

Pengaruh penambahan kolin klorida pada pakan terhadap kadar kolesterol dan lipoprotein darah sapi perah laktasi

Indra Sofiana Hesti, Agung Subrata, dan Dian Wahyu Harjanti

Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro
Tembalang 50275, Semarang, Indonesia

E-mail: dianharjanti@undip.ac.id

ABSTRACT: The purpose of this study was to evaluate the effects of choline chloride addition in feed on cholesterol, low density lipoprotein (LDL), and high density lipoprotein (HDL) levels in blood of lactating dairy cow, as indicator of lipid anabolism in the body. Eight of lactating dairy cows (61 to 91 days in milk; 2nd lactation period and 456 ± 31 kg of BW average as equal to 99 ± 5 kg $BW^{0.75}$) were fed total mixed diet containing Napier grass and concentrate (40:60) and additive 30 g/d choline chloride 60% corn-cob as 18 g/d choline chloride (as equal to 0.02 % $BW^{0.75}$). The experiment was set as cross-over designs with two experiments and eight replications. The treatments were $T_0 = 0$ g/d choline chloride and $T_1 = 30$ g/d choline chloride, within 2 periods in which each period was 4 weeks and the data was analyzed using analysis of variance (ANOVA). The results showed that the addition of 30 g/d choline chloride in feed did not affect ($P > 0,05$) the cholesterol, LDL and HDL levels in blood of lactating dairy cows. The conclusion of this study was the choline chloride addition in feed did not increase cholesterol, LDL, and HDL levels in blood of lactating dairy cows as the indicator of lipid anabolism.

Keywords: choline chloride, cholesterol, LDL, HDL, dairy cow.

PENDAHULUAN

Produktivitas sapi perah yang masih rendah disebabkan oleh faktor rendahnya kualitas pakan. Salah satu alternatif perbaikan pakan untuk menunjang produktivitas sapi perah adalah penambahan *additive* pakan seperti kolin yang merupakan β -hidroksietil trimetil amonium yang digolongkan kedalam golongan vitamin B kompleks. Kolin yang terdapat didalam pakan berupa lesitin dan membantu menyediakan Asetil KoA sebagai prekursor sintesis kolesterol darah. Kolin merupakan bagian fosfatidilkolin dari fosfolipid penyusun

lipoprotein (LDL dan HDL) yang berfungsi dalam pengangkutan asam lemak dalam darah (Pinotti *et al.*, 2002; Zeizel and da Costa, 2009).

Produksi susu sapi perah mencapai puncak diikuti dengan menurunnya kualitas susu. Peran kolin pada sapi perah adalah meningkatkan efisiensi pemanfaatan energi dari karbohidrat maupun dari katabolisme lemak dalam menghasilkan glukosa. Kolin berperan sebagai donor grup metil dalam katabolisme lemak untuk menghasilkan energi dan berperan sebagai penyedia prekursor untuk sintesis kolesterol dan lipoprotein darah

(LDL dan HDL) dalam anabolisme lemak (Zeizel and da Costa, 2009). Efisiensi energi yang tinggi berimplikasi pada tingginya produksi susu dan anabolisme lemak yang tinggi berimplikasi pada tingginya kadar lemak susu. Hal tersebut menjadikan kolin sebagai *feed additive* yang perlu ditambahkan pada pakan sapi perah.

Kolin mengalami degradasi secara utuh didalam rumen, oleh sebab itu harus diproteksi berupa *Rumen Protected Choline* (RPC) (Pinotti *et al.*, 2002; Baldi and Pinotti, 2006) atau berupa produk kolin klorida *corn-cob* (kandungan kolin klorida 60% dan tepung jagung 40%) yang merupakan produk kolin terproteksi rumen sehingga kolin dapat terserap secara langsung oleh ternak. Penambahan kolin klorida pada pakan sapi perah diharapkan dapat membantu meningkatkan efisiensi penggunaan energi melalui katabolisme lemak dan meningkatkan anabolisme lemak dengan indikator peningkatan kadar kolesterol darah dan lipoprotein darah (LDL dan HDL) sehingga produksi susu dan lemak susu meningkat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian kolin klorida pada pakan terhadap kadar kolesterol, LDL, dan HDL pada darah sebagai indikator anabolisme lemak. Hipotesis penelitian adalah penambahan

kolin klorida pada pakan dapat meningkatkan kadar kolesterol, LDL, dan HDL darah sapi perah laktasi.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 28 Desember 2015 - 6 Maret 2016 di kandang milik Kelompok Tani Ternak (KTT) Wahyu Agung, Desa Sumogawe, Kecamatan Getasan, Kabupaten Semarang.

Materi penelitian adalah 8 ekor sapi perah laktasi bulan ke-3 dan ke-4 dengan periode laktasi II. Bobot badan rata-rata sapi perah adalah 456 ± 31 kg (99 ± 5 kg $BB^{0,75}$). Pakan terdiri dari rumput gajah dan konsentrat (WA Feed) (dengan imbang 40:60) yang mengandung Protein Kasar (PK) 13% dan *Total Digestible Nutrients* (TDN) 63% serta pemberian 30 g/ekor/hari *additive* kolin klorida 60% *corn-cob* setara dengan 18 g/ekor/hari kolin klorida ($0,02\%$ $BB^{0,75}$) mengacu pada penelitian sebelumnya (Hartwell *et al.*, 2000; Pinotti *et al.*, 2002; and Xu *et al.*, 2006). Alat pengambilan sampel darah menggunakan spuit, tabung non EDTA, refrigerator, dan *cooling box*.

Tahap persiapan penelitian dilakukan dengan analisis proksimat bahan pakan yaitu rumput gajah dan konsentrat (WA Feed) (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil analisis proksimat bahan pakan sapi perah laktasi (%)

No.	Bahan pakan	Nutrien				
		BK ^a	TDN	PK ^d	SK ^a	LK ^a
1.	Rumput Gajah	15,32	57,33 ^b	8,01	33,06	2,72
2.	Konsentrat WA Feed	88,39	69,54 ^c	16,70	19,92	4,55

- Sumber :
- Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, 2015.
 - Perhitungan TDN berdasarkan rumus Hartadi *et al.*, 1980.
 - Perhitungan TDN berdasarkan rumus Sutardi, 1979.
 - Laboratorium Ekologi dan Produksi Tanaman Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, 2015.

Recording bobot badan dan produksi susu harian setiap ekor sapi perah dilakukan untuk menyusun formulasi ransum perlakuan T₀ dan T₁ (Tabel 2). Pengelompokan 8 sapi dibagi menjadi 2 kelompok (untuk perlakuan T₀ = 4 ekor dan T₁ = 4 ekor).

Sapi perah diberi pakan hijauan 2 kali sehari yaitu pukul 08.00 WIB dan 16.00 WIB serta diberi pakan konsentrat 4 kali sehari yaitu pukul 04.00 WIB, 07.00 WIB, 13.00 WIB, dan 15.00 WIB.

Tabel 2. Formulasi ransum pakan sapi perah laktasi (%)

No.	Bahan pakan	Nutrien					
		Rasio	BK	TDN	PK	SK	LK
1.	Rumput Gajah	40	6,12	22,93	3,20	13,22	1,08
2.	Konsentrat WA <i>Feed</i>	60	53,03	41,72	10,02	11,95	2,73
Jumlah		100	59,16	64,65	13,22	25,18	3,82

Keterangan : BK= Bahan Kering, PK= Protein Kasar, LK= Lemak Kasar, SK= Serat Kasar, TDN= *Total Digestible Nutrient*

Pemberian air secara *ad-libitum* dengan *nipple cup*. Tahap adaptasi pakan bertujuan untuk menjaga konsumsi pakan sapi perah agar stabil. Kolin klorida 60% *corn-cob* 30 g/ekor/hari diberikan pada konsentrat pagi hari. Adaptasi pakan dengan formulasi ransum baru dilakukan selama 2 minggu.

Tahap perlakuan 2 periode dengan masa setiap periode adalah 4 minggu. Sapi kelompok I diberikan perlakuan T₀ dan sapi kelompok II diberikan perlakuan T₁ pada periode ke-1. Tahap adaptasi pakan dilakukan kembali pada periode ke-2 selama 2 minggu untuk menghilangkan pengaruh pakan sebelumnya kemudian dilanjutkan perlakuan periode ke-2. Perlakuan periode ke-2 dibalik sehingga sapi kelompok I diberikan perlakuan T₁ dan sapi kelompok II diberikan perlakuan T₀. Pengambilan sampel darah dilakukan 4 jam setelah diberi pakan (Sharma and Erdman, 1991) dan dilakukan setiap akhir periode melalui vena jugularis sapi perah. Tabung non EDTA dan *cooling box* digunakan sebagai tempat sampel.

Analisis kadar total kolesterol, LDL, dan HDL darah dengan Endpoint

Method dilakukan di Rumah Sakit Hewan dr. Soeparwi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Analisis kadar LDL darah ditentukan dengan rumus Friedewald. Perhitungan rumus kadar LDL darah sebagai berikut:

$$LDL = \text{Total Kolesterol} - \left(HDL + \frac{\text{Trigliserida}}{5} \right)$$

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian menggunakan *Cross-over designs* (Neter *et al.*, 1990). Data hasil penelitian dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA). Parameter yang diamati: 1) konsumsi bahan kering pakan, 2) konsumsi lemak kasar pakan, 3) kadar kolesterol darah 4) kadar LDL darah, dan 5) kadar HDL darah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian pengaruh penambahan 30 g/ekor/hari kolin klorida 60% *corn-cob* pada pakan sapi perah diperoleh data konsumsi BK dan LK pakan, serta kadar kolesterol, LDL, dan HDL darah sapi perah laktasi yang ditampilkan pada Tabel 3.

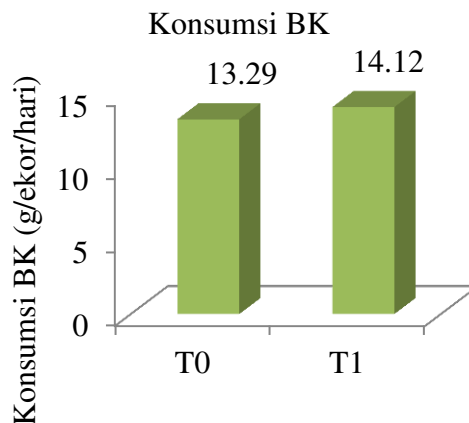
Tabel 3. Rata-rata konsumsi BK, LK, kadar kolesterol, LDL, dan HDL darah sapi perah laktasi

Parameter	Perlakuan	
	T ₀	T ₁
Konsumsi BK (kg/ekor/hari)	13,29 ± 2	14,12 ± 2
Konsumsi LK(g/ekor/hari)	510 ± 82	540 ± 80
Kadar Kolesterol Total (mg/dl)	159,37 ± 21	161,43 ± 22
Kadar LDL darah (mg/dl)	74,77 ± 12	80,21 ± 16
Kadar HDL darah (mg/dl)	70,52 ± 17	67,48 ± 25

Konsumsi bahan kering

Tabel 3 menunjukkan bahwa penambahan 30 g/ekor/hari kolin klorida 60% *corn-cob* tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap konsumsi BK. Rata-rata konsumsi BK T₀ adalah 13,29±2 kg/ekor/hari dan T₁ adalah 14,12±2 kg/ekor/hari (lihat Gambar 1). Konsumsi BK pakan telah memenuhi kebutuhan BK sesuai bobot badan pada sapi perah kedua perlakuan T₀ dan T₁, yaitu 3% dari bobot badan. Menurut National Research Council (2001), konsumsi BK sapi perah berkisar 2,25-4,32% dari bobot badan. Konsumsi BK mengalami peningkatan

0,83 kg pada penambahan 30 g/ekor/hari kolin klorida 60% *corn-cob*. Peran kolin untuk meningkatkan efisiensi pemanfaatan energi mengakibatkan peningkatan laju metabolisme. Konsumsi BK tidak dipengaruhi oleh laju metabolisme tapi dipengaruhi oleh tipe pakan dan pencernaan (Nurwantara dkk., 2005). Penambahan RPC 40 g/ekor/hari dapat meningkatkan konsumsi BK sebesar 0,3 kg (Davidson, 2008) dan penambahan RPC 25 g/ekor/hari secara signifikan dapat meningkatkan konsumsi BK sebesar 2,2 kg (Chung *et al*, 2009).



Gambar 1. Nilai rata-rata konsumsi bahan kering pakan

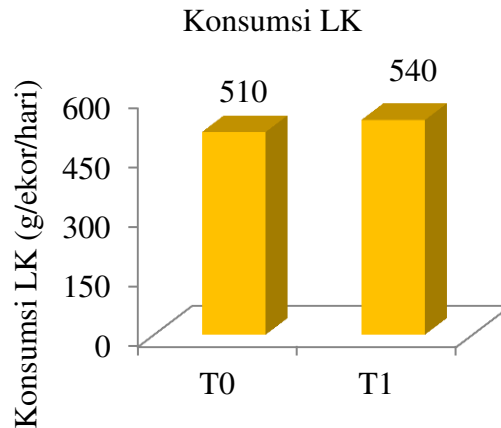
Konsumsi lemak kasar

Penambahan 30 g/ekor/hari kolin klorida 60% *corn-cob* tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap konsumsi LK pakan (lihat Tabel 3). Rata-rata konsumsi LK pakan T₀ adalah 510±82 g/ekor/hari dan T₁ adalah 540±80

g/ekor/hari (lihat Gambar 2). Konsumsi BK yang tidak ber-pengaruh menjadikan konsumsi LK juga tidak berpengaruh. Penambahan kolin klorida 60% *corn-cob* 30 g/ekor/hari meningkatkan konsumsi LK 30 g. Konsumsi lemak kasar pakan dapat mempengaruhi kadar kolesterol

dan lipoprotein darah. Anabolisme lemak meningkat melalui beta oksidasi didalam hati menghasilkan asam lemak kemudian diangkut didalam darah dengan membentuk lipoprotein. Konsumsi lemak jenuh pakan dapat meningkatkan kadar total kolesterol darah dan LDL darah (Sejrsen *et al.*,

2008). Konsumsi pakan adalah faktor penentu fungsi dan respon ternak serta penggunaan nutrisi pakan. Absorpsi lemak (trigliserida dan kolesterol) terjadi di usus halus lalu mengikuti aliran darah dan bergabung dengan protein (apoprotein) membentuk lipoprotein (Astuti dkk., 2009).

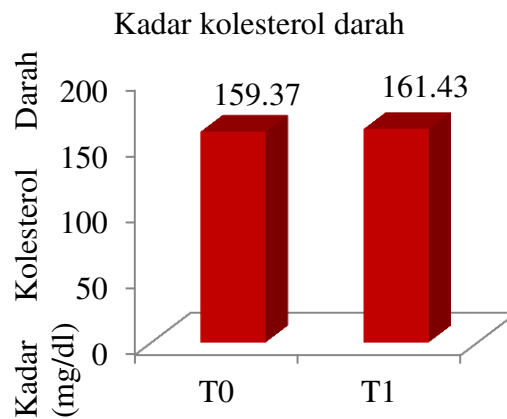


Gambar 2. Nilai rata-rata konsumsi lemak kasar pakan

Kadar kolesterol darah

Penambahan 30 g/ekor/hari kolin klorida 60% *corn-cob* tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar kolesterol darah sapi perah laktasi (lihat Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan Asetil KoA untuk katabolisme lemak dalam meningkatkan efisiensi pemanfaatan energi lebih tinggi dibandingkan untuk anabolisme lemak dalam mensintesis kolesterol. Kolesterol dibentuk didalam hati dan dari lemak pakan yang diserap oleh usus halus dalam bentuk kilomikron (Adipratama, 2014). Konsentrasi trigliserida lebih tinggi pada sapi dengan pemberian kolin klorida tinggi menyebabkan tingkat glukoneogenesis lebih baik sehingga membantu pembentukan glikogen dari hidrolisis untuk digunakan sebagai sumber glukosa (Awwad *et al.*, 2014).

Kadar kolesterol total rata-rata T_0 adalah $159,37 \pm 21$ mg/dl dan rata-rata T_1 adalah $161,43 \pm 22$ mg/dl (lihat Gambar 3). Penambahan 30 g/ekor/hari kolin klorida 60% *corn-cob* menunjukkan kadar kolesterol darah yang cenderung tinggi namun masih berada dalam batas normal. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan peningkatan anabolisme lemak untuk sintesis kolesterol. Kadar kolesterol darah dipengaruhi konsumsi BK dan LK pakan yang menyediakan prekursor kolesterol, yaitu Asetil-KoA dari glukosa serta katabolisme asam lemak dan asam amino di mitokondria (Marks dkk., 2000). Kadar normal kolesterol dalam darah sapi perah berkisar 130-200 mg/dl (Weatherby and Ferguson, 2002).



Gambar 3. Nilai rata-rata kadar kolesterol darah

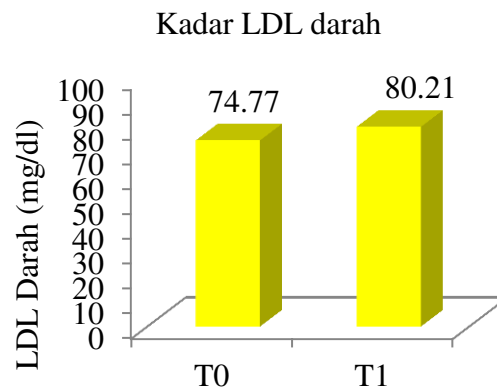
Kadar LDL darah

Penambahan kolin klorida 60% *corn-cob* 30 g/ekor/hari tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar LDL darah sapi perah laktasi (lihat Tabel 3) yang menunjukkan bahwa peran kolin menghasilkan fosfatidilkolin cenderung untuk katabolisme lemak dalam menghasilkan energi. Konsentrasi total solid susu cenderung meningkat seiring dengan peningkatan pemberian RPC (Piepenbrink and Overton, 2003). Penambahan RPC 45 g/ekor/hari (setara dengan 20 g/ekor/hari kolin klorida) meningkatkan produksi susu 2,9 kg dan kadar lemak susu 3,5% (Pinotti *et al.*, 2004).

Kadar LDL rata-rata T_0 adalah $74,77 \pm 12$ mg/dl dan T_1 adalah $80,21 \pm 16$ mg/dl (lihat Gambar 4). Kadar LDL darah dengan penambahan kolin klorida 60% *corn-cob* 30 g/ekor/hari meningkat namun masih dalam batas nilai normal. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan anabolisme lemak dalam sintesis LDL. Kolin berperan sebagai fosfatidilkolin dalam sekresi *Non Esterified Fatty Acid* (NEFA) dan trigliserida dalam bentuk *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) kemudian menjadi LDL. LDL merupakan prekursor lemak susu. Penam-

bahan RPC 45 g/ekor/hari meningkatkan sintesis *de novo* yang ditunjukkan oleh tampilan lemak susu tinggi karena tingginya asam lemak dari darah yang disekresikan melalui VLDL (Xu *et al.*, 2006). Penambahan RPC 45 g/ekor/hari (25% kolin klorida) meningkatkan sintesis VLDL serta sekresi NEFA dari hati (Piepenbrink and Overton, 2003). Kolin menyediakan donor grup metil sintesis karnitin yang merupakan komponen untuk oksidasi asam lemak sehingga NEFA tidak terakumulasi didalam hati (Baldi and Pinotti, 2006). Suplai metionin oleh kolin berfungsi menyediakan profil asam amino untuk sintesis VLDL dan fosfatidilkolin (fosfolipid utama) lapisan permukaan VLDL untuk pengangkutan dan pembungkus lemak (Etcheverry, 2014).

LDL berfungsi mengangkut lemak dari hati ke jaringan dan dipengaruhi oleh kadar kolesterol dan konsumsi lemak pakan. LDL merupakan lipoprotein densitas rendah yang berfungsi membawa asam lemak dari hati ke jaringan ambing. Kadar normal LDL darah sapi perah berkisar antara 60-130 mg/dl dan mengandung 10% trigliserida serta 50% kolesterol (Weatherby and Ferguson, 2002).



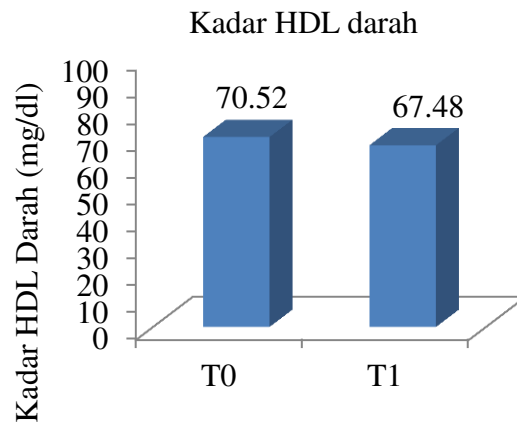
Gambar 4. Nilai rata-rata kadar *low density lipoprotein* darah

Kadar HDL darah

Penambahan kolin klorida 60% *corn-cob* 30 g/ekor/hari tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap kadar HDL darah sapi perah laktasi (lihat Tabel 3). Kadar HDL rata-rata T_0 adalah $70,52\pm 17$ mg/dl dan T_1 adalah $67,48\pm 25$ mg/dl (lihat Gambar 5). Kadar HDL darah sapi perah laktasi dengan penambahan 30 g/ekor/hari kolin klorida 60% *corn-cob* cenderung rendah dalam batas normal yang menunjukkan bahwa prekursor pembentukan HDL yaitu fosfatidilkolin digunakan untuk katabolisme energi sehingga untuk anabolisme lemak yaitu sintesis HDL belum tersedia. Kadar normal HDL dalam darah berkisar 40-90 mg/dl (Weatherby and Ferguson, 2002).

Kadar HDL darah dipengaruhi oleh konsumsi LK pakan dan ketersediaan prekursor sintesis HDL yaitu fosfatidilkolin sebagai susunan fosfolipid. HDL merupakan lipoprotein rendah kolesterol dan tinggi protein yang berfungsi membawa kolesterol dari jaringan ke hati. Tingginya konsumsi LK

menyebabkan konsentrasi asam lemak dalam darah tinggi sehingga memungkinkan kadar LDL lebih tinggi dibandingkan kadar HDL darah. Pemecahan HDL berlangsung didalam hati melalui jalur transport HDL yaitu dengan berinteraksi melalui VLDL dan LDL dengan enzim *Cholesterol Ester Transfer Protein* (CETP) yang merupakan glikoprotein plasma untuk pertukaran ester kolesterol pada HDL dengan trigliserida pada LDL (Lamanepa, 2005). HDL berperan penting dalam mobilisasi NEFA dari pakan untuk dibawa ke hati. Kolin adalah prekursor fosfatidilkolin, yakni suatu fosfolipid utama dalam lipoprotein densitas tinggi atau HDL (Zeizel and da Costa, 2009). NEFA diambil dari pakan untuk diangkut menuju hati dalam bentuk ikatan lipoprotein, yaitu HDL. Kolin klorida merupakan bagian dari fosfolipid utama HDL yang disintesis di hati melalui jalur transport HDL (Etcheverry, 2014).



Gambar 5. Nilai rata-rata kadar *high density lipoprotein* darah

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian adalah penambahan 30 g/hari/ekor kolin klorida 60% *corn-cob* belum mampu meningkatkan kadar kolesterol, *low density lipoprotein*, dan *high density lipoprotein* darah sapi perah laktasi sebagai indikator anabolisme lemak. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengetahui level penambahan kolin yang tepat pada pakan sapi perah.

DAFTAR PUSTAKA

- Adipratama, I. K. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dan sivastatin terhadap kadar kolesterol HDL tikus *Sprague dawley* dengan pakan tinggi lemak. Program Pendidikan Sarjana kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. (Laporan Hasil Karya Tulis Ilmiah).
- Astuti, A., A. Agus, dan S. P. S. Budhi. 2009. Pengaruh penggunaan high quality feed supplement terhadap konsumsi dan pencernaan nutrisi sapi perah awal laktasi. *Buletin Peternakan* 33(2), 81-87. ISSN 0126-4400.
- Awwad, H. M., S. H. Kirsch, J. Geisel, and R. Obeid. 2014. Measure-

ment of concentrations of whole blood levels of choline, betaine, and dimethylglycine and their relations to plasma levels. *J. Chromatogr. B* 957 (2014), 41-45. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.02.030.

- Baldi, A. and L. Pinotti. 2006. Choline metabolism in high-producing dairy cows: Metabolic and nutritional basis. *Canadian J. Anim. Sci.* 86(2), 207-212. doi:10.4141/A05-061.
- Chung, Y. H., N. Brown, C. Martinez, T. Cassidy, and G. Varga. 2009. Effects of rumen-protected choline and dry propylene glycol on feed intake and blood parameters for Holstein dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 92(6), 2729-2736. doi: 10.3168/jds.2008-1299.
- Davidson, S., B. Hopkins, J. Odle, C. Brownie, V. Fellner, and L. Whitlow. 2008. Supplementing limited methionine diets with rumen-protected methionine, betaine, and choline in early lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 91(4), 1552-1559.
- Etcheverry, V. M. A. 2014. Absorption and utilization of choline and Vitamin B12 in lactating dairy

- cows using different delivery methods. Doctoral Dissertations, University of Tennessee, Knoxville.
- Hartwell, J. R., M. J. Cecava, and S. S. Donkin. 2000. Impact of dietary rumen undegradable protein and rumen-protected choline on intake, peripartum liver triacylglyceride, plasma metabolites, and milk production in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83(12), 2907-2917. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75191-5
- Lamanepa, M. E. L. 2005. Perbandingan profil lipid dan perkembangan lesi aterosklerosis pada tikus Wistar yang diberi diet perasan pare dengan diet perasan pare dan statin. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, Semarang. (Tesis Magister Biomedik).
- Marks, D. B., A. D. Marks, dan C. M. Smith. 2000. Biokimia kedokteran dasar sebuah pendekatan klinis. EGC. Jakarta.
- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Seventh revised edition. National Academy Press, Washington D.C.
- Neter, J. A., W. Wasserman, and M. H. Kutner. 1990. Applied linear statistical models. Third edition. Irwin, Homewood, Illinois.
- Nurwantara, L. K., M. Soejono, R. Utomo, dan B. P. Widyobroto. 2005. Kecernaan nutrisi ransum prekursor nitrogen dan energi tinggi pada sapi perah yang diberikan pakan basal jerami padi. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 30(3), 172-178.
- Piepenbrink, M. S. and T. R. Overton. 2003. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 86(5), 1722-1733. doi: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73758-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73758-8)
- Pinotti, L., A. Baldi, and V. Dell'Orto. 2002. Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high-yielding dairy cow. *Nut. Research Reviews* 047(15), 315-331. doi: 10.1079/NRR200247
- Pinotti, L., A. Baldi, I. Politis, R. Rebucci, L. Sangalli, and V. Dell'Orto. 2004. Rumen-protected choline administration to transition cows: Effects on milk production and Vitamin E status. *J. Vet. Med. series A* 50(1), 18-21. doi: 10.1046/j.1439-0442.2003.00502.x
- Sharma, B. K., and J. W. Erdman. 1991. Effect of dietary rumen-protected choline in lactating dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 74(5):1641-1647. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(91)78326-4.
- Sejrsen, K., T. Hvelplund, and M. O. Nielsen. 2008. Ruminant physiology. Wageningen Academic Publishers, Netherland.
- Weatherby, D. And S. Ferguson. 2002. Blood chemistry and CBC analysis clinical laboratory testing from a functional perspective. Bear mountain publishing, United State of America.
- Xu, G., J. An Ye, L. Jianxin and Y. Yu. 2006. Effect of rumen-protected choline addition on milk performance and blood metabolic parameters in transition dairy cows. *J. Anim. Sci.* 19(1), 390-395.

Zeizel, S. H. and K. A. Da Costa. 2009.
Choline: An essential nutrient for
public health. *Nutrition Review*.

67(11), 615-623. doi:
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00246.x>