

PENGARUH SUPLEMENTASI IKAN TERI (*Stolephorus* sp.) TERHADAP KANDUNGAN OMEGA-3 DAN OMEGA-6 PADA TELUR DAN DAGING AYAM RAS HISEX BROWN

[THE EFFECT OF ANCHOVY FISH (*Stolephorus* sp.) SUPPLEMENTATION ON THE CONTENT OF OMEGA-3 AND OMEGA-6 IN HISEX BROWN CHICKEN EGG AND MEAT]

Marcelia Sugata^{1*}, Callista Levina Wahyudi², Erlangga Anantha Kodrat³, Tan Tjie Jan⁴
^{1,2,3,4}Program Studi Biologi, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

*Korespondensi penulis: marcelia.sugata@uph.edu

ABSTRACT

*The balance between omega-3 and omega-6 in the body is very important. The ideal omega-6/omega-3 ratio is 4:1 or lower, but modern people's diets with high omega-6/omega-3 ratio increase the risk of various diseases such as cardiovascular disease. To lower this ratio, the increase of omega-3 intake is required. Egg as a source of omega-3 is widely consumed by people. Omega-3 eggs can be increased by providing supplementation of anchovy fish in chicken feed. Therefore, this study aimed to analyse the effect of five-months anchovy (*Stolephorus* sp.) supplementation on the level of omega-3 and omega-6 in Hisex Brown chicken eggs and meat. Laying hens were fed commercial feed which had been added with anchovy powder for five months. Samples of eggs and chicken meat (breast, upper thigh, lower thigh) were taken every 1-2 months, then the oil from the sample was extracted. Analysis of omega-3 and omega-6 content in oil samples was carried out by GC-MS. Based on the results after five months of supplementation, longer supplementation period resulted in higher content of omega-3 (especially docosahexaenoic acid/DHA) and omega-6 (arachidonic acid/ARA) in egg yolks. Compared to the first month, the omega-3 and omega-6 content of eggs in the fifth month increased by 3.5 and 15.5 times, respectively. The content of omega-3 and omega-6 in chicken meat (breast, upper and lower thigh) during supplementation period were fluctuated. However, the omega-6/omega-3 ratios in the chicken breast and upper thighs got lower as the supplementation period lengthened.*

Keywords: anchovy; arachidonic acid; chicken meat; docosahexaenoic acid; egg

ABSTRAK

Keseimbangan antara omega-3 dan omega-6 di dalam tubuh sangatlah penting. Rasio omega-6/omega-3 yang ideal adalah 4:1 atau lebih rendah, namun pola makan masyarakat modern memiliki rasio omega-6/omega-3 yang tinggi sehingga meningkatkan risiko berbagai penyakit seperti kardiovaskular. Untuk menurunkan rasio tersebut, dibutuhkan peningkatan asupan omega-3. Telur merupakan salah satu sumber omega-3 yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Peningkatan omega-3 telur dapat dilakukan dengan memberikan suplementasi ikan teri pada pakan ayam. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh suplementasi ikan teri (*Stolephorus* sp.) terhadap kandungan omega-3 dan omega-6 pada telur dan daging ayam ras petelur strain Hisex Brown. Ayam petelur diberikan pakan komersil yang telah ditambahkan dengan bubuk ikan teri selama lima bulan. Sampel telur dan daging ayam (dada, paha atas, paha bawah) diambil setiap 1-2 bulan, lalu minyak dari sampel diekstraksi. Analisis kandungan omega-3 dan omega-6 dari sampel minyak dilakukan dengan GC-MS. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari lima bulan suplementasi, periode suplementasi yang semakin lama menghasilkan kandungan omega-3 (khususnya *docosahexaenoic*

acid/DHA) dan omega-6 (*arachidonic acid*/ARA) yang semakin tinggi pada kuning telur. Dibandingkan bulan pertama, kandungan omega-3 dan omega-6 telur pada bulan kelima meningkat masing-masing 3,5 dan 15,5 kali lipat. Kandungan omega-3 dan omega-6 pada daging ayam (dada, paha atas dan paha bawah) selama periode suplementasi mengalami fluktuasi. Meskipun demikian, rasio omega-6/omega-3 pada dada dan paha atas semakin rendah seiring dengan periode suplementasi yang semakin lama.

Kata kunci: *arachidonic acid*; daging ayam; *docosahexaenoic acid*; ikan teri; telur

PENDAHULUAN

Omega-3 dan omega-6 merupakan asam lemak esensial yang memiliki berbagai peran penting di dalam tubuh manusia. Omega-3 diketahui dapat menurunkan risiko berbagai jenis penyakit, diantaranya kanker, jantung, dan hipertensi serta mengurangi inflamasi yang berlebihan (Olsen *et al.*, 2008; Mozaffarian & Wu, 2011). Bersama dengan omega-3, omega-6 berperan penting dalam fungsi otak, pertumbuhan dan perkembangan serta pemeliharaan sistem reproduksi. Namun, bertentangan dengan omega-3, omega-6 cenderung meningkatkan aktivitas inflamasi di dalam tubuh (Innes & Calder, 2018).

Keseimbangan antara omega-3 dan omega-6 di dalam tubuh sangatlah penting. Rasio omega-6 dan omega-3 yang ideal adalah 4:1 atau lebih rendah (Meyer *et al.*, 2003). Namun, pola makan masyarakat modern memiliki rasio omega-6/omega-3 yang tinggi, yaitu sekitar 15,0:1 – 16,7:1. Tingginya rasio tersebut mengakibatkan peningkatan aktivitas inflamasi yang kemungkinan dapat menimbulkan berbagai

penyakit, seperti kardiovaskular diabetes, Alzheimer, inflamasi yang berlebihan, serta perkembangan berbagai macam kanker (Simopoulos, 2008).

Untuk menyeimbangkan rasio omega-3 dan omega-6, khususnya pada pola makan masyarakat modern, perlu dilakukan peningkatan asupan omega-3. Penelitian sebelumnya oleh Sugata *et al.* (2020) menunjukkan bahwa penambahan ikan teri pada pakan ayam selama empat minggu dapat meningkatkan kandungan omega-3 pada telur ayam ras *strain* Hisex Brown. Pada penelitian ini, dilakukan analisis pengaruh suplementasi ikan teri terhadap kandungan omega-3 dan omega-6 pada telur dan daging ayam ras petelur *strain* Hisex Brown. Selain itu, suplementasi dilakukan untuk jangka waktu yang lebih lama, yaitu lima bulan. Hal ini dilakukan dengan harapan didapatkan gambaran terkait korelasi antara periode suplementasi dengan kenaikan kandungan omega-3 dan omega-6 pada telur dan daging ayam.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah metanol, klorofom, heksana, akuades, larutan BF₃-MeOH 14% (Merck), larutan standar (*docosahexaenoic acid*/DHA, *eicosapentaenoic acid*/EPA dan *arachidonic acid*/ARA) dari Sigma Aldrich, sodium sulfat anhydrous dan air dimineralisasi.

Alat yang digunakan adalah blender (Philips), gelas beaker (IWAKI), kertas filter WhatmanTM No. 1, labu erlenmeyer (IWAKI), labu ukur (IWAKI), pipet ukur (IWAKI), pipet volumetrik, pipet mikro, tips mikropipet (Mettler Toledo), oven, ampul, *jet torch lighter*, pinset, timbangan digital, neraca analitik, sentrifus, *rotary evaporator*, instrumen gas *chromatography-mass spectrometry* (Agilent Technology), *water bath*, *magnetic stirrer*, corong, tabung reaksi, botol sampel (*vial*) dan kontainer plastik.

Sampel yang digunakan adalah ikan teri (*Stolephorus* sp.) kering yang berasal dari Pasar Sinpasa, Gading Serpong dan ayam ras petelur *strain* Hisex Brown berusia dua bulan dari Rizky Farm di Parung, Bogor.

Metode Penelitian

Suplementasi ikan teri pada pakan ayam

Ikan teri dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk bubuk.

Selanjutnya, sebanyak 10% bubuk ikan teri dicampurkan dengan pakan ayam komersil. Seekor ayam mengonsumsi pakan komersil sebanyak 120 gram per hari. Oleh karena itu, suplementasi dilakukan dengan memberikan 120 gram pakan yang terdiri dari 108 gram pakan komersil dan 12 gram bubuk ikan teri. Suplementasi ikan teri pada pakan ayam dilakukan selama lima bulan. Telur dan daging ayam diambil secara berkala setiap 1-2 bulan untuk dianalisis.

Ekstraksi minyak

Ekstraksi minyak dilakukan dari tiga sampel, yaitu ikan teri, daging ayam dan kuning telur. Ekstraksi minyak ikan teri dan daging ayam dilakukan berdasarkan metode dari Luthfiah, *et al.* (2014). Sebanyak 50 gram sampel dihaluskan menggunakan blender lalu ditambahkan dengan 150 ml larutan metanol-kloroform (2:1). Campuran dihomogenisasi dengan blender selama satu menit. Sebanyak 90 ml akuades kemudian ditambahkan lalu dihomogenisasi kembali selama satu menit. Campuran yang telah homogen disaring dengan kertas saring dan filtrat yang diperoleh disentrifugasi pada kecepatan 1.000 rpm selama 10 menit sehingga terbentuk dua fase. Fase atas yang berupa padatan diekstraksi kembali, sedangkan fase bawah diambil dan disaring menggunakan WhatmanTM No. 1. Hasil ekstraksi kemudian dievaporasi untuk

menguapkan pelarut dan yang tersisa hanya minyak dari sampel. Evaporasi dilakukan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C dan kecepatan 120 rpm.

Ekstraksi minyak kuning telur dilakukan berdasarkan metode dari Kovalcuks (2014). Kuning telur dipisahkan dari putihnya lalu ditimbang dan dihitung volumenya. Selanjutnya, pelarut heksana-isopropanol (70:30) dicampurkan dengan kuning telur dengan perbandingan 2:1 (v/v) lalu dihomogenisasi. Campuran yang telah homogen disaring menggunakan WhatmanTM No. 1 dan pelarut pada filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 80 °C dan kecepatan 30 rpm sehingga hanya tersisa minyak kuning telur.

Metilasi minyak

Sebelum dianalisis menggunakan GC-MS, minyak perlu dimetilasi terlebih dahulu. Metilasi minyak ikan dan daging ayam dilakukan berdasarkan metode dari Sigma Aldrich (2008). Sebanyak 20 µl minyak dicampurkan dengan satu ml larutan boron trifluoride-metanol (BF₃MeOH) 14% di dalam ampul. Selanjutnya, ampul ditutup dengan metode *flame seal* lalu dimasukkan ke dalam air mendidih selama tujuh menit. Ampul didiamkan hingga mencapai suhu ruang, lalu dipatahkan dan isinya dipindahkan ke ampul baru. Pada ampul baru ditambahkan

satu ml heksana dan air hingga ampul hampir penuh. Ampul ditutup kembali dengan metode *flame seal* lalu campuran di dalamnya dihomogenkan dengan dibolak balik beberapa kali. Setelah didiamkan, campuran dalam ampul akan membentuk dua fase. Fase atas diambil lalu dipindahkan ke dalam vial GC dan disimpan pada suhu -20 °C sebelum digunakan.

Metilasi minyak kuning telur dilakukan dengan mencampurkan 25 µl minyak dan dua ml larutan boron trifluoride-metanol (BF₃MeOH) 14% di tabung reaksi. Campuran kemudian dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 60 °C selama 10 menit. Setelah didinginkan, heksana ditambahkan sebanyak satu ml air dan satu ml heksana. Campuran dihomogenkan dan didiamkan hingga terbentuk dua fase. Fase atas diambil dan dipindahkan ke dalam vial sulfat anhydrous lalu dikocok dan didiamkan hingga vial sulfat anhydrous mengendap seluruhnya. Selanjutnya, larutan dipindahkan ke vial khusus GC-MS.

Analisis GC-MS

Minyak yang telah dimetilasi dianalisis menggunakan *instrument* GC (Agilent 7890A Series). Sebanyak satu mikroliter minyak yang telah dimetilasi diinjeksikan ke dalam *instrument* GC secara otomatis. Proses injeksi dilakukan dengan

metode *splitless* pada suhu 26 °C. Pemisahan komponen pada minyak dilakukan pada kolom DB-WAX (30 m x 250 µm x 0,5 µm) dengan laju aliran helium sebagai gas pembawa sebesar 2,69 ml/ml. Kolom diatur pada suhu 50 °C untuk satu menit, lalu meningkat 2 °C/menit hingga 200 °C dan meningkat 2 °C/menit hingga 250 °C, diikuti dengan suhu konstan pada 250 °C selama 20 menit. MS dioperasikan pada mode *Selected Ion Monitoring* (SIM).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil ekstraksi dan analisis GC-MS diketahui bahwa sampel ikan teri mengandung 3 g/100 g minyak. Hal ini menunjukkan suplementasi 12 gram ikan teri pada pakan ayam (10%) setara dengan penambahan 0,36 gram minyak ikan dalam 120 gram pakan ayam (0,3%). Kandungan EPA, DHA dan ARA dalam 100 gram minyak ikan teri masing-masing sebesar 21,20; 120,50 dan 12,31 mg, sehingga dapat dinyatakan sampel ikan teri mengandung omega-3 sebesar 141,70 mg dan omega-6 sebesar 12,31 mg. Dengan demikian, rasio omega-6/omega-3 pada sampel ikan teri adalah 0,09:1. Berdasarkan

data dari Metillo & Eya (2014), ikan teri mengandung 24,71% omega-3 dan 1,40% omega-6, sedangkan data dari Nutrition Value (2020) menunjukkan bahwa ikan teri mengandung 1440 mg omega-3 dan tidak mengandung omega-6. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan omega-3 pada ikan teri lebih tinggi daripada omega-6. Adanya perbedaan kandungan omega-3 dan omega-6 kemungkinan dapat terjadi karena penggunaan jenis ikan teri, metode ekstraksi, dan analisis yang berbeda.

Selama suplementasi ikan teri pada pakan ayam dilakukan, telur dan daging diambil secara berkala setiap 1-2 bulan sekali untuk dianalisis. Kandungan omega-3 dan omega-6 pada kuning telur dan daging ayam dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1 menunjukkan bahwa kuning telur yang diambil pada bulan ke-3 dan ke-5 setelah suplementasi mengandung lebih banyak DHA daripada EPA. DHA merupakan omega-3 utama pada telur, sedangkan EPA kemungkinan besar telah diubah menjadi DHA (Fraeye, 2012). Selain itu, DHA dapat masuk ke dalam

Tabel 1. Kandungan EPA, DHA dan ARA pada satu gram minyak kuning telur

Bulan ke-	DHA (mg/g)	EPA (mg/g)	Total Omega-3 (mg/g)	ARA (mg/g)	Omega- 6/ omega-3
1	2,29	3,43	5,72	3,45	0,60
3	7,75	0,61	8,36	11,32	1,36
5	19,99	0,27	20,26	53,37	2,63

membran biologis dengan lebih baik dibandingkan EPA (Herber & Van Elswyk, 1996). Cachaldora *et al.* (2008) melakukan penambahan minyak ikan kaya EPA dan DHA pada pakan ayam secara terpisah, ternyata kedua perlakuan menghasilkan telur dengan DHA sebagai omega-3 utama.

Dari Tabel 1 juga dapat diketahui bahwa suplementasi ikan teri dapat meningkatkan kandungan total omega-3 telur dari 5,72 mg/g (bulan ke-1) menjadi 20,26 mg/g (bulan ke-5). Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Lawlor *et al.* (2010) yang melaporkan adanya peningkatan kandungan DHA pada telur setelah penambahan minyak ikan pada pakan ayam. Menurut Moran *et al.* (2019), peningkatan omega-3 telur dapat mencapai titik stabil. Namun, pada penelitian ini data masih terlihat berfluktuasi setelah 5 bulan suplementasi.

Suplementasi ikan teri ternyata tidak hanya meningkatkan kandungan

omega-3 pada kuning telur, tetapi juga kandungan omega-6. Hal ini diikuti dengan adanya peningkatan rasio omega-6/omega-3. Hasil ini berbeda dengan penelitian oleh Omidi *et al.* (2015) yang menyatakan penambahan minyak ikan dapat menurunkan rasio omega-6/omega-3 pada kuning telur Sampel ikan teri yang digunakan memang mengandung omega-6 ARA (12,31 mg/ 100 g), tetapi jauh lebih rendah dari kandungan omega-3. Pakan ayam komersil yang digunakan kemungkinan mengandung sumber omega-6 lain, seperti Bungkil Kacang Kedelai (BKK) atau *soybean meal* (Alagawany *et al.*, 2019)

Tabel 2 menunjukkan bahwa daging ayam dengan total minyak paling banyak setelah lima bulan suplementasi adalah bagian paha atas (7 g/100g), sedangkan bagian dada mengandung total minyak paling sedikit (3 g/100 g). Selama suplementasi ikan teri, data omega-3 dan

Tabel 2. Kandungan EPA, DHA dan ARA pada 100 gram daging ayam

Sampel	Bulan ke-	Total minyak (g)	EPA (mg)	DHA (mg)	Total omega-3 (mg)	ARA (mg)	Omega-6/omega-3
Dada	3	4	0,32	10,52	10,83	72,53	6,69
	4	5	0,40	4,48	4,87	24,71	5,07
	5	3	0,34	22,44	22,78	72,08	3,16
Paha atas	3	4	0,18	1,50	1,68	8,93	5,33
	4	7	0,48	21,82	22,29	106,70	4,77
	5	7	0,32	6,98	7,30	28,08	3,85
Paha bawah	3	7	1,25	6,66	6,98	26,42	3,78
	4	3	0,14	1,02	1,16	8,53	7,38
	5	5	0,62	25,05	23,67	107,89	4,56

omega-6 pada daging ayam berfluktuasi. Meskipun demikian, rasio omega-6/omega-3 pada dada dan paha atas semakin rendah seiring dengan periode suplementasi yang semakin lama. Hal ini sejalan dengan penelitian dari Al-Zuhairy & Jameel (2014), yang menyatakan penambahan minyak ikan pada pakan ternak dapat menghasilkan daging yang diperkaya dengan omega-3.

KESIMPULAN

Selama lima bulan suplementasi ikan teri pada pakan ayam dapat dilihat bahwa semakin lama periode suplementasi, semakin tinggi kandungan omega-3 (khususnya DHA) dan omega-6 pada kuning telur. Dibandingkan bulan pertama, kandungan omega-3 dan omega-6 telur pada bulan kelima meningkat masing-masing 3,5 dan 15,5 kali lipat. Pada daging ayam (dada, paha atas, paha bawah) belum terlihat adanya korelasi antara periode suplementasi dengan kandungan omega-3 dan omega-6. Meskipun demikian, rasio omega-6/omega-3 pada dada dan paha atas semakin rendah seiring dengan periode suplementasi yang semakin lama.

SARAN

Data kandungan omega-3 dan omega-6, terutama pada daging ayam, mengalami fluktuasi yang kemungkinan disebabkan oleh adanya penguapan pelarut pada sampel. Oleh karena itu, pada

penelitian selanjutnya diperlukan adanya kontrol internal dengan konsentrasi yang sudah diketahui pada setiap sampel. Selain itu, perlu penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi kemungkinan sumber omega-6 yang terdapat di pakan ayam komersil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM UPH yang telah memberi dukungan finansial untuk penelitian ini (P-079-S/FaST/III/2020). Selain itu, penulis berterima kasih kepada Rizky Farm dan Program Studi Biologi UPH karena telah menyediakan Laboratorium Biologi Dasar (203) dan Laboratorium Biologi Lanjutan (407) sebagai tempat berlangsungnya penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Alagawany, M., Elnesr, S.S., Farag, M.R., Abd El-Hack, M.E., Khafaga, A.F., Taha, A.E., Tiwari, R., Yatoo, M.I., Bhatt, P., Khurana, S.K., & Dhaman, K. (2019). Omega-3 and Omega-6 Fatty Acids in Poultry Nutrition: Effect on Production Performance and Health. *Animals*, 9(8), 573. <https://doi.org/10.3390/ani9080573>
- Al-Zuhairy, M.A., & Jameel, Y.J. (2014). Effect of ND vaccine, multivitamins AD3E, and omega-3 on performance and immune response of broilers. *Mirror of Research in Veterinary Sciences and Animals*, 3, 42–50.
- Cachaldora, P., Garcia-Rebollar, P., Alvarez, C., De Blas, J.C., & Mendez, J. (2008). Effect of type and level of basal fat and level of fish oil

- supplementation on yolk fat composition and n-3 fatty acids deposition efficiency in laying hens. *Animal Feed Science and Technology*, 141, 104–114. <https://doi.org/10.1080/00071660500475541>
- Fraeye, I., Bruneel, C., Lemahieu, C., Buyse, J., Muylaert, K., & Foubert, I. (2012). Dietary enrichment of eggs with omega-3 fatty acids: A review. *Food Research International*, 48, 961-969. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.03.014>
- Herber, S.M., & Van Elswyk, M.E. (1996). Dietary marine algae promotes efficient deposition of n-3 fatty acids for the production of enriched shell eggs. *Poultry Science*, 75, 1501–1507. <https://doi.org/10.3382/ps.0751501>
- Innes, J.K., & Calder, P.C. (2018). Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 132, 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.03.004>
- Lawlor, J.B., Gaudette, N., Dickson, T., & House, J.D. (2010). Fatty acid profile and sensory characteristics of table eggs from laying hens fed diets containing microencapsulated fish oil. *Animal Feed Science and Technology*, 156, 97–103. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.anifeedsci.2010.01.003>
- Luthfiah, Genisa, J., Metusalach, Abustam, E., Sabahannur, S., & Ramadhan, W. (2014). Analysis quality fish oil (*Decapterus* sp.) containing omega-3 using extraction method (Steam Press) and (Bligh and Dyer). *Advances in Environmental Biology*, pp. 923.
- Kovalcuks, A. (2014). Solvent extraction of egg oil from liquid egg yolk. Annual 20th International Scientific Conference Proceedings (pp. 142-147). Jelgava, Latvia.
- Metillo, E.B., & Eya, A.A.A. (2014). Fatty Acids in Six Small Pelagic Fish Species and Their Crustacean Prey from the Mindanao Sea, Southern Philippines. *Tropical Life Sciences Research*, 25, 105-115.
- Meyer, B.J., Mann, N.J., Lewis, J.L., Milligan, G.C., Sinclair, A.J., & Howe, R.C. (2003). Dietary Intakes and Food Sources of Omega-6 and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Lipids*, 38, 391-392. <https://doi.org/10.1007/s11745-003-1074-0>
- Moran, C.A., Mauro, M., Keegan, J.D., & Fusconi, G. (2019). Increasing the omega-3 content of hen's eggs through dietary supplementation with *Aurantiochytrium limacinum* Microalgae: Effect of inclusion rate on the temporal pattern of docosahexaenoic acid enrichment, efficiency of transfer, and egg characteristics. *Journal of Applied Poultry Research*, 28, 329-338. <https://doi.org/10.3382/japr/pfy075>
- Mozaffarian, D., & Wu, J. H. (2011). Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *Journal of the American College of Cardiology*, 58(20), 2047–67. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.06.063>
- NutritionValue. (2020). *Fish, raw, european, anchovy*. Retrieved from: https://www.nutritionvalue.org/Fish%2C_raw%2C_european%2C_anchovy_nutritional_value.html. Accessed on 7/9/2020.
- Omidi, M., Rahimi, S., & Torshizi, M.A.K. (2015). Modification of egg yolk fatty acids profile by using different oil

- sources. *Veterinary Research Forum*, 6, 137-141.
- Olsen, S.F., Osterdal, M.L., Salvig, J.D., Mortensen, L. M., Rytter, D., Secher, N. J., & Henriksen, T. B. (2008). Fish oil intake compared with olive oil intake in late pregnancy and asthma in the offspring: 16 y of registry-based follow-up from a randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88, 167–75. <https://doi.org/10.1093/ajcn/88.1.167>
- Sigma. (2008). *Fatty Acid / FAME Application Guide: Analysis of Foods for Nutritional Needs*. Retrieved from https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/General_Information/t408126.pdf. Accessed on 24/4/2019.
- Simopoulos, A.P. (2008). Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science*, 79, 961-970. <https://doi.org/10.1093/ps/79.7.961>
- Sugata, M., Atmadja, A., Darmawan, A., Tatulus, Y., Djojo, S.C., Rizkinata, D., Rosa, D., Victor, H., & Tan, T.J. (2020). The effect of anchovy fish supplementation on the level of n-3 LC-PUFA in egg yolk. *Journal of World's Poultry Research*, 10(4), 599-604. <https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2020.68>