

PENGARUH PIRIDOKSIN TERHADAP KADAR
IMMUNOGLOBULIN DNA, DAN RNA PADA
AYAM BROILER

Oleh:
P.Maulim Silitonga, Murniaty Simorangkir dan
Melva Silitonga

A. Pendahuluan

Vitamin B6 atau piridoksin sebagai salah satu kelompok vitamin yang larut dalam air, merupakan vitamin yang sangat penting untuk hewan maupun manusia. Piridoksal fosfat (PLP) sebagai bentuk aktif dari vitamin B6 merupakan koenzim yang serbaguna yang berperan untuk mengkatalisis berbagai reaksi penting dalam metabolisme asam amino dan protein seperti transaminasi, dekarboksilasi, resemisasi, dan transulfurasi.

Salah satu peranan Piridoksin yang paling menarik adalah dengan adanya fakta-fakta bahwa vitamin ini juga terlibat dalam aspek pembentukan sistem imun atau pertahanan tubuh terhadap invasi mikroorganisme. Dari hasil-hasil penelitian telah diketahui bahwa pada kondisi defisiensi Piridoksin, berbagai spesies hewan maupun manusia menunjukkan kelainan-kelainan dalam sistem pertahanan tubuh. Hal ini terutama dalam hal jumlah limfosit dan sel-sel pembentuk antibodi.

Telah diketahui bahwa total sel-sel pembentuk antibodi dan limfosit lebih sedikit pada subjek yang mengalami defisiensi Piridoksin dibandingkan dengan keadaan normal (Kumar dan Axelrod, 1968; Debes dan Kirksey, 1979; Beisel, 1982). Tetapi bagai mana pengaruh Piridoksin terhadap sintesis immunoglobulin dan sintesis dan RNA dalam sel-sel pembentuk antibodi, masih perlu dikaji lebih mendalam. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh Piridoksin terhadap kadar immunoglobulin, DNA, dan RNA. Juga memperoleh data akurat mengenai kadar immunoglobulin, DNA, dan RNA dalam kondisi Piridoksin yang normal, defisiensi dan kondisi suplementasi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia FPMIPA IKIP Medan sejak Juli 1995 sampai dengan Maret 1996.

B. Kajian Teoritis.

1. Piridoksin dan sifat-sifatnya.

Piridoksin mempunyai rumus molekul $C_8H_{11}O_3N$ dengan berat molekul 169. Bentuk aktif Piridoksin adalah Piridoksal fosfat (PLP), merupakan koenzim serbaguna yang berperan untuk mengkatalisis berbagai reaksi penting dalam metabolisme asam amino dan protein, misalnya transaminasi, dekarboksilasi, dan rasemisasi (Conn *et al.*, 1987). Piridoksal fosfat juga terlibat dalam reaksi transulfurasi, misalnya pada reaksi perubahan metionin menjadi sistein (Martin *et al.*, 1985). Telah diketahui sekitar 60 jenis reaksi-reaksi asam amino yang melibatkan Piridoksal fosfat (conn *et al.* 1987).

Kebutuhan Piridoksin untuk ayam broiler yang direkomendasikan oleh NRC adalah 3.0 mg/kg ransum, sedangkan kebutuhan protein secara normal adalah 23 persen (Wahju, 1988).

2. Hubungan Piridoksin dengan Sintesis Immunoglobulin, DNA dan RNA.

Berbagai penelitian tentang hubungan vitamin B6 dengan aspek kekebalan tubuh pada hewan maupun manusia telah banyak dilaporkan oleh peneliti. Stoerk dan Eisen (1946) melaporkan bahwa titer antibodi serum ternyata menurun pada tikus defisiensi Piridoksin. Titer hemaglutinasi individual pada tikus defisiensi Piridoksin dan defisiensi asam pantotenat mengalami penurunan yang drastis (Axelrod *et al.*, 1947). Brown dan Pike (1960) mendapat bahwa kadar τ -globulin dan total τ -globulin yang beredar pada semua tikus percobaan yang diberi deoksiPiridoksin lebih rendah dibandingkan dengan tikus yang diberi Piridoksin.

Kadar globulin serum pada tikus defisiensi vitamin B6 lebih rendah dibandingkan dengan kadar globulin tikus yang diberi ransum dengan kandungan vitamin B6 yang cukup (Beaton *et al.*, 1953) Sementara itu, Hodges *et al.* (1962a) dalam penelitiannya menggunakan enam orang laki-laki sukarelawan yang dibagi menjadi tiga kelompok, masing-masing terdiri dari dua orang. Kelompok "Kontrol" diberi makanan yang cukup mengandung vitamin B6, kelompok "defisien" diberi makanan defisiensi vitamin B6, sedangkan kelompok ketiga yaitu kelompok "Antagonis" diberi deoksiPiridoksin. Semua sukarelawan itu diimunisasi dengan tetanus dan typhus, Ternyata, semua anggota kelompok "Defisien" dan "Antagonis" menderita sakit, sedangkan kelompok "Kontrol" tetap sehat. Dengan demikian, Hodges *et al.* (1962a) menarik kesimpulan bahwa pembentukan antibodi terhadap tetanus dan typhus akan terganggu pada subjek yang mengalami

defisiensi vitamin B6. selanjutnya juga telah dibuktikan bahwa jika sukarelawan diberi makanan yang defisiensi vitamin B6 sekaligus defisiensi asam pantotenat, ternyata sama sekali tidak ditemukan respon antibodi terhadap vaksin tetanus dan tyfus (Hodges *et al.*, 1962b).

Sintesis anti bodi seluler telah diamati melalui penelitian Kumar dan Axelrod (1968) pada tikus yang diberi ransum normal dan ransum defisiensi Piridoksin. Diketahui bahwa sel-sel pembentuk anti bodi pada limfa dan titer antibodi pada tikus defisiensi Piridoksin lebih rendah dibandingkan dengan tikus yang diberi ransum dengan kandungan vitamin B6 yang cukup. Dengan demikian, mereka menarik kesimpulan bahwa defisiensi vitamin B6 dapat mengakibatkan menurunnya produksi antibodi.

Penelitian Debes dan Kirksey (1979) telah membuktikan bahwa anak dari induk tikus yang diberi ransum defisiensi vitamin B6 selama masa kebuntingan dan masa laktasi, mempunyai jumlah limfosit dan sel-sel pembentuk antibodi yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diberi vitamin B6 yang cukup.

Hasil penelitian pada manusia membuktikan bahwa pemberian makanan yang tidak mengandung vitamin B6, dapat mengakibatkan terjadinya limpositopenia (Cheslock dan McCully, 1960; Beisel, 1982). Penelitian tentang pengaruh Piridoksin terhadap status imun pada manusia lanjut usia telah dilakukan oleh Talbott *et al.* (1987). Mereka melaporkan bahwa suplementasi Piridoksin pada manusia lanjut usia dapat memperbaiki fungsi limfosit serta mestimulasi sistem kekebalan. Sementara itu, Baisel (1982) menggunakan bahwa defisiensi Piridoksin pada hewan dan manusia, dapat menurunkan respon imun berperantara sel (*cell-mediated immune function*) dan respon imun humoral terhadap berbagai jenis antigen.

Trakatellis dan Axelrod (1965) telah melakukan penelitian tentang pengaruh defisiensi vitamin B6 terhadap sintesis DNA dan RNA. Mereka memperoleh data bahwa sintesis DNA dan RNA mengalami penurunan di dalam limpa tikus yang diberi ransum defisiensi Piridoksin. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Montjar *et al.* (1965) yang menyimpulkan bahwa defisiensi vitamin B6 pada tikus. dapat menyebabkan menurunnya laju sintesis r-RNA dan m-RNA.

Berbagai pendapat dan hipotesis telah diajukan para peneliti sehubungan dengan adanya bukti-bukti keterlibatan vitamin B6 dalam kekebalan tubuh. Menurut Montjar *et al.* (1965) menurunnya laju sintesis antibodi pada hewan yang diberi ransum defisiensi vitamin B6 merupakan akibat lanjutan dari terganggunya sintesis m-RNA pada hewan tersebut. Selanjutnya, Kumar dan Axelrod (1968) berpendapat bahwa gangguan yang diakibatkan oleh keadaan defisiensi Piridoksin terhadap respon imun, berhubungan dengan terjadinya hambatan pada proses perkembangan biakan sel-sel sebagai akibat dari ketidakcukupan DNA dan menurunnya produksi m-RNA yang dibutuhkan untuk sintesis immunoglobulin.

C. Metode Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayam broiler umur satu hari (*day old chicken*) atau DOC, dimana dalam penelitian ini DOC dibatasi hanya Strain Abror Acres CP-707 sebanyak 18 ekor yang diperoleh secara acak dengan menggunakan Tabel acak. Antigen yang digunakan adalah vaksin NDV Strain La Sota. Ransum yang digunakan selama penelitian ada dua jenis yaitu untuk kelompok kontrol dan suplemen digunakan ransum komersil yang telah mengandung Piridoksin dengan dosis normal, sedangkan untuk kelompok Defisien (D) digunakan ransum basal defisiensi Piridoksin Piridoksin yang dicobakan adalah bentuk Piridoksin hidroklorida (PN.HCL) dalam kemasan 10 gram.

Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan setiap perlakuan diberi enam ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah berupa kondisi Piridoksin ransum yang bervariasi. Rincian perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut: (1) Kontrol (K), diberi ransum komersil yang telah mengandung piridoksin dengan dosis normal, tanpa pemberian tambahan Piridoksin; (2) Defisiensi (D), diberi ransum defisiensi Piridoksin; dan (3) Kelompok Suplementasi (S), diberi ransum komersil yang mengandung Piridoksin dengan dosis normal dan diberi tambahan Piridoksin dosis 3.0 mg/kg ransum.

Tahapan-tahapan kerja yang dilakukan dalam penelitian adalah (1) pemeliharaan ayam percobaan dengan memberi perlakuan kondisi Piridoksin yang bervariasi dan biosintesis immunoglobulin dengan penyuntikan antigen NDV, (2) isolasi dan penentuan kadar DNA/RNA jaringan bursa Fabricus ayam broiler (3) isolasi dan Identifikasi Immunoglobulin serum, dan (4) penentuan kadar immunoglobulin serum.

SD Kadar DNA bursa Fabricus ditentukan dengan "difenilamine assay" dan kadar RNA ditentukan dengan "orcinol assay" dengan menggunakan metode de Tucker (1964) dan metode yang dimodifikasi oleh Moeljohardjo Purwakusumah (1991).

SD Isolasi immunoglobulin serum ayam broiler yang diteliti dilakukan dengan beberapa tahap yaitu : (1) pemisahan fraksi albumin dan serum dengan metode "salting out" (penggaraman) (Herbert, 1970), (2) Isolasi immunoglobulin dengan Kromatografi gel filtrasi dan Mackenzie, 1990), dan (3) identifikasi dan analisis fraksi immunoglobulin dengan metode elektroforesis gel poliakrilamida terdena rasi (SDS - PAGE) (Hames dan Rickwood, 1990; Mackenzie, 1990; exander. *et al.*, 1985).

me Untuk menentukan kadar immunoglobulin secara kuantitatif maka hasil elektroforesis di telusuri dalam TLC skanner. Kadar (M) immunoglobulin ditentukan berdasarkan absorpsi sinar pada TLC rater. Data yang diperoleh dari hasil pengukuran instrumentasi n= selanjutnya ditabulasi, dan dianalisis dengan sidik ragam. Jika terdapat M pengaruh nyata dari perlakuan yang diberikan, maka dilanjutkan dengan Beda Nyata Terkecil (Hanafiah, 1991).

D. Hasil dan Pembahasan

ins Hasil perhitungan rata-rata kadar DNA dan RNA bursa Fabricus rata-rata kadar immunoglobulin serum ayam broiler yang diberi perlakuan Bio-piridoksin, disajikan pada Tabel.

ata Tabel, Rataan kadar DNA, RNA bursa Fabricus dan kadar immunoglobulin serum ayam broiler yang diberikan tingkat Piridoksin dipap yang yang bervariasi.

Unit Peubah	Tingkat Piridoksin			
	Kontrol	Defisiensi	Suplementasi	P
hasil kadar DNA bursa Fabricus (mg/g)	4.98 ^a ± 0.77	0.41 ^b ± 0.06	7.26 ^c ± 0.35	P < 0.01
hasil kadar RNA bursa Fabricus (mg/g)	19.25 ^a ± 4.23	1.98 ^b ± 0.12	27.35 ^c ± 0.61	P < 0.01
hasil kadar Immunoglobulin serum (ng/100 ml)	82.80 ^a ± 17.11	11.90 ^b ± 3.95	90.90 ^a ± 28.14	P < 0.05

terangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata.

1. Kadar DNA dan RNA Bursa Fabricus

Dari hasil analisis kadar DNA bursa Fabricus ayam broiler yang diteliti, untuk kelompok ayam yang diberi Piridoksin dengan dosis normal (Kontrol), kelompok defisiensi dan kelompok yang diberi suplementasi Piridoksin diperoleh rata-rata kadar DNA berturut-turut sebesar 4,98 ; 0,41 dan 7,26 mg/gram bursa. Sedangkan rata-rata kadar RNA berturut-turut sebesar 19,25 ; 1,98 dan 27,25 mg/gram bursa (lihat Tabel).

Hasil uji statistik dengan sidik ragam menunjukkan bahwa Piridoksin berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kadar DNA dan RNA organ bursa Fabricus. Selanjutnya dengan uji BNT diperoleh kesimpulan bahwa defisiensi Piridoksin memberikan kadar DNA dan RNA paling rendah, sedangkan suplementasi Piridoksin dengan dosis 3,0 mg/kg ke dalam ransum komersial memberikan kadar DNA dan RNA paling tinggi ($P < 0,01$) pada ayam broiler. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Trakatellis dan Axelrod (1965) yang menyimpulkan bahwa sintesis DNA dan RNA mengalami penurunan pada lima tikus yang diberi ransum defisiensi Piridoksin. Hasil yang sama juga telah ditemukan oleh Montjar *et al*, (1965). Rendahnya kadar DNA dan RNA dalam organ bursa Fabricus ayam yang mengalami defisiensi piridoksin diduga merupakan akibat lanjutan dari kurangnya Piridoksal pospat (PLP) sehingga pembentukan fragmen C_1 melalui pengubahan serin menjadi glisin akan berkurang, yang pada gilirannya akan mengurangi laju sintesis basa purin dan pirimidin yang dibutuhkan untuk sintesis asam nukleat.

Suplementasi Piridoksin dengan dosis 3,0 mg/kg ke dalam ransum komersial secara nyata memberikan kadar DNA dan RNA paling tinggi ($P < 0,01$) dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok defisiensi. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan penambahan Piridoksin ke dalam ransum memungkinkan ketersediaan piridoksal pospat (PLP) yang sangat memadai. Hal ini akan berperan dalam mempercepat biosintesis fragmen C_1 dari konversi serin-glisin yang pada akhirnya mempercepat biosintesis asam nukleat. Namun dalam penelitian ini belum ditemukan dosis optimum Piridoksin yang harus disuplementasi ke dalam ransum sehingga diperoleh kadar DNA dan RNA yang optimum.

2. Kadar Immunoglobulin serum

Hasil pemisahan fraksi-fraksi protein serum awal (asli) ayam broiler yang diberi Piridoksin dengan tingkatan yang bervariasi menunjukkan baik pada ke tiga kondisi kelompok kontrol (KA), kelompok defisien (DA) maupun kelompok suplementasi (SA) dapat diidentifikasi adanya 5 fraksi protein.

Data ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya (Silitonga, 1992). Untuk semua perlakuan Piridoksin diperoleh 5 fraksi protein dengan berat molekul berkisar antara 69.000-740.000.

Bila diperhatikan fraksi protein yang diperoleh dari serum asli untuk setiap perlakuan KA, DA dan SA, terlihat perbedaan terutama dalam hal ketebalan pita-pita protein. Keadaan ini menunjukkan bahwa masih terdapat fraksi-fraksi lain yang belum terpisah. Akan tetapi, hasil elektroforesis sampel yang telah difraksinasi dengan kromatografi gel filtrasi menunjukkan bahwa untuk semua perlakuan Piridoksin diperoleh pita tunggal, dipastikan adalah immunoglobulin. Untuk perlakuan serum ayam broiler yang mengalami defisiensi Piridoksin kelihatan pita protein immunoglobulin yang sangat tipis dibandingkan terhadap pita protein immunoglobulin kelompok kontrol (KF) dan suplementasi (SF). Kemungkinan perbedaan dalam hal kesempurnaan susunan dan ketebalan pita fraksi immunoglobulin untuk masing-masing kelompok perlakuan Piridoksin tersebut juga ada hubungannya dengan perbedaan konsentrasi immunoglobulin yang diperoleh dalam penelitian (lihat Tabel pada halaman 12).

Hasil uji statistik dengan sidik ragam menunjukkan bahwa ada pengaruh Piridoksin terhadap kadar immunoglobulin serum ayam broiler ($P < 0,05$). Selanjutnya dengan uji BNT diperoleh kesimpulan bahwa defisiensi Piridoksin mengakibatkan kadar immunoglobulin paling rendah. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini ada kesesuaian dengan penelitian Brawn dan Pike (1960), yang mendapatkan bahwa kadar τ -globulin dan total τ -globulin yang beredar pada tikus defisiensi Piridoksin lebih rendah dibandingkan dengan tikus kontrol.

Dengan adanya fakta-fakta bahwa pada kondisi defisiensi Piridoksin diperoleh kadar DNA dan RNA bursa Fabricus serta kadar immunoglobulin serum yang paling rendah, maka dapat disimpulkan bahwa Piridoksin berperan penting dalam biosintesis DNA. Kondisi ini selanjutnya berpengaruh terhadap pembentukan RNA dan biosintesis immunoglobulin. Dalam penelitian ini ditemukan bahwa suplementasi Piridoksin dengan dosis 3,0 mg/kg ransum memberikan kadar immunoglobulin yang tidak berbeda secara nyata dengan kelompok kontrol. tetapi menunjukkan kadar DNA dan RNA yang lebih tinggi ($P < 0,01$). Diduga suplementasi Piridoksin dengan dosis 3,0 mg/kg ransum belum mencukupi untuk memacu laju sintesis immunoglobulin, tetapi harus diberikan dalam dosis tinggi.

Untuk itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis Piridoksin yang tepat untuk disuplementasikan pada ransum untuk memberikan pengaruh meningkatkan kadar immunoglobulin.

E. Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil-hasil yang diperoleh dalam penelitian ini maka dapat ditarik kesimpulan :

1. Piridoksin berpengaruh secara nyata terhadap kadar immunoglobulin serum, DNA dan RNA bursa Fabricus ayam broiler.
2. Defisiensi Piridoksin memberikan kadar immunoglobulin, kadar DNA dan RNA yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Suplementasi Piridoksin dengan dosis 3,0 mg/kg ransum dengan nyata memberikan kadar DNA dan RNA yang paling tinggi, tetapi tidak nyata untuk kadar immunoglobulin.
4. Pada ayam broiler dengan kondisi Piridoksin yang normal, defisiensi dan yang diberi suplementasi 3.0 mg/kg ransum, diperoleh rata-rata kadar DNA berturut-turut sebesar 4,98, 0.41, dan 7.27 mg/g, sedangkan kadar RNA berturut-turut sebesar 19.25, 1.98, dan 27.35 mg/g bursa Fabricus. Selanjutnya kadar immunoglobulin serum berturut-turut sebesar 82.80, 11.90, dan 90.90 mg/100 ml serum.

Berdasarkan temuan penelitian yang menunjukkan adanya pengaruh piridoksin terhadap kadar DNA, RNA dan kadar immunoglobulin, maka disarankan agar dilakukan penelitian lanjutan yang konfrehensif tentang pengaruh defisiensi Piridoksin terhadap biosintesis asam nukleat dan protein pada berbagai spesies hewan.

F. Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pimpinan Proyek Pengembangan Tenaga Guru (P2TG) Ditjen Dikti dan Tim Basic Science MIPA-LPTK yang memberikan bantuan dana penelitian.

oooooooooooooooooooo

DAFTAR PUSTAKA

- Alexande, R.R., J.M. Griffiths dan M.L. Wilkinson. 1985. *Basic Biochemical Methods*. Jhon Wiley & Sons, New York.
- Axelrod, A.E., B.B. Carter, R.H. McCoy dan R. Geisinger. 1947. Circulating antibodies in vitamin-deficiency states: I. Pyridoxine Riboflavin and Phantotenic deficiencies. *Roö. Soo. Exp. Biol. and Med.* 66: 137-140.
- Beaton, J.R., J.L. Beare, J.M. White and E.W. McHenry, 1953a. Studies on vitamin B6: I. Biochemical Changes in vitamin B6 deficiency in rat. *J. Biol. Chem.* 201: 578-721.
- Beisel, W.R. 1982. Single nutrients and immunity, *am. J. Clin. Nutr* 35 : 417 - 468.
- Brown, M.L., and R.L. Pike. 1960. Blood volume and serum protein in deoxy pyridoxine-fet rat during pregnancy, *J. Nutr.* 71: 191-199.
- Cheslock, K.E., and M.T. McCully. 1960. Response of human beings to a low vitamin B6 diet. *J. Nutr.* 70 : 507-513.
- Conn, E.E., P.K. Stumpf, G. Bruening and R.H. Doi. 1987. *outlines of Biochemistry*. Jhon Wiley & Sons New York.
- Debes, S.A., and A. Kirksey. 1979. Influence of dietary pyridoxine on selected immune capacities of rat dams and pups. *J. Nurt.* 109: 744 - 753.
- Hames, B.D. dan D. Rickwood. 1990. *Gel electrophoresis of protein : A practical Aproach*. IRL Prees. Oxford.
- Hanafiah, M. 1991., *Rancangan Percobaan*, Rajawali Press Jakarta.
- Herbert, W.J. 1970. *Veterinary immunology*. Blackwell Scientificications. Oxford.
- Hodges, R.E., W.B. Bean, M.A. Ohlson and R.E. Bleiler. 1962a. Factors affecting human antibody response: IV. Piridoxine deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.* 11 : 180 -186.
- Horges, R.E., W.B. Bean, M.A. ohlson and R.E. Bleiler. 1962b. *Factors affecting human antibody response: V. Combined deficiencies of panthothenik acid and pyrido-xine*. *Am. J. Clin. Nutr.* 11 : 1210 - 1222.
- Kumar, M., and A.E. Axelrod. 1968. Cellular antibody synthesis in vitamin B6-deficient rats. *J. Nutr.* 96 : 53 - 59.
- Mackenzie. D.C. 1990. *Technical Requirements for Amino Acid and Protein Structure*. IPB-Australia Project. Bogor.

- Martin, D.W., P.A. Mayes, V.W. Rodwell and D.K. Granner. 1985. *Happers Review of Biochemistry*. (Iyan Darmawan). Penerbit E.G.C. Jakarta.
- Moeljohardjo, D.S., dan D.E. Purwakusumah. 1991. *Fraksinasi sub selluler*. Kursus singkat PAU-Ilmu Hayat, Institut Pertanian Bogor.
- Montjar, M., A.E. Axelrod and A.C. Trakatellis. 1965. Effect af pyridoxin-deficiency upon polysomes and messenger-RNA of rats tissues. *j. Nutr.* 85 : 45 - 51.
- Silitonga, P.M. 1992. Pengaruh Piridoksin Terhadap Sintesis Antibodi Pada Ayam Broiler. *MS-Tesis*, Institut Pertanian Bogor.
- Stoerk, H.C., and H.N. Eisen. 1946. Suppression of circulating antibody in pyridoxine deficiency. *Proo. Soo. Exp. Bil Med.* 62: 88-89.
- Talbott, M.C., L.T. Miller and N.I. Kerkvliet. 1987. Pyridoxine auplementation: Effect on lymphocyte responses in elderly persons. *Am. J. Clin. Nutr.* 46 : 659 - 664.
- Trakatellis, A.C., and A.E. Axellrod. 1965. Effect of pyridoxine deficiency on nucleic acid metabolism in the rat. *Biochem. J.* 95 : 344 - 349.
- Tucker, H.A. 1964. Influence of Number Suckling Young on Nucleio Acid Content of Lactating Rat mammary gland. *Proo. Soo. Exp. Med.* 116 : 318-220.
- Wahyu, J. 1988. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Gajahmada University Press. Yogyakarta.

oooooooo0000000oooooooo