nitrat – Nitrit dalam pakan hijauan diduga menjadi sebab kematian sapi dari BPTU Padang Mangatas, dan juga UPT PTU Disnak dan Keswan Riau. Pengujian yang dilakukan dengan menguji Hijauan dari areal penggembalaan BPTU padang mangatas dengan Diphenilamine (DPA), dibandingkan dengan hijauan yang berada di BPPV. Begitu pula sampel dari UPT PTU Riau diuji pada isi rumen dan isi saliva.

Hasil pengujian pada hijauan BPTU Padang Mangatas, serta isi rumen dan saliva sapi dari UPT PTU Riau diperoleh hasil positif mengandung nitrat nitrit. Hasil uji DPA membentuk warna biru sedangkan hasil pemeriksaan hijauan dari BPPV membentuk warna kuning. Keracunan nitrat nitrit pada ternak ruminansia biasanya terjadi karena kesalahan dalam pemupukan hijauan.

I. PENDAHULUAN

Telah terjadi kematian sapi Simetal pada tanggal 19 januari 2011 di Balai Pembibitan Ternak Unggul (BPTU) Padang Mangatas yang berlokasi di Desa Mungo, Kecamatan Luak, Kabupaten Lima Puluh Kota, Propinsi Sumatera Barat. Jenis kelamin sapi yang mati adalah betina. Gejala klinis sebelum kematian sapi berupa sesak napas, temperatur tubuh melebihi 41°C, hipersalivasi, tremor, inkoordinasi, roboh dan mati sesaat kemudian. Beberapa hari sebelumnya (tanggal 17 januari 2011) sapi melahirkan secara prematur (retensio secundinae). Selama sapi menunjukkan gejala sakit, sapi sempat di terapi dengan antibiotik, analgesik dan antispasmodik. Dalam pemeliharaannya, sapi diberi makan hijauan dan konsentrat.

Pada tanggal 30 januari 2011 terjadi lagi kematian sapi dengan gejala yang kurang lebih sama. Sapi pada

padang penggembalaan yang sama mulai menunjukkan gejala klinis yang sama. Sapi juga sempat diterapi dengan analgesik dan antispasmodik. Jadi total kematian sapi sebanyak 2 ekor dari 44 ekor sapi. Ke 44 ekor sapi tersebut merupakan sapi yang baru saja didatangkan dari Australia.

Kedua sapi yang mati dari BPTU Padang Mangatas dinekropsi. Organ serta isi rumennya dikirim untuk diperiksa di BPPV regional II Bukittinggi. Selain itu, BPTU Padang Mangatas juga mengirimkan sampel dari hijauan dan konsentrat.

Kejadian kematian yang sangat akut juga terjadi pada sapi Bali milik UPT PTU Salo milik Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Propinsi Riau. Sapi Bali umur 2 tahun, jenis kelamin betina, berat 180 Kg tidak menunjukkan gejala sakit sehari sebelum mati. Esok harinya, ketika sapi akan digembalakan

sapi tampak lesu, malas bergerak, nafsu makan hilang, kemudian sapi terbaring, tidak mampu berdiri dan tidak lebih dari satu jam kemudian mati. Jumlah kematian mencapai 3 ekor dari keseluruhan populasi yang mencapai 26 ekor. UPT PTU Riau kemudian mengirimkan sampel ke BPPV reg II Bukittinggi berupa isi rumen dan cairan mulut.

Dugaan penyebab kematian adalah sapi mengalami keracunan. Faktor makanan terutama hijauan diduga kuat sebagai penyebab, khususnya sapi dari BPTU Padang Mangatas. Karena mulai timbulnya gejala sakit terjadi pada lokasi penggembalaan yang sama.

Hijauan merupakan pakan utama bagi ternak ruminansia seperti sapi, kerbau, kambing dan domba. Hijauan dapat berupa rumput ataupun tanaman lainnya. Hijauan ini biasanya tidak akan menimbulkan masalah jika diberikan pada ternak ruminansia. Namun jika salah pemberiannya bisa berakibat fatal pada ternak sapi atau ruminansia lainnya.

Salah satu yang biasanya kurang diperhatikan adalah pemberian hijauan atau rumput yang diambil dari daerah yang baru saja dilakukan pemupukan atau rumput yang baru saja diambil di sekitar tempat pembuangan kotoran ternak. Bahkan kadang-kadang pembuangan kotoran ternak yang kurang terkontrol di area hijauan makanan ternak dengan maksud menyuburkan hijauan, justru menjadi bumerang bagi peternakan itu sendiri. Rumput di daerah ini memang kelihatan lebih hijau, namun mempunyai resiko bahaya untuk ternak sapi. Sudah bukan rahasia lagi, pemupukan menjadi sebuah keharusan jika ingin meningkatkan produksi tanaman. Demikian pula pada budi daya tanaman pakan hijauan ternak sapi seperti rumput Raja, rumput Gajah dan rumput lainnya juga dilakukan pemupukan untuk meningkatkan produksi hijauan (Anonimus, 2011).

Amonium atau kalium nitrat yang diserap oleh akar akan disalurkan ke daun melalui batang. Konsentrasi nitrat dalam tanaman akan meningkat dan mencapai nilai tertinggi pada satu atau dua minggu pertama setelah pemupukan lalu menurun pada minggu ke-tiga. Oleh karena itu waktu yang tepat untuk pemotongan hijauan agar aman dikonsumsi ternak adalah 5 minggu setelah pemupukan, karena produksi N tertinggi dan penimbunan nitrat terendah. Rumput yang dipotong kurang dari 5 minggu setelah pemupukan sebaiknya jangan diberikan pada ternak ruminansia, karena beresiko keracunan nitrat (Anonimus, 2011).

II. MATERI DAN METODE

2.1. Materi

Material yang dikirim ke BPPV regional II, berupa organ, pakan hijauan, isi rumen, dan muntahan / cairan mulut.

2.2. Metode

Untuk organ diperiksa histopatologinya di mikro patologi. Metode yang dilakukan untuk pengamatan histopatologi adalah pewarnaan Hematoxilin-Eosin dan sebagian organ diuji di lab toksikologi. Untuk isi rumen, cairan mulut dan pakan hijauan diuji di laboratorium toksikologi. Untuk pengujian toksikologi dilakukan uji antara lain uji Cyanide, Uji Amonia, Zinc Phosphide (Scheere's test), Uji Nitrat-Nitrit, Uji pH, Uji chlor dan Phosporus. Untuk uji nitrat-nitrit menggunakan metoda DPA:

- Sampel ditambah diphenylamin yang dilarutkan dalam 100 cc asam sulfat pekat menghasilkan warna biru.
- Atau bisa juga menggunakan Nitrat-Nitrit KIT dengan mencelupkan test strip dalam larutan sampel, bila positif akan menghasilkan warna yang konsentrasinya sesuai dengan deret warna dengan variasi konsentrasi yang terdapat pada KIT.

Pada pengujian kasus sapi ini, penulis menggunakan DPA, karena pada saat pengujian, Nitrat-Nitrit KIT belum tersedia di BPPV regional II.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil

Hasil pemeriksaan histopatologi beberapa organ sampel, disajikan pada Tabel 1 dan 2, sedangkan hasil gambaran histopatologi organ paru-paru ginjal dan hati dapat dilihat pada Gambar 1, 2, dan 3.

Selain pengujian histopatologi, juga dilakukan pengujian toksikologi terhadap sampel isi rumen, cairan mulut, organ, konsentrat dan hijauan. Hasil pemeriksaan ditampilkan pada Tabel 3,4,5,dan 6.

Untuk jenis pemeriksaan lainnya juga dilakukan pemeriksaan laboratorium pada sampel rumput yang digunakan sebagai hijauan pakan ternak di BPTU Padang Mangatas. Rumput berbatang tebal ini juga tumbuh di kawasan BPPV regional II Bukittinggi sehingga bisa dijadikan kontrol pemeriksaan rumput. Gambar rumput berbatang tebal dapat dilihat pada Gambar 4.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan histopatologi sampel organ nomor agenda 15.

No	Organ	Hasil pemeriksaan
1	Ginjal	Glomerulus membesar, Bowman space menyempit, fokal nekrosis sel tubuli, infiltrasi sel radang
2.	Paru-paru	Infiltrasi sel radang (makrophag). Alveoli sebagian menyempit dan sebagian melebar sampai pecah
3.	Lien	Sel-sel renggang, deplesi limfosit pada pulpa putih
4.	Hepar	Degenerasi melemak, infiltrasi sel radang (makrophag) interlobularis
5.	Jantung	Multifokal sel radang

Tabel 2. Hasil pemeriksaan histopatologi sampel organ nomor agenda 28.

No	Organ	Hasil pemeriksaan
1	Ginjal	Adanya eritrosit pada interstitial, tubulus dan glumerulus, nekrosis tubulus, infiltrasi sel radang (makrophag) intravaskuler dan ekstrasvaskuler, timbunan eritrosit pada pembuluh darah.
2.	Paru-paru	Infiltrasi sel radang. Alveoli menyempit, akumulasi eritrosit
3.	Lien	Deplesi limfosit pada pulpa putih, eritrosit nampak pada semua bidang pandang
4.	Hepar	Adanya eritrosit diterstitial hepatosit, infiltrasi sel radang (makrophag) intravaskuler dan ekstrasvaskuler
5.	Jantung	Infiltrasi sel radang, pelebaran sinusoid

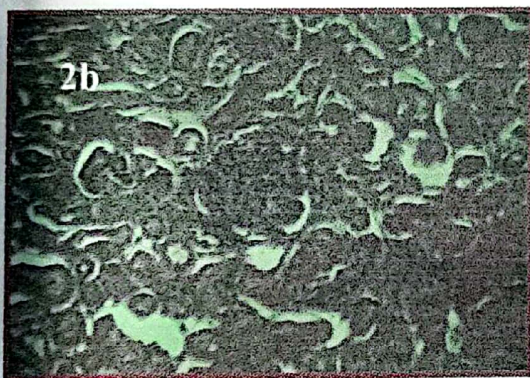


Gambar 1. Gambaran histopatologi paru-paru. Alveoli menyempit dan infiltrasi makrophag intra vaskuler

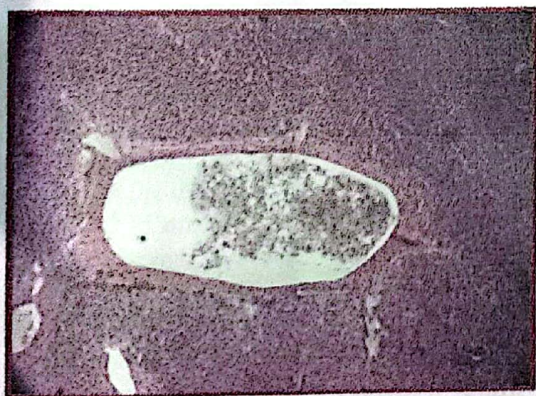
Gambar 2. Gambaran histopatologi ginjal.



Gambar 2a. Pada ginjal tampak adanya eritrosit pada interstitial, tubulus dan glomerulus, nekrosis tubulus, infiltrasi sel radang (makrophag) intravaskuler dan ekstravaskuler, timbunan eritrosit pada pembuluh darah.



Gambar 2b. Glomerulus membesar, bowman space menyempit, fokal nekrosis tubuli disertai infiltrasi sel radang.



Gambar 3. Gambaran histopatologi hati. Terdapat eritrosit di interstitial hepatosit,

infiltrasi sel radang (makrophag) intravaskuler dan ekstravaskuler.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan toksikologi sampel nomor agenda 15.

No	Pengujian	Hasil uji isi rumen
1.	Amonia	200 ppm
2.	Nitrat-nitrit	-
3.	pH isi rumen	6
4.	Chlor	-
5.	Phospor	-
6.	Cyanida	-
7.	Zink Posphit	-

Tabel 4. Hasil pemeriksaan toksikologi sampel nomor agenda 28.

No	Pengujian	Material yang diuji	
		Hasil uji organ	Hasil uji Isi rumen
1.	pH	6	6
2.	Amonia	-	200 ppm
3.	Cyanida	-	-
4.	Chlor	-	+
5.	Nitrat-nitrit	-	-

Tabel 5. Hasil pemeriksaan toksikologi sampel nomor agenda 30.

No	Pengujian	Material yang diuji	
		konsentrat	Hijauan
1.	Amonia	-	-
2.	Nitrat-nitrit	-	+

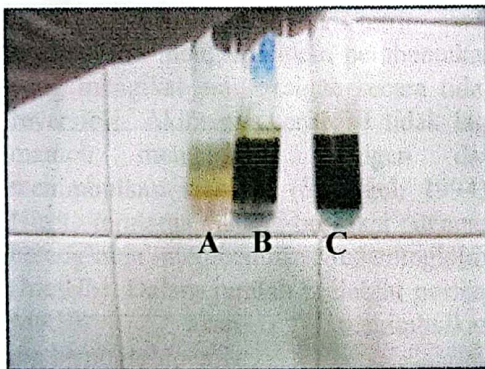
Tabel 6. Hasil pemeriksaan toksikologi sampel dari UPT PTU Disnak dan Keswan Riau, nomor agenda 239.

No	Pengujian	Material yang diuji	
		Cairan mulut	Isi rumen
1.	Amonia	400 ppm	200 ppm
2.	Nitrat-nitrit	+	+
3.	Chlor	-	-
4.	pH	6	5



Gambar 4. Rumput berbatang tebal yang tumbuh di kawasan BPPV regional II Bukittinggi (sebagai kontrol)

Rumput berbatang tebal tersebut kemudian dilakukan pengujian Diphenilamine (DPA) untuk menganalisa kandungan adanya kandungan nitrat. Hasil pengujian DPA ditampilkan pada Gambar 5.



Keterangan :

A : kontrol negatif (rumput BPPV)

B : material dari BPTU

C : kontrol positif

Gambar 5. Gambar hasil pengujian dengan Diphenilamine

3.2. Pembahasan

Pengamatan gejala klinis merupakan tahap awal untuk diagnosa penyakit selain pemeriksaan laboratorium. Keracunan nitrit berkaitan dengan kekurangan

oksigen dalam darah (hipoksia), karena darah tidak mampu berperan sebagai pembawa oksigen. Warna darah berubah dari merah menjadi kecoklatan yang merupakan ciri spesifik dari keracunan nitrit (Jones, 1993). Gejala keracunan nitrit terlihat antara 30 menit sampai 4 jam setelah ternak mengkonsumsi hijauan. Gejala hipoksia pada ternak bunting akan menyebabkan keguguran karena fetus kekurangan oksigen. Pada kasus sapi BPTU Padang Mangatas, terlihat gejala sesak nafas. Gambaran histopatologi cukup mendukung, karena pada bagian alveoli terlihat atelektasis dan emfisema bahkan sampai pecah. Ini satu bukti bahwa paru-paru bekerja keras untuk menangkap oksigen.

Ketidakmampuan paru-paru menangkap oksigen dikarenakan telah terjadi kerusakan pada eritrosit. Kerusakan eritrosit disebabkan karena adanya zat yang bersifat oksidatif (nitrit). Zat yang bersifat oksidatif mampu mengubah Fe^{2+} dalam hemoglobin (Hb) menjadi Fe^{3+} membentuk methaemoglobin (MetHb) dalam darah atau biasa disebut Methemoglobinemia. Keadaan akibat oksidatif dapat terlihat dari adanya hemolisis ekstravaskuler yaitu adanya phagositosis eritrosit yang rusak oleh makrophag. Keadaan lebih parah terlihat jika terjadi hemolisis intravaskuler (M Donald).

Methemoglobin adalah suatu hasil oksidasi hemoglobin yang tidak mempunyai kemampuan lagi untuk mengangkut oksigen. Ini dapat dibuktikan dengan mudah secara elektrofotometri. Banyak zat misalnya amina aromatik atau senyawa nitro aromatik yang dalam organisme direduksi menjadi amina aromatik, sulfonamida, asetamid, asam aminosalisilat, nitrofurantoin, primakuina, kinina atau nitrit, menyebabkan pembentukan methemoglobin dari hemoglobin. Jika methemoglobin dibentuk dalam jumlah kecil, maka

menjadi hemoglobin di dalam eritrosit. Jika sebaliknya pembentukan methemoglobin naik sampai jumlah tertentu proses regenerasi eritrosit tidak cukup dan kemampuan darah untuk transportasi oksigen berkurang dengan nyata (Ariens, 1986).

Pada gambaran histopatologi terlihat adanya eritrosit ekstravaskuler dan munculnya makrophag ekstravaskuler maupun intravaskuler yang cukup banyak (*severe*), merupakan salah satu indikasi terjadinya reaksi oksidatif pada hemoglobin menjadi methemoglobin. Methemoglobin yang terbentuk mengalami ketidakmampuan mengangkut oksigen, sehingga eritrosit yang rusak tersebut di phagosit oleh makrophag.

Meminum minuman yang mengandung nitrat, sayuran yang dipupuk secara berlebihan dapat menyebabkan penyakit karena reduksi nitrat oleh bakteri dalam bahan yang diawetkan atau dalam usus. Reduksi nitrat menjadi nitrit oleh mikroorganisme dan penyerapan nitrit ke dalam darah menyebabkan pembentukan methemoglobin. Pengikat nitrit pada hemoglobin mengakibatkan pembentukan yang mengikat erat oksigen secara tidak reversible. Akibatnya, eritrosit tidak lagi mampu mengangkut oksigen dan menimbulkan sianosis (Schlegel, 1994). Nitrit terutama akan bereaksi dengan hemoglobin membentuk Methemoglobin (MetHb). Dalam jumlah melebihi normal MetHb akan menimbulkan methemoglobinemia.

Gambaran klinis yang terlihat akibat methemoglobin antara lain sakit kepala, kelelahan, pingsan, sianosis, disaritmia, kegagalan peredaran darah dan efek yang progresif dari sistem syaraf pusat bahkan kematian (Depkes RI Ditjen PPM dan PL, 2001).

Diagnosa yang tepat dapat dilakukan pengujian di laboratorium, yaitu dengan menguji hijauan pakan maupun terhadap darah. Metode untuk

menganalisa nitrat antara lain dengan menggunakan Diphenilamine (DPA), pengujian secara kualitatif (Bartik dan Piskac 1981; Bhikane dan Singh 1990), serta Nitrat Kit (semikwalitatif). Analisa nitrit dalam darah dapat menggunakan khromatografi cair kinerja tinggi (Osterloh dan Goldfild 1984).

Dalam pengujian di laboratorium toksikologi BPPV regional II hanya menggunakan pereaksi DPA, yang mana DPA mampu mengubah warna nitrat menjadi warna biru. Sampel isi rumen pada sapi dari BPTU Padang Mangatas diperoleh hasil negatif nitrat tetapi hijauan di areal pengembalaan yang diuji dengan DPA dibandingkan dengan rumput sejenis yang tumbuh di BPPV diperoleh hasil positif nitrat pada hijauan BPTU dan negatif pada hijauan BPPV. Hasil positif nitrat juga diperoleh dari isi saliva dan isi rumen UPT PTU Riau.

Senyawa nitrat merupakan senyawa yang mudah ditemukan di alam seperti pada tanaman dan air. Senyawa ini terdapat dalam tiga bentuk yaitu ion nitrat (ion NO_3), kalium Nitrat (KNO_3), dan nitrogen nitrat ($\text{NO}_3\text{-N}$). Ketiga senyawa ini mempunyai efek yang sama terhadap ternak meski dengan konsentrasi yang berbeda.

Pembuangan kotoran terus menerus dalam tanah tanpa saluran khusus akan meningkatkan kandungan amonia ke dalam tanah. Selanjutnya melalui proses nitrifikasi akan terjadi pembentukan nitrat-nitrit dari amonia dalam tanah yang kemudian diserap oleh tanaman. Bila tanaman yang mengandung nitrat tinggi itu dimakan oleh hewan maka nilai metHb dalam darah akan meningkat sehingga ternak akan keracunan.

Senyawa nitrat tidak toksik terhadap hewan, tetapi konsumsi dengan jumlah berlebihan dapat menyebabkan keracunan. Karena dengan bantuan bakteri rumen, nitrat akan direduksi menjadi nitrit yang 10 kali lebih toksik

dibanding nitrat. Ion nitrit kemudian kontak dengan eritrosit dalam darah maka nitrit akan mengoksidasi Fe^{2+} dalam hemoglobin (Hb) menjadi Fe^{3+} membentuk methaemoglobin (MetHb) dalam darah 30%-40% dapat menimbulkan gejala klinis dan bila kandungannya mencapai 80-90% akan menyebabkan kematian pada ternak. Menurut Robson, beberapa hewan dapat mentolerir met Hb sampai 50% tanpa menimbulkan gejala sakit. Namun bila kandungan MetHb melebihi 80% akan menyebabkan kematian pada hewan.

Nitrat-nitrit yang menyebabkan keracunan pada ternak berasal dari tanaman atau hijauan pakan serta air minum yang tercemar nitrat. Pemberian pupuk yang mengandung amonium nitrat dan kalium nitrat pada tanaman yang memiliki sifat akumulator nitrat, akan meningkatkan kandungan nitrat dalam tanaman tersebut. Kedua jenis pupuk tersebut memiliki efek akumulasi lebih besar dibandingkan pupuk amonium sulfat atau urea (Cassel dan Barao 2000).

Akumulasi nitrat dalam tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor (Oswiler, et al 1985).

1. Spesies tanaman. Lebih dari 60 jenis tanaman mengandung nitrat yang dapat menyebabkan keracunan pada ternak. Beberapa jenis tanaman memiliki sifat akumulator dalam tanaman, seperti jagung, gandum dan shorgum.
2. Kandungan dan bentuk nitrogen dalam tanah. Tanah yang mengandung nitrogen dalam bentuk nitrat atau amonia yang tinggi akan mempercepat penyerapan nitrat oleh tanaman.
3. Kondisi tanah. Keadaan tanah yang lembab dan asam akan mempercepat penyerapan nitrat oleh tanaman, karena nitrat lebih mudah larut dalam air. Penyerapan nitrat juga lebih cepat pada tanah yang memiliki kandungan

molibdenum rendah, kekurangan sulfur atau fosfor, serta suhu rendah ($55^{\circ}F$). Aerasi tanah yang cukup dapat mempercepat proses nitrifikasi sehingga nitrat lebih cepat diserap tanaman.

4. Kurangnya aliran cahaya. Cahaya diperlukan untuk mengatur aktivitas enzim nitrat reduktase untuk mencegah akumulasi nitrat.
5. Penggunaan herbisida. Herbisida phenoxyacetic yang memacu pertumbuhan tanaman akan meningkatkan konsentrasi nitrat mencapai level maksimum dalam 3-5 hari setelah perlakuan herbisida.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

Keracunan nitrat pada hewan disebabkan karena mengkonsumsi hijauan yang mengandung nitrat tinggi (melebihi ambang batas). Kandungan nitrat yang tinggi dalam hijauan disebabkan oleh adanya akumulasi nitrat sebagai efek pemupukan terutama pupuk nitrogen baik pupuk organik maupun yang anorganik.

Pupuk nitrogen di dalam tanah akan diubah menjadi amonia yang oleh bakteri tanah diubah menjadi nitrit, kemudian oleh bakteri tanah diubah lagi menjadi nitrat yang bisa diserap oleh tanaman. Hijauan yang mengandung nitrat tinggi dimakan oleh ternak, sehingga di dalam tubuh ternak, nitrat akan direduksi menjadi nitrit. Nitrit merupakan zat aktif yang bisa mengoksidasi hemoglobin menjadi MetHb, sehingga eritrosit rusak dan tidak mampu mengikat oksigen. Akibatnya ternak mengalami kekurangan oksigen.

4.2. Saran

- Hindarkan pemberian pakan ternak dengan hijauan yang habis dipupuk.
- Hindarkan pemberian hijauan yang diambil dari sekitar tempat pembuangan limbah atau sekitar selokan irigasi untuk pembuangan limbah.
- Waktu yang tepat untuk pemotongan hijauan agar aman dikonsumsi ternak adalah 5 minggu setelah pemupukan, karena produksi N tertinggi dan penimbunan nitrat terendah.

DAFTAR PUSTAKA

Anonimus, 2011. [infonak.blokspot.com/2011/02/ Keracunan Nitrat dari Pakan Hijauan](http://infonak.blokspot.com/2011/02/Keracunan-Nitrat-dari-Pakan-Hijauan)

Ariens, E.J., E. Mutshler, A.M. Simonis. 1986. *Toksikologi Umum (pengantar)*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Cassel K and Barao, 2000. Cause and prevention; Nitrate poisoning of livestock. College of Agriculture and Natural Resource. University of Maryland. [http://www.agnr.umd.edu / MCE/Publications](http://www.agnr.umd.edu/MCE/Publications).

Departemen Kesehatan RI Ditjen PPM dan PL. 2001. Bahan-bahan berbahaya dan dampaknya

terhadap kesehatan Manusia. Departemen Kesehatan RI . Jakarta.

Jones, T.O. 1988. Poison Nitrat/nitrit. In practice

M Donald Mc Gavin and James F. Zachari, *Pathologic Basic of Veterinary Disease*, fourth edition, MOSBY ELSEVIER, by Mosby Inc and affiliate of ELSEVIER Inc.

Osterloh, J and D Goldfield, 1984. Determination of Nitrate and Nitrite ions in Human Plasma by ion exchange-high performance liquid Chromatography.

Oswiler, GD, T.L. Carson, W.B. Buck and G.a. Van Gelder. 1985. Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. Kendall/Hunt beef center.

Schlegel, H.G. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Yuningsih, 2007. Keracunan Nitrat-Nitrit pada ternak Ruminansia Dan Upaya Pencegahannya. Jurnal Litbang Pertanian