

# EFEK SUPLEMENTASI VITAMIN A TERHADAP PEMBENTUKAN ANTIBODI PADA TIKUS YANG DIVAKSINASI DPT

Susmiati\*, Netti Suharti\*\*

\*Program Studi Ilmu Keperawatan\*\*Bagian Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Andalas

## ABSTRAK

Vitamin A adalah bahan essensial yang berperan dalam penglihatan, pertumbuhan, pembentukan sel epitel, pembentukan sel darah merah dan dalam menjaga jaringan epitel sebagai barier fisik terhadap infeksi, juga sebagai penjaga sejumlah sel imun baik innate ataupun acquired immune system. Sel imun meliputi lymphocytes (B-cells, T-cells, dan natural killer cells), myelocytes (neutrophils, macrophages, dan myeloid dendritic cells). Suplementasi Vitamin A dapat menurunkan angka kematian bayi sampai 19% - 54% Mekanisme menurunnya angka kesakitan dan kematian bayi ini belum diketahui secara pasti. Tapi diketahui bahwa peranan vitamin A dalam pembentukan respon imun yaitu terutama peningkatan respon imun sel T dan peningkatan pembentukan antibody (imunoglobulin).

Penelitian ini menggunakan tikus jantan Galur Wistar yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi vitamin A terhadap pembentukan antibodi pada tikus yang divaksinasi DPT. Penentuan kadar vitamin A plasma (serum retinol) dengan cara spektrofotometer sedangkan konsentrasi antibodi (Imunoglobulin G) dengan cara ELISA.

Pada penelitian ini didapatkan rerata antibodi (IgG) kelompok perlakuan adalah  $0.0467 \pm 0.0124$  ug/ml. Konsentrasi antibodi kelompok kontrol adalah  $0.0225 \pm 0.0067$  ug/ml Secara statistik perbedaan ini signifikan ( $p < 0.05$ ). Kadar vitamin A kelompok perlakuan dalam 100 ml serum adalah  $26.65 \pm 2.21$  sedangkan kelompok kontrol adalah  $21.64 \pm 2.21$ . Secara statistik perbedaan ini signifikan ( $p < 0.05$ ). Dan jumlah limfosit kelompok perlakuan adalah  $3.9 \times 10^5$  sel/ml sedangkan kelompok kontrol adalah  $2.5 \times 10^5$  sel/ml. Secara statistik perbedaan ini juga signifikan ( $p < 0.05$ ). Analisis korelasi dengan uji Pearson didapatkan hubungan yang berbanding lurus antara vitamin A dengan kadar antibodi, walaupun secara statistik tidak terdapat korelasi yang signifikan ( $p = 0.05$ ). Pola yang hampir sama juga ditemukan pada konsentrasi limfosit, dimana tidak terdapat korelasi antara jumlah limfosit dengan vitamin A ( $p > 0.05$ ).

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa secara statistik tidak didapatkan pengaruh suplementasi vitamin A terhadap pembentukan antibodi pada tikus yang divaksinasi DPT, walaupun terjadi kecenderungan peningkatan antibodi pada tikus yang disuplementasi vitamin A. Maka untuk itu perlu dikaji lebih lanjut tentang peningkatan kadar vitamin A dan konsentrasi antibodi (Imunoglobulin G) sebelum dan sesudah suplementasi vitamin A dengan jumlah sample yang lebih besar.

**Kata kunci :** Suplementasi vitamin A, Vitamin A plasma, antibodi, Vaksinasi DPT

## PENDAHULUAN

Kekurangan gizi pada balita meliputi kurang energi dan protein serta vitamin A, zat besi, iodium dan zinc. Balita yang kurang gizi mempunyai risiko meningga lebih tinggi dibandingkan balita yang tidak kurang gizi. Setiap tahun kurang lebih 11 juta dan balita di seluruh dunia meninggal oleh karena penyakit-penyakit infeksi seperti ISPA, diare, malaria, campak dll. Ironisnya, 54% dari kematian tersebut berkaitan dengan adanya kurang gizi (Atmawita 2005).

Di dunia , vitamin A defisiensi (VAD) merupakan salah satu masalah yang penting . Tiap tahun lebih dari 350.000 ditemukan kasus kebutaan dan teriadinya peningkatan angka kesakitan dan angka kematian pada anak. Lebih dari 250 juta anak mengalami defisiensi vitamin A subklinis. Beberapa penelitian terakhir menyatakan bahwa suplementasi vitamin A dapat menurunkan angka kematian bayi sampai 19%-54% ( Sommer,2004).

Vitamin A adalah bahan essensial yang berperan dalam penglihatan, pertumbuhan , pembentukan sel epitel, pembentukan sel darah merah dan dalam menjaga jaringan epitel sebagai barrier fisik temadap infeksi, juga sebagai penjaga sejumlah sel imun baik innate ataupun acquired immune system. Sel imun meliputi lymphocytes (B-cells, T-cells, dan natural killer cells), myelocytes (neutrophils, macrohages, dan myeloid dendritic cells). ( Nevin S 2007 ; Shuichi K,2001).



Defisiensi vitamin A menyebabkan penurunan ukuran timus dan limpa, menurunkan natural killer activity, penurunan produksi interferon, kerusakan reaksi hipersensitivity tipe lambat, kurang efektifnya macrofag dan turunya respon limposit untuk menstimulasi mitogen. Aktivitas fagositosis juga terpengaruh yang akhirnya akan mempengaruhi pembentukan antibodi (Imunoglobulin) ( Boon P, 2000).

Di Indonesia lebih dari 50% anak balita mengalami defisiensi vitamin A subklinis yang ditandai dengan serum retinol <20 mcg/dL, dan satu diantara dua (48.1%) dari mereka menderita anemia kurang zat besi. Kurang vitamin A meskipun pada derajat sedang mempunyai risiko tinggi untuk mengalami gangguan pertumbuhan, menderita beberapa penyakit infeksi seperti Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA), campak, dan diare dan lebih penting lagi adalah bahwa kekurangan vitamin A bertanggung-jawab terhadap 23% kematian anak balita di seluruh dunia. Salah satu cara pencegahan ISPA adalah pemberian imunisasi Difteri Pertusis Tokoid (DPT).

Paling efektif adalah dengan imunisasi bersamaan dengan tetanus dan pertusis sebanyak tiga kali sejak bayi berumur dua bulan dengan selang penyuntikan satu - dua bulan. Pemberian imunisasi ini akan membenkan kekebalan aktif terhadap penyakit difteri, pertusis dan tetanus dalam waktu bersamaan. Imunisasi ada dua macam, yaitu imunisasi aktif dan pasif. Imunisasi aktif adalah pemberian kuman atau racun kuman yang sudah dilemahkan atau dimatikan dengan tujuan untuk merangsang tubuh memproduksi antibodi (imunoglobulin).

Imunoglobulin didalam serum terutama terdiri dari fraksi protein yang terdiri dari Ig G, Ig M, Ig A, Ig D dan Ig E. Imunoglobulin G merupakan terbanyak diproduksi pada reaksi imun dan

dapat mencapai celah ekstraseluler dan mempunyai peranan utama menetralkan racun dan fagosit kuman.

Penelitian beberapa ahli terakhir ini menyatakan bahwa suplementasi Vitamin A dapat menurunkan angka kematian bayi sampai 19% - 54%. Mekanisme menurunnya angka kesakitan dan kematian bayi ini belum diketahui secara pasti. Tapi diketahui bahwa peranan vitamin A dalam pembentukan respon imun yaitu terutama peningkatan respon imun sel T dan peningkatan pembentukan antibody (imunoglobulin). (Sommer A, 2004; Kiss Z. et al, 2003).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk meneliti bagaimana pengaruh suplementasi vitamin A terhadap pembentukan antibody pada tikus yang divaksinasi DPT

#### **Rumusan Masalah**

Defisiensi vitamin A subklinis yang ditandai dengan serum retinol <20 mcg/dL. Defisiensi vitamin A meskipun pada derajat sedang mempunyai risiko tinggi untuk mengalami gangguan pertumbuhan, menderita beberapa penyakit infeksi seperti Infeksi Saluran Pernafasan Atas (ISPA), campak, dan diare dan lebih penting lagi ialah bahwa kekurangan vitamin A bertanggung-jawab terhadap 23% kematian anak balita di seluruh dunia. Suplementasi Vitamin A dapat menurunkan angka kesakitan dan kematian dengan meningkatkan acquired immune system meliputi lymphocytes (B-cells) yang menghasilkan antibody terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh. Dalam hal ini pemberian imunisasi DPT dianggap sebagai satu jenis antigen yang masuk dalam tubuh yang akan merangsang pembentukan antibody (imunoglobulin)

Permasalahan adalah bagaimana pengaruh suplementasi vitamin A terhadap pembentukan antibodi(Ig G) pada tikus yang divaksinasi DPT ?

### **Hipotesis Penelitian**

Hipotesis pada penelitian ini yaitu terjadinya peningkatan pembentukan antibodi pada tikus yang divaksinasi DPT yang diberi suplementasi vitamin A

### **Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh suplementasi vitamin A terhadap pembentukan antibodi pada tikus yang divaksinasi DPT

## METODE PENELITIAN

Desain penelitian merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Biokimia FK Unand Padang, selama 8 bulan terhitung dan persetujuan proposal

### **Populasi dan sampel**

Populasi dan sampel

Populasi tikus jantan galur wistar, sehat, umur + 4 bulan dengan berat badan 180 - 220 gram sebanyak 12 ekor Tikus yang digunakan jenis galur wistar yang defisiensi vitamin A dibagi 2 kelompok : masing kelompok 6 ekor

- Kelompok I : Suplementasi vit A (2 mg beta carotene diberikan secara oral setiap hari) selama 6 minggu
- Kelompok II : Kontrol (plasebo selama 6 minggu)

### **Cara Kerja**

#### **Persiapan tikus percobaan**

16 ekor tikus percobaan dibagi atas 2 kelompok (masing-masing 6 plasebo dan perlakuan; dengan dua cadangan pada tiap kelompok) diberikan makanan dan minuman sesuai kebutuhan. Kelompok perlakuan ditambahkan 2 mg vitamin A (beta carotene) per oral selama 6 minggu. Selama penelitian tidak ada hewan coba yang sakit atau mati.



### **Vaksinasi DPT**

Hewan coba dipilih secara acak, dengan menggunakan spuit insulin 26 G dilakukan injeksi DPT pada paha kanan bagian dalam 100 ul. Vaksinasi dilakukan pada minggu ke-4 setelah pemeliharaan.

### **Pemeriksaan limfosit**

Darah hewan coba diambil melalui intrakardial sebanyak 2.5 ml, masukkan ke dalam konikal 15 ml yang telah berisi ficoll hypaque. Darah dimasukkan pelan-pelan melalui dinding tabung. Dilakukan sentrifus 3000 rpm selama 30 menit pada suhu kamar. Ambil buffy coat yang terdapat di tengah, masukkan ke dalam konikal. Tambahkan PBS hingga 10 ml, sentrifus 3000 rpm selama 10 menit. Lakukan 2 kali (sebagai pencucian). Buang supernatan dan tambahkan medium RPMI kompleks.

### **Pemeriksaan serum retinol**

Prosedur dilakukan di ruangan gelap. 2 ml serum dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan dicampur dengan 2 ml etanol 95% dan 3 ml PE, kocok 2 menit, tutup rapat, sentrifus 1000 RPM selama 3 menit. Ambil 2 ml lapisan atas, baca dengan sfektrofotometer 450 nm. Tambahkan residu dengan 0.1 ml kloroform dan 0.1 ml asam asetat anhidrat, kocok. Masukkan ke dalam cuvet dan tambahkan 1 ml larutan TFA dengan panjang gelombang 620 nm.

Buat standart vitamin A (vitamin A asetat dalam minyak biji kapas) dengan konsentrasi 6.8, 13.7, 20.6 dan 34.4 ug/l. Tentukan F vit A.

Konsentrasi vitamin A dalam 100 ml serum dihitung dengan rumus

$$75 (OD_{620}) - F_c \cdot OD_{450} \cdot F_{vit A}$$

### **Pemeriksaan antibodi**

Uji ELISA dilakukan terhadap serum dari kedua kelompok tikus percobaan (kelompok perlakuan dan kontrol) 2 minggu setelah vaksinasi DPT. Pemeriksaan antibodi menggunakan IgG kit (Kreatech Diagnostic, Belanda) dengan protokol yang telah ditetapkan oleh pabrik. Sebanyak 100 µl sampel antibodi yang diencerkan 200 kali yang telah dilarutkan dalam PBS-T ditambahkan ke setiap lubang dari plat yang dibuat duplo. Plat diinkubasikan selama satu sampai dua jam pada suhu ruangan di atas *shaker*. Plat dicuci kembali sebanyak tiga kali dengan PBS-T. Sebanyak 100 µl antibodi yang telah dilabel (*IgG conjugate HRP, rabbit anti-rat*) dimasukkan ke dalam lubang plat dan diinkubasikan selama satu jam pada suhu ruangan di atas *shaker* dan ditambahkan substrat peroksidase, ABTS, dan sitrat buffer. Plat dibaca dengan *ELISA Reader* panjang gelombang 415 nm. Nilai OD yang didapat dikonversikan menjadi kadar IgG dengan kurva standart yang telah ada.

### **Analisa data**

Hasil yang didapat dianalisa statistik dengan menggunakan program SPSS 11.0. yaitu korelasi antara kadar vitamin A (retinol serum) dengan pembentukan antibodi (Ig G) vaksin



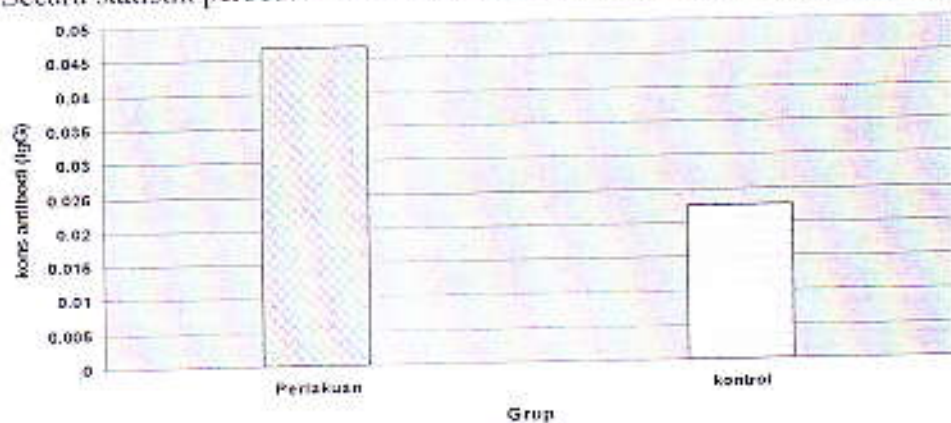
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan terhadap *Rattus norvegicus* galur Wistar dengan berat rata-rata pada awal penelitian adalah  $185.6 \pm 4.8$  gram. Setelah pemeliharaan, pertumbuhan berat badan tikus hampir sama, rata-rata  $3.8 \pm 1.4$  g, tidak ada hewan coba yang sakit atau mati, sehingga tikus cadangan tidak pernah digunakan. Pada setiap kelompok (masing-masing 6 ekor) dilakukan pemeriksaan antibodi, kadar vitamin A dan konsentrasi limfosit.

#### 1. Kadar antibodi

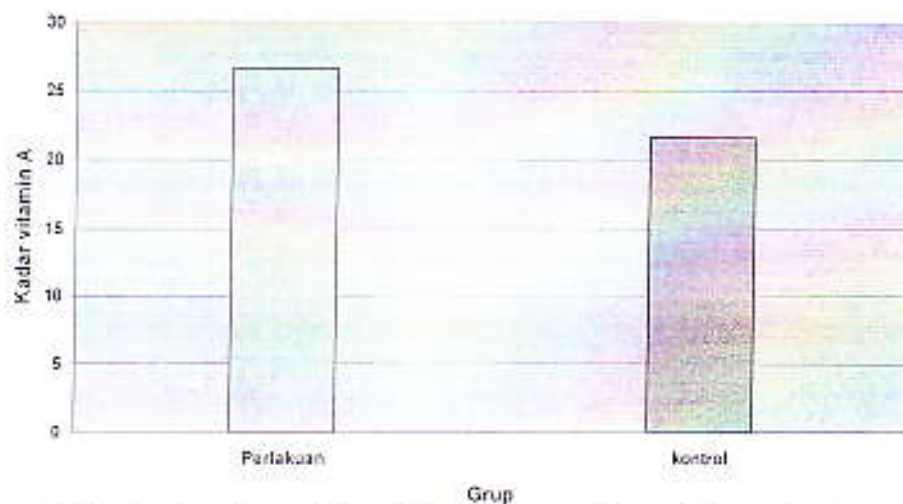
Pada penelitian ini didapatkan rerata antibodi (IgG) kelompok perlakuan adalah  $0.0467 \pm 0.0124$  ug/ml dengan interval antara 0.32 – 0.65 ug/ml. Konsentrasi antibodi kelompok kontrol adalah  $0.0225 \pm 0.0067$  ug/ml dengan interval antara 0.12 – 0.31 ug/ml. Secara statistik perbedaan ini berbeda secara bermakna ( $p < 0.05$ ) (gambar 1).



Gambar 1. Perbandingan kadar antibodi kelompok kontrol dan perlakuan ( $p = 0.002$ ).

## 2. Kadar Vitamin A

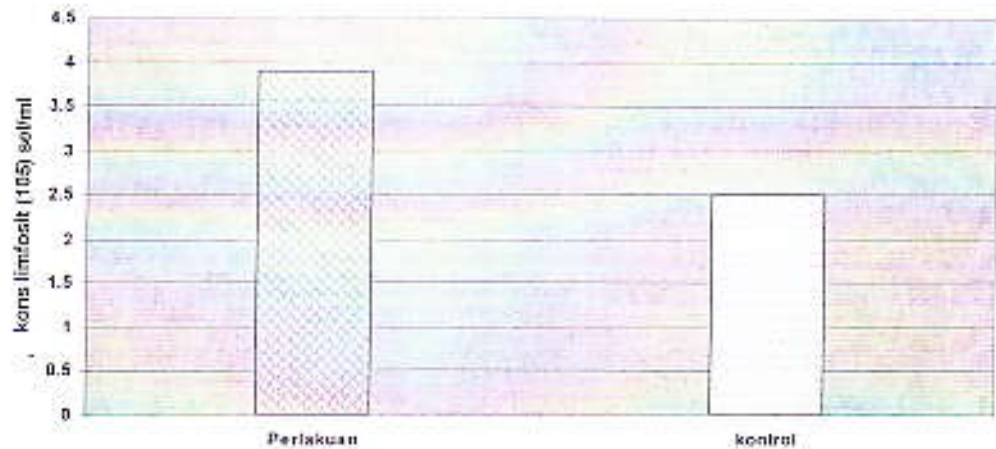
Pada penelitian ini didapatkan  $F_{vit A}$  0.52 dengan faktor korelasi 0.3. Kadar vitamin A kelompok perlakuan dalam 100 ml serum adalah  $26.65 \pm 2.21$  sedangkan kelompok kontrol adalah  $21.64 \pm 2.21$ . Secara statistik perbedaan ini berbeda secara bermakna ( $p < 0.05$ ).



Gambar 2. Kadar vitamin A dalam 100 ml serum kelompok kontrol dan perlakuan ( $p = 0.02$ ).

## 3. Konsentrasi limfosit

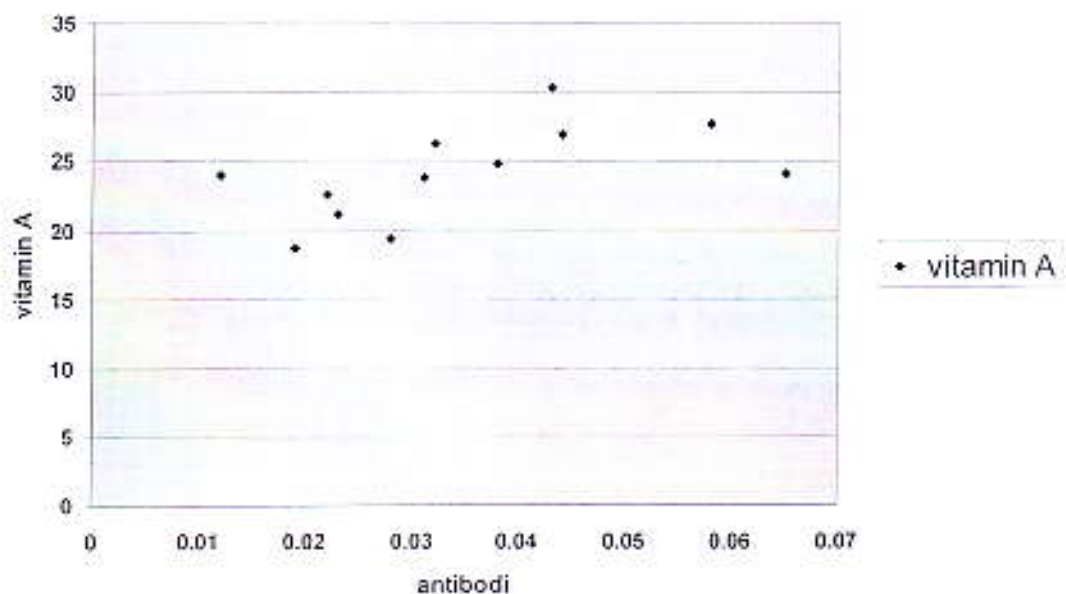
Limfosit didapatkan dengan mengisolasi buffy coat yang terbentuk antara campuran ficoll hypaque dengan darah. Pada penelitian ini didapatkan jumlah limfosit kelompok perlakuan adalah  $3.9 \times 10^5$  sel/ml sedangkan kelompok kontrol adalah  $2.5 \times 10^5$  sel/ml. Secara statistik perbedaan ini berbeda secara bermakna. ( $p < 0.05$ ) (Gambar 3)



Gambar 3. Perbandingan konsentrasi limfosit kelompok perlakuan dan kontrol ( $p = 0.01$ ).

#### 4. Hubungan antara vitamin A dengan kadar antibodi dan limfosit

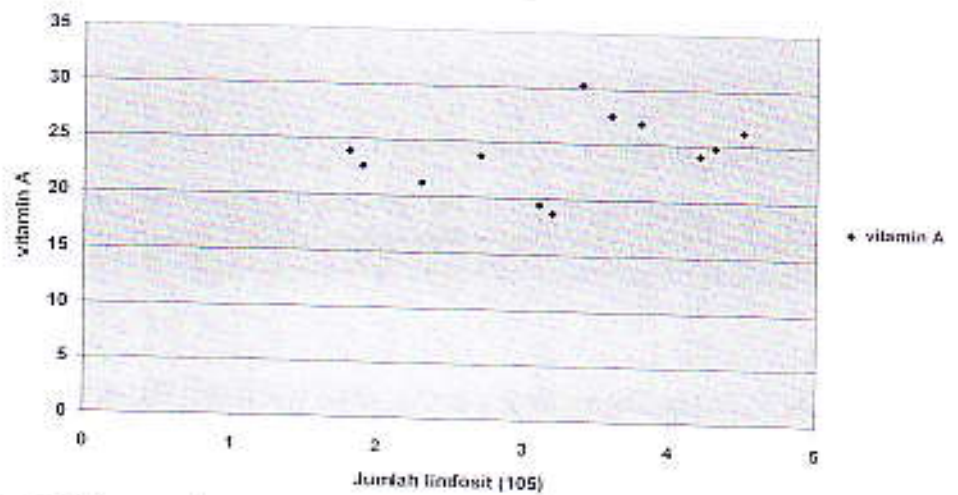
Berdasarkan analisis korelasi dengan uji Pearson didapatkan hubungan yang berbanding lurus antara vitamin A dengan kadar antibodi, walaupun secara statistik tidak terdapat korelasi antara vitamin A dengan kadar antibodi ( $p = 0.060$ ;  $r = 0.557$ ) (Gambar 4).



Gambar 4. Korelasi antara vitamin A dengan kadar antibodi ( $p=0.060$ ,  $r = 0.557$ )



Pola yang hampir sama juga ditemukan pada konsentrasi limfosit, dimana tidak terdapat korelasi antara jumlah limfosit dengan vitamin A ( $p = 0.213$ ,  $r = 0.388$ ).



Gambar 5. Hubungan konsentrasi limfosit dengan kadar vitamin A

### Pembahasan

Penelitian ini pada dasarnya untuk membandingkan pengaruh suplementasi vitamin A terhadap pembentukan antibodi pada tikus yang divaksinasi DPT dibandingkan dengan kontrol yang tidak disuplementasi vitamin A (diberi plasebo). Komponen yang dinilai adalah imunoglobulin G (Ig G) dan limfosit.

Secara garis besar, sistem imun terdiri dari sistem imun innate (non spesifik) dan adaptive (spesifik). Kedua sistem ini tidak berjalan sendiri-sendiri, namun saling berinteraksi dan bekerja secara bersama-sama. Sistem imun innate terdiri dari barrier

mechanism (kulit, mukosa, silia), dalam bentuk molekul dan protein terlarut (lisozim, komplemen, defensin, sitokin, kemokin, amin bioaktif). Sedangkan yang termasuk dalam sistem imun adaptive (spesifik) pada prinsipnya adalah yang bersifat humoral (antibodi) dan seluler (sel T dan subset-subsetnya). Ciri utama sistem imun adaptive ini adalah mempunyai spesifitas terhadap antigen yang merangsangnya dan adanya memori imunologis. Sistem imun non spesifik bekerja sebagai pertahanan lini pertama, setelah itu dalam beberapa hari akan diikuti dominasi sistem imun spesifik.

Pada penelitian ini didapatkan kadar vitamin A kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ( $p < 0.05$ ). Dan konsentrasi antibodi serta jumlah limfosit kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ( $p < 0.05$ ). Saat ini berbagai komponen nutrisi telah digunakan untuk memodulasi fungsi sistem imun. Komponen-komponen tersebut pada umumnya terdiri atas asam amino (glutamin, arginin, glisin, dll), asam lemak rantai panjang (PUFA), asam nukleat, trace element, dan bermacam-macam vitamin. Masing-masing nutrisi memiliki fungsi masing-masing untuk memodulasi sistem imun, sehingga pemberian nutrisi yang tepat akan mempercepat penyembuhan seseorang dari sakitnya, dan sebaliknya apabila kekurangan maka sistem imun kita juga akan terganggu. Golongan vitamin seperti vitamin A seringkali dikaitkan dengan sistem imun. Vitamin A ini diperlukan dalam maturasi, diferensiasi, dan proliferasi sel T. Target utama imunonutrisi ini pada umumnya adalah untuk memperkuat respon imun seluler dan antibodi

Berdasarkan analisis korelasi dengan uji Pearson didapatkan pengaruh yang berbanding lurus antara vitamin A dengan kadar antibodi, walaupun secara statistik tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Pola yang hampir sama juga ditemukan pada konsentrasi limfosit, dimana tidak terdapat korelasi antara jumlah limfosit dengan vitamin A ( $p > 0,05$ ).

Penelitian ini berbeda dengan penelitian oleh Brian A. Smith, 2003 yang melaporkan Beta caroten dapat meningkatkan proses pertahanan tubuh (imun sistem) dalam peningkatan jumlah sel imun seperti limfosit B dan T dan natural killer sel. Dimana defisiensi vitamin A terhadap respon imun menyebabkan penurunan ukuran \* timus dan limpa, menurunkan natural killer activity, penurunan produksi interferon, kerusakan reaksi hipersensitivity tipe lambat, kurang efektifnya macrofag dan turunya respon limfosit untuk menstimulasi mitogen. Aktivitas fagositosis juga terpengaruh yang akhirnya akan mempengaruhi pembentukan antibodi. Anderson (2000) telah melakukan penelitian tentang pengaruh vitamin terhadap imun pada manusia dan mendapatkan status gizi yang jelek dan usia lanjut akan mengurangi pembentukan respon imun.

Tetapi pada penelitian ini belum tampak efek dari suplementasi vitamin A terhadap pembentukan antibodi karena berbagai faktor terutama mungkin disebabkan jangka waktu pemberian suplementasi yang singkat ( 1 bulan ) atau dosis yang diberikan terlalu rendah. Tidak ditemukannya efek ini mungkin juga disebabkan pemakaian sampel yang terlalu kecil.



Walaupun secara statistik tidak ada pengaruh suplementasi vitamin A terhadap pembentukan antibodi tapi terdapat kecenderungan peningkatan konsentrasi antibodi dan jumlah limfosit pada kelompok yang disuplementasi vitamin A. Hasil ini memberikan gambaran yang berarti untuk penelitian lanjutan dengan sampel yang lebih banyak, jangka waktu yang lebih panjang atau perbedaan dosis-dosis serta dengan melakukan perbandingan antara kadar vitamin A dan konsentrasi antibodi sebelum dan sesudah suplementasi, sehingga jelas kelihatan efek peningkatannya.

#### **Kesimpulan**

1. Pada penelitian ini didapatkan kadar vitamin A kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ( $p < 0.05$ ).
2. Pada penelitian ini didapatkan konsentrasi antibodi kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ( $p < 0.05$ ).
3. Tidak didapatkan pengaruh suplementasi vitamin A terhadap pembentukan antibodi  $p > 0.05$ . Walaupun ada didapatkan kecenderungan tingginya konsentrasi antibodi (imunoglobulin G) pada kelompok yang disuplementasi vitamin A.

#### **Saran**

Perlu penelitian lebih lanjut tentang peningkatan retinol serum dan konsentrasi antibodi (Imunoglobulin G) sebelum dan sesudah suplementasi vitamin A dengan jumlah sampel yang lebih besar

## DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier A, 2001. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Jakarta; Gramedia pustaka Utama
- Alamrita, Ph,2005. Nutrition problem In Indonesia. Gajah Mada University. An Integrated International Seminar and Workshop on lifestyle-Related Disorder
- Arum Atmawikarta,2006. Defining Priority Nutrition Actions for Indonesia : Gap analysis, Evidence Base, and Recommendation Expert Discussion : Defining Priority Nutrition Actions for Indonesia.
- Boon P, Chew, Jean Soon Park,2000. Dietary Beta carotene Stimulated Cell Mediated and Humoral Immune Response in Dog. *Journal of Nutrition*
- Brian A Smith,2003. Beta carotene and Immune Response. Your health Naturally
- Benn C Stabell et all. 2003. Hypothesis: Vitamin A supplementation and childhood mortality: amplification of the non-specific effects of vaccines? *International Journal of Epidemiology*
- Benn C Stabell et all. 200The effect of vitamin A supplementation administered with missing vaccines during national immunization days in Guinea-Bissau
- Rd Semba . 2001. Integration of vitamin A supplementation with the Expanded Programme on Immunization: lack of impact on morbidity or infant growth. *Acta Paediatrica*.
- Jeffrey B. Blumberg, David A,2001. Vitamin and Immunocompetence. *Bibl. Nutr*, No 55,pp200-205
- Kiss Z, Bardos I., Scabo C.2003 . Effect of beta carotene supplementation on plasma yolk Ig y level induced by NDV vaccination in Japanese quail. *Intl J Vit*
- Luis A Mejla, guillermo. Determinant of Vitamin A in blood. Some practical consideration on the time of collection of the specimen and stability of the vitamin. *AJCN*
- Nevin S. synergism of nutrition ,infection and Immunity; an overview. *American Journal of Clinical Nutrition*
- Shuichi K, Masanobu.2001. Modulation of Immune Function by Foods. Departement of Science and Tecnology, College of Bioresource Sciences, Nihon university, Japan

- Sommer A.2004. Defisiensi Vitamin A dan akibatnya ( alih bahasa : Sadikin V) Jakarta; EGC
- Rahman M, Mahalanabis D et al.1997. Effect of Early vitamin A Supplementation on Cell Mediated Immunity in Infant Younger than 6 mo. AJCN
- Jason J et al.2002. Vitamin A Levels and Immunity in Humans. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology