

**PENGARUH SUPLEMENTASI NIASIN TERKAPSULASI TERHADAP PROFIL
KOLESTEROL DAN PRODUKSI TELUR AYAM HYSEX BROWN**
[*The Effect of Capsulated niacin supplementation on Cholesterol profile and Egg Production
of Hysex Brown Laying Hens*]

**Sutarpa, I N. S¹⁾, J. Wahju²⁾, R. Widjajakusuma³⁾, I. K. Amrullah²⁾,
A. A. Mattjik⁴⁾ dan Muhillal⁵⁾**

¹⁾*Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar*

²⁾*Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor*

³⁾*Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor*

⁴⁾*Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor, Bogor*

⁵⁾*Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi, Bogor*

Received May 26, 2008; Accepted July 11, 2008

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi niacin terkapsulasi terhadap profil kolesterol dan produksi telur ayam Hysex Brown. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (*Completely Randomized Block Design*), dengan empat perlakuan niacin yang dimasukkan dalam kapsul (*niacin terkapsulasi*), yaitu: nol, 500, 1.000 dan 1.500 ppm, dan lima kelompok, diberikan secara oral per individu setiap hari. Setiap kelompok menggunakan empat ekor ayam umur 30 minggu. Ransum basal dengan kandungan energi metabolis 2.900,01 kkal/kg dan protein 16.5 % serta air minum diberikan secara bebas, selama 12 minggu penelitian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi niacin sampai 1.500 ppm yang diberikan ayam selama 12 minggu, tidak menunjukkan perbedaan ($P>0.05$) terhadap konsumsi ransum, estrogen, tiroksin, produksi telur, kolesterol plasma dan kolesterol telur. Suplementasi niacin 1.000 dan 1.500 ppm pada saat ayam berumur 34 minggu nyata ($P<0.05$) menurunkan kolesterol plasma 10.45 % dan kolesterol telur sebesar 19.22 %, tanpa mempengaruhi produksi telur. Disimpulkan bahwa suplementasi niacin sampai 1.500 ppm tidak berpengaruh terhadap profil kolesterol dan produksi telur ayam Hysex Brown.

Kata kunci: Niasin, Profil Kolesterol, Produksi Telur, Ayam Petelur

ABSTRACT

The aims of this study was to evaluate the effect of capsulated niacin supplementation on cholesterol profile and egg production of Hysex Brown laying hens. This study was conducted based on Completely Randomized Block Design with four treatments of capsulated niacin containing 0,500, 1.000, and 1.500 ppm and five replication that were was given orally to individual hens per day. In each replication, there were four hens aged 30 weeks. The formulation diet of 2.900,01 kcal ME/kg, 16.5% of protein and drinking water with *ad libitum* were given during 12 weeks observation. The result showed that the effect of niacin supplementation until 1.500 ppm did not show any significant effect ($P>0.05$) toward feed intake, egg production, egg cholesterol, plasma cholesterol, estrogen and thyroxin during 12 weeks of observation. When the hens reach the age of 34 weeks, it was found that 1.000 and 1.500 ppm niacin supplementation significantly ($P<0.05$) reduced plasma and egg cholesterol by 10.45 and 19.22 % and did not affect the eggs production. It was concluded that niacin supplementation until 1.500 ppm did not affect cholesterol profile and egg production of Hysex Brown laying hens.

Keywords: Niacin, Cholesterol Profile, Egg Production, Laying Hens

Telur merupakan salah satu produk ternak unggas yang kaya gizi dan murah dibandingkan dengan yang berasal dari ternak lain. Namun, belakangan ini banyak masyarakat enggan mengonsumsi telur, karena diketahui mengandung lemak jenuh dan kolesterol yang tinggi. Kritchevsky (1987) mengungkapkan bahwa mengonsumsi makanan berkolesterol dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis, bahkan mengonsumsi berlebihan makanan kaya kolesterol dan rendah serat alami menyebabkan penyakit kardiovaskuler (Willett, 1994). Meskipun demikian, kolesterol tetap diperlukan tubuh, yaitu berkisar antara 1.000 - 1.500 mg per hari. Hasil metabolisme kolesterol digunakan sebagai: 1) pembentuk struktur membran sel serta lipoprotein plasma, 2) permiabelitas membran plasma dan aktivitas enzim yang terkait pada membran, 3) prekursor dalam sintesis sejumlah hormon steroid yang dibutuhkan untuk produksi vitamin D₃ dan garam empuđu untuk mengemulsikan lemak makanan pada usus halus (Montgomery *et al.*, 1993).

Untuk mengantisipasi fenomena di atas, suatu langkah bijak yang dapat dilakukan, yaitu dengan jalan menyediakan bahan makanan yang berasal dari ternak unggas, seperti telur ataupun hasil ternak lain, yang rendah kolesterol. Untuk menghasilkan telur rendah kolesterol, salah satu alternatif yang dapat ditempuh, yakni dengan suplementasi niasin terkapsulasi secara oral pada unggas, karena niasin berperan sebagai koenzim untuk katabolisme karbohidrat, protein dan lemak (Kutsky, 1973). Niasin mampu menurunkan kolesterol plasma manusia sebesar 15 - 30 % (Hotz, 1983) dan menurunkan 7 % kolesterol telur pada ayam yang diberi suplementasi niasin 500 ppm (Leibetseder, 1995). Penurunan kolesterol plasma terjadi, karena niasin menghambat proses biosintesis kolesterol di hati

melalui penekanan terhadap aktivitas enzim *HMG-KoA reduktase* (Harper, 1992), *lipoproteinlipase* (Hotz, 1983) dan *siklase adenilat* (Montgomery *et al.*, 1993). Akan tetapi, informasi mengenai peranan niasin terhadap produksi dan kolesterol telur masih kurang, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi niasin terkapsulasi terhadap profil kolesterol dan produksi telur ayam Hysex Brown.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai peranan niasin hubungannya dengan profil kolesterol dan produksi telur ayam. Disamping itu, diharapkan juga dapat memberikan sumbangan pemikiran dalam upaya menurunkan lemak dan kolesterol aneka ternak unggas yang lemak dan kolesterolnya cukup tinggi.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Bogor, berlangsung selama 12 minggu, menggunakan 80 ekor ayam petelur Hysex Brown umur 30 minggu, yang berasal dari PT Sinta Slipi, Jakarta. Ayam dimasukkan dalam kandang individual (*individual cages*), yang telah dilengkapi dengan tempat makan dan minum. Selama penelitian ayam diberikan ransum dalam bentuk *mash*, dengan kandungan energi metabolis 2.900,01 kkal/kg dan protein 16,5% (Scott *et al.*, 1982), disusun dari jagung kuning, dedak padi, bungkil kacang kedele, tepung ikan, kalsium karbonat dan premix-B, dengan komposisi zat – zat makanan disajikan pada Tabel 1. Ransum dan air minum diberikan *ad libitum*.

Niasin dalam bentuk *powder*, kemurnian 98% diproduksi oleh PT Merck Jakarta, pada taraf yang telah ditentukan dimasukkan dalam kapsul (*niasin terkapsulasi*), diberikan sebagai perlakuan, yang

Tabel 1. Komposisi Zat – Zat Makanan Ransum Basal Ayam Hysex Brown *)

Komponen	Satuan	Nilai
Energi metabolis	(kkal/kg)	2.900.01
Protein kasar	(%)	16.50
Kalsium	(%)	3.62
Phosfor	(%)	0.45
Lemak	(%)	6.99
Serat kasar	(%)	3.33
Lisin	(%)	1.08
Metionin	(%)	0.36
Triptofan	(%)	0.19
Niasin	(ppm)	50.72

Keterangan: *) Komposisi zat – zat makanan ransum basal dihitung berdasarkan tabel Scott *et al.*(1982).

didasarkan pada konsumsi ransum per minggu (Tabel 2).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah

38240 (1993). Kolesterol plasma (mg/100 mL) = $583.0 \times A$ (Absorbans yang dibaca pada Spectrophotometer Humalyzer Junior dengan

Tabel 2. Taraf Suplementasi Niasin yang Diberikan Tiap Hari

Taraf Suplementasi Niasin (ppm)	Konsumsi ransum (g)	Niasin Terkapsulasi (mg) ^{*)}
0	105.28	0
500	106.56	53.28
1.000	104.53	104.53
1.500	105.57	158.36

Keterangan: *) Niasin terkapsulasi dihitung berdasarkan konsumsi ransum per minggu

Rancangan Acak Kelompok (*Completely Randomized Block Design*), dengan empat perlakuan niasin terkapsulasi (0, 500, 1.000 dan 1.500 ppm), diberikan secara oral per individu tiap hari, dengan lima kelompok. Setiap kelompok menggunakan empat ekor ayam.

Untuk mengetahui respons fisiologis ayam yang diberi suplementasi niasin, maka diamati peubah, sebagai berikut:

1. Konsumsi ransum, dihitung setiap minggu, dengan cara mengurangi jumlah ransum yang diberikan dengan sisa ransum selama satu minggu.
2. Produksi telur, ditentukan berdasarkan "hen day production" (HD%)
HD% = Jumlah telur (butir)/Jumlah ayam yang hidup x 100%
3. Kolesterol telur (mg/100 g yolk), ditentukan dengan Metode Enzymatic Cholesterol High Performance CHOD-PAP KIT dari Boehringer Mannheim GmbH Dianostica. France SA.

panjang gelombang 546 nm); HDL (High Density Lipoprotein) plasma (mg/100mL) = $325.1 \times A$; LDL (Low Density Lipoprotein) plasma (mg/100 mL) = Kolesterol plasma - $(519.4 \times A)$;

4. Trigliserida (TG) plasma (mg/100 mL) = $5 \times \{\text{kolesterol plasma} - (\text{HDL} + \text{LDL})\}$, dan VLDL (Very Low Density Lipoprotein) plasma (mg/100mL) = TG/5, berdasarkan metode Schaefer *et al.* (1995).

5. Estrogen dan tiroksin plasma dianalisis dengan teknik Radioimmunoassay KIT hormone, dengan prosedur pelaksanaannya diperoleh dari DPC (Diagnostic Products Corporation) COAT-A-COUNT Estradiol and T₄, Los Angeles, CA 90045 (1991).

Data yang diperoleh dianalisis ragam, untuk mengetahui pola hubungan respons (Y) dengan taraf perlakuan suplementasi niasin terkapsulasi (X) dilakukan analisis regresi - korelasi (Steel dan Torrie, 1980).

Table 3. Konsumsi Ransum, Produksi Telur, Kolesterol Telur, Kolesterol, VLDL, LDL, HDL Dan TG Plasma Ayam Selama 12 Minggu Penelitian

Peubah ^{ns)}	Suplementasi niasin (ppm)			
	0	500	1.000	1.500
Konsumsi ransum (g/ekor)	105.28	106.56	104.53	105.57
Produksi telur (HD%)	78.33	75.36	74.64	74.68
Kolesterol telur (mg/100g yolk)	951.20	937.80	916.31	897.17
Kolesterol plasma (mg/mL)	147.14	145.98	145.32	114.70
VLDL plasma (mg/mL)	31.82	30.64	32.74	30.98
LDL plasma (mg/mL)	76.86	76.10	68.94	76.72
HDL plasma (mg/mL)	38.34	39.25	43.64	46.00
TG plasma (mg/mL)	159.70	153.20	163.90	154.90

Keterangan: ^{ns)} berbeda tidak nyata (P > 0.05)

Tabel 4. Estrogen dan Tiroksin Plasma Ayam yang Memperoleh Suplementasi Niasin selama 12 minggu Penelitian

Peubah ^{ns)}	Suplementasi niasin (ppm)			
	0	500	1.000	1.500
Estrogen plasma (pg/ml)	106.24	96.75	102.81	108.79
Tiroksin plasma (µg/dl)	0.40	0.42	0.41	0.41

Keterangan: ^{ns)} berbeda tidak nyata (P > 0.05)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan analisis ragam, suplementasi niasin 0, 500, 1.000 dan 1.500 ppm (Tabel 3) selama 12 minggu penelitian tidak berpengaruh (P > 0.005) terhadap produksi telur. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilaporkan oleh Sharma *et al.* (1979), bahwa penggunaan 1.000 ppm nicotinic acid tidak berpengaruh terhadap produksi telur ayam WL (White Leghorn). Tidak berpengaruhnya suplementasi niasin, karena pada fase ini ayam telah mendapatkan pengalaman produksi dan ternak yang bersangkutan telah menemukan penyesuaian aras neuroendokrin yang terbaik (Nalbandov, 1990). Disamping itu, semakin lama pemberian suplementasi niasin, yang semula menimbulkan reaksi ringan dan lama – kelamaan ayam beradaptasi terhadap niasin, pada akhirnya tidak menampakkan adanya perubahan fisiologis. Hal ini tercermin dari hasil analisis tiroksin dan estrogen plasma (Tabel 4). Hormon tiroksin yang sama, akibat *feed intake* sama (Table 3), diduga tidak berpengaruh terhadap VLDL sebagai komponen folikel ovarium, sehingga aktivitas ovarium tetap normal. Kondisi seperti ini mengakibatkan tidak adanya perbedaan rataan berat dan diameter ovary sebelum diovulasikan. Hormon estrogen yang dihasilkan oleh folikel ovarium tidak mempengaruhi perkembangan panjang maupun berat tuba fallopii. Bilamana tidak terjadi hipertropi maupun hiperplasia pada tuba Fallopii, maka proses pembentukan dan perjalanan telur di dalam tuba Fallopii akan normal, yaitu 24 – 28 jam. Akibatnya, jumlah telur yang dihasilkan selama produksi akan sama (Parkhurt dan Mountney, 1980).

Saat minggu ke-4 (ayam umur 34 minggu) dari 12 minggu lamanya penelitian, suplementasi niasin 1.000 dan 1.500 ppm nyata (P<0.05) menurunkan kolesterol plasma sebesar 10.45 % (P<0.05) secara linier, mengikuti persamaan regresi: $Y_p = 140.00 - 0.0114 X$,

dengan nilai r = - 0.96. Penurunan kolesterol kuning telur sebesar 19.22 % (P<0.05) secara linier, mengikuti persamaan regresi: $Y_t = 1011.24 - 0.1466 X$, dengan nilai r = - 0.93. Fenomena di atas memberikan gambaran, bahwa peningkatan suplementasi niasin sebesar X ppm, menyebabkan terjadinya penurunan kolesterol plasma (Y_p) sebesar 0.0114 kali X dan penurunan kolesterol telur (Y_t) sebesar 0.1466 kali X. Pada saat terjadi penurunan kolesterol plasma dan kolesterol telur tidak diikuti dengan penurunan produksi telur. Ini berarti bahwa ada tingkat minimum kebutuhan kolesterol untuk mempertahankan produksi telur (Marks dan Washburn, 1977). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Sharman *et al.* (1979), bahwa suplementasi niasin 1.000 ppm pada ayam WL menurunkan kolesterol telur dengan tidak mempengaruhi produksi telur. Ini berarti bahwa suplementasi niasin sampai 4 minggu penelitian mampu menghambat enzim HMG-KoA reduktase di hati (Harper, 1992).

Sampai 12 minggu penelitian berlangsung, suplementasi niasin 0, 500, 1.000 dan 1.500 ppm tidak berpengaruh (P>0.05) terhadap penurunan kolesterol plasma dan kolesterol telur (Tabel 3). Hal ini disebabkan oleh niasin tidak nyata menurunkan LDL, sedangkan HDL plasma meningkat tidak nyata dan trigliserida (TG) tidak konsisten. Tidak berubahnya TG, karena estrogen plasma sama. Disamping itu, kegagalan niasin dalam menurunkan kolesterol telur, diduga karena di dalam tubuh ayam terjadi homeostasis, yang mengakibatkan kolesterol plasma kembali normal karena adanya hambatan balik (*feedback inhibition*) dari kolesterol plasma terhadap enzim *HMG-KoA reduktase*, sehingga kolesterol yang dibutuhkan untuk pembentukan kuning telur sebelum ovulasi mengalami kondisi normal (Griffin *et al.*, 1984). Hasil penelitian ini sejalan dengan pendapat Singh (1972), bahwa suplementasi niasin sampai 200 ppm, 500 ppm tidak nyata menurunkan kolesterol darah dan kolesterol telur (Leibetseder, 1995).

Pendapat ini didukung oleh Leeson *et al.* (1991) yang mengungkapkan bahwa, suplementasi niasin 66 – 1.022 ppm tidak berpengaruh terhadap kolesterol telur, serta HDL dan TG ayam petelur

Estrogen plasma ayam yang mendapat suplementasi niasin 0, 500, 1.000 dan 1500 ppm selama 12 minggu penelitian tidak berbedaan ($P > 0.05$). Hal ini disebabkan oleh 1) niasin gagal menghambat aktifitas enzim *HMG-KoA reduktase* (Happer, 1992), sehingga proses perubahan asetil – KoA menjadi mevolonat, akhirnya pembentukan skualen demikian juga kolesterol berjalan normal, 2) diduga dalam tubuh ayam terjadi kondisi homeostasis, yang mengakibatkan kolesterol plasma kembali normal, karena adanya hambatan balik kolesterol plasma terhadap enzim *HMG-KoA reduktase*, sehingga komponen kolesterol yang diperlukan untuk perkembangan kuning telur sebelum ovulasi, melalui sirkulasi yang kompleks mengalami kondisi normal (Griffin *et al.*, 1984). Sistem sirkulasi kompleks merupakan suatu sistem perkembangan suplai venosa yang tersusun konsentris disekitar flikel, serta berakhir dengan jala - jala kapiler venosa yang sangat halus, yang membungkus ovum yang sedang berkembang. Ini terbukti dari hasil pengamatan terhadap 5 buah ovum terbesar yang berada di dalam folikel ovarium, mempunyai rataan berat dan diameter relatif sama, sehingga diduga folikel ovarium mempunyai kemampuan yang sama untuk mensekresikan estrogen. Demikian juga halnya dengan konsentrasi estrogen yang ditransfer dari folikel ovarium ke sirkulasi darah.

Tiroksin plasma ayam yang mendapat suplementasi niasin 0, 500, 1.000 dan 1500 ppm selama 12 minggu penelitian tidak menunjukkan perbedaan ($P > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi niasin tidak berespons terhadap tiroksin plasma, karena ayam yang menerima suplementasi niasin mengkonsumsi jumlah ransum yang sama (Tabel 3), akibat niasin tidak menyebabkan perubahan palatabilitas (rasa) ransum dan selera makan dari ayam. Disamping itu, ayam yang sedang produksi telah menemukan penyesuaian aras neuroendokrin yang baik, mencakup fungsi tiroid (Nalbandov, 1990). Walaupun demikian, tiroksin plasma darah hasil penelitian ini jauh lebih rendah dibandingkan dengan tiroksin plasma darah ayam berumur 56 minggu dengan berat badan 2.159 gram, yaitu $1.02 \pm g$ (Ringer, 1976). Rendahnya

tiroksin ini, karena ayam masih berada pada periode bertelur. Ini sejalan dengan pernyataan Lien dan Siopes (1989), bahwa tiroksin plasma kalkun menurun pada periode produksi, dan tiroksin akan meningkat saat produksi telur berhenti.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan, bahwa suplementasi niasin terkapsulasi sampai 1.500 ppm pada ayam umur 30 – 42 minggu tidak mempengaruhi profil kolesterol dan produksi telur, kecuali suplementasi niasin 1.000 dan 1.500 ppm menurunkan kolesterol plasma sebesar 10.45% dan kolesterol telur sebesar 19.22% pada saat ayam umur 34 minggu (4 minggu penelitian). Untuk menurunkan kolesterol dalam waktu 4 minggu sebaiknya dilakukan suplementasi niasin 1.000 dan 1.500 ppm, sedangkan 500 ppm niasin untuk menurunkan kolesterol selama waktu 12 minggu.

UCAPAN TERIMKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Wahyu, J (Almarhum), R. Widjajakusuma., A. A. Mattjik., I. K. Amrullah dan Muhilal atas bimbingan dan bantuan teknis yang diberikan selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Boehringer Mannheim GmbH Diagnostia. 1993. Enzymatic Cholesterol High Performance CHOD-PAP KIT, France SA. 38240.
- Diagnostic Products Corporation. 1991. Coat – A - Count Estradiol and Thyroxin (T_4) Los Angeles, CA 90045.
- Griffin, H. D and M. A. Mitchell. 1984. A simple method for measuring albumin-bound non-esterified fatty acid concentration in laying hen plasma. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 78B: 219 – 222.
- Harper. 1992. Biokimia (Harper, S Review of Biochemistry). Edisi ke-20 (Terjemahan: I. Darmawan). Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

- Hotz, W. 1983. Nicotinic acid and its derivatives: a short survey. *Advances in Lipid Research*, 20: 195 – 217.
- Kutsky, R. 1973. *Handbook of Vitamin & Hormones*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Kritchewsky, D. 1987. Inhibition of cholesterol synthesis 1-3. *J. of Nutr.* 117: 1330 - 1334
- Kutsky, R. 1973. *Handbook of Vitamin & Hormones*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Leeson, S., L. J. Caston and J. D. Summers. 1991. Response of laying hens to supplemental niacin. *Poultry Sci.* 70: 1231 – 1235.
- Leibetseder, J. 1995. Untersuchungen über die Wirkungen von L-carnitin beim Huhn (Studies of L-carnitine effects in poultry). *Arch. Anim. Nutr.*, 46: 1 – 2, 97 – 108.
- Lien, R.J. and T. D. Siopes. 1989. Effect of thyroidectomy on egg production, molt and plasma thyroid hormone concentrations of turkey hen. *Poultry Sci.* 68: 1126 – 1132.
- Marks, H. L. and K. W. Washburn. 1977. Divergent selection for yolk lipid and reproductive efficiency of the hen. *Br. Poultry Sci.* 18: 179 – 188.
- Montgomery, R., R. L. Dryer, T. W. Conway and A. A. Spector. 1993. *Biokimia Jilid 1. Edisi Keempat* (Terjemahan: M. Ismadi and S. Dawiesah). Gajah Mada University Press., Yogyakarta.
- Nalbandov, A. V. 1990. *Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Edisi Ketiga*. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Parkhurst, C. R. and G. J. Mountney. 1980. *Poultry Meat and Egg Production. An Avi Book*. Published by Van Nostrand Reinhold, New York.
- Ringer, R. K. 1976. *Thyroid. Avian Physiology*. 3rd Ed. by P. D. Sturkie. Springer – Verlag, New York.
- Schaefer, E. J., A. H. Lichtenstein, S. Lamon-Fava, J. R. McNamara and J. M. Ordavas. 1995. Lipoprotein, nutrition, aging and atherosclerosis 1-3 (Suppl). *Am. J. Clin. Nutr.* 61: 726S – 740S.
- Scott, M. L., M. C. Nesheim, R. J. Young. 1982. *Nutrition of The Chicken*. 3rd Ed. Published by M. L. Scott & Associates, Ithaca, New York.
- Sharma, R. K., R. A. Singsh., R. N. Pal and C. K. Aggarwal. 1979. Cholesterol content of chicken egg as affected by feeding garlic (*Allium Sativum*), sarpagandha (*Rowlfiaserpentina*) and nicotinic acid. *Haryana Agric. Univ. J. of Res.* 9: 263 – 265.
- Singh, R. A. 1972. Effect of d-thyroxine and nicotinic acid on cholesterol metabolism of laying hens. *Indian J. Anim. Sci.* 42: 433 – 435.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. *Principles and Procedure of Statistics*. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.
- Willett, W. C. 1994. Diet and health. What should we eat?. *Science*. 264: 532 – 537.