

# PENGARUH PROBIOTIK *LACSACPRO* TERHADAP PRODUKSI DAN BOBOT TELUR ITIK YANG DIPELIHARA SECARA TERKURUNG

Imam Suswoyo\* dan Elly Tugiyanti

Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

\*Email korespondensi: imam.suswoyo@unsoed.ac.id

**Abstrak.** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui komposisi mikroba dalam probiotik multy strains *Lacsacpro* (kombinasi antara bakteri *Lactobacillus sp.* dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae*) yang optimal untuk itik petelur yang dipelihara secara terkurung dari sudut produksi dan bobot telur. Penelitian terdiri dari 2 tahap yaitu: Tahap 1: perakitan probiotik *Lacsacpro* yang paling efektif dengan cara rekayasa jumlah bahan sumber mikroba. Sampel probiotik *Lacsacpro* yang dihasilkan kemudian dianalisa kandungan masing-masing mikroba secara kuantitatif, sehingga diketahui secara pasti rata-rata populasinya. Tahap 2: uji coba *Lacsacpro* hasil tahap pertama (*Lacsacpro-1*, *Lacsacpro-2*, *Lacsacpro-3*) pada itik periode produksi. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap. Sebagai perlakuan adalah pemberian *Lacsacpro-1* (L-1), *Lacsacpro-2* (L-2), dan *Lacsacpro-3* (L-3) masing-masing sebanyak 5 ml/kg pakan. Setiap perlakuan diulang 6 kali jadi terdapat 18 petak kandang yang berisi 30 ekor itik periode produksi tiap petak, sehingga secara keseluruhan digunakan 540 ekor. Probiotik dicampurkan dalam air untuk mencampur pakan dan diberikan setiap pagi. Perlakuan diberikan selama 3 bulan. Peubah yang diukur yaitu produksi telur (persentase HDP) dan bobot telur. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis variansi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa berdasarkan analisa laboratorium diperoleh populasi *Lactobacillus sp.* pada L-1, L-2 dan L-3 berturut-turut adalah  $1.62 \times 10^6$ ,  $1.45 \times 10^6$ , dan  $1.31 \times 10^6$ . Sedangkan untuk species *Saccharomyces cerevisiae* pada L-1, L-2 dan L-3 masing-masing adalah  $1.33 \times 10^6$ ,  $1.38 \times 10^6$ , dan  $1.23 \times 10^6$ . Rata-rata produksi telur adalah  $65,14 + 6,32\%$  berkisar antara 46,5 sampai 81,73%. Berat telur berkisar antara 66,34 – 77,33 gram, dengan rata-rata  $71.73 + 6.077$  gram. Hasil analisa statistik memperlihatkan bahwa perlakuan berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap parameter yang diuji. Disimpulkan bahwa probiotik L-1, L-2 dan L-3 memiliki pengaruh yang sama terhadap produksi dan bobot telur.

**Kata kunci:** itik, probiotik, produksi telur, bobot telur

**Abstract.** The purpose of this study was to determine the optimal microbial composition in *Lacsacpro* probiotics (a combination of *Lactobacillus sp.* bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* yeast) that is optimal for laying ducks reared in confinement from the point of egg production and weight. This research consisted of 2 research phases, namely: Stage 1: assembling the most effective *Lacsacpro* probiotic by engineering the amount of microbial source material. The resulting *Lacsacpro* probiotic samples were then analyzed for the content of each microbe quantitatively so that the average population was known. Stage 2: the result of the first stage was used as a feed supplement for ducks during the production period. The research was conducted using an experimental method with a completely randomized design. As treatment was the administration of L-1, L-2 dan L-3 as much as 5 ml/kg of feed. Each treatment was replicated 6 times so there were 18 cage plots containing 30 ducks each plot, so a total of 540 ducks were used. Probiotics were mixed in water to mix the feed and given every morning. The treatment was given for 3 months. The variables measured were duck egg production (% HDP) and egg weight. The data obtained were analyzed using analysis of variance. Based on laboratory analysis, the population of *Lactobacillus sp.* in L-1, L-2 and L-3 were  $1.62 \times 10^6$ ,  $1.45 \times 10^6$ , and  $1.31 \times 10^6$  respectively. Meanwhile, for *Saccharomyces cerevisiae* in L-1, L-2 and L-3 were  $1.33 \times 10^6$ ,  $1.38 \times 10^6$ , and  $1.23 \times 10^6$ . The average egg production was  $65.14 + 6.32\%$  ranging from 46.5 to 81.73%. Egg weight ranged from 66.34 to 77.33 grams, with an average of  $71.73 + 6.077$ . The results of the statistical analysis showed that the treatment had no significant effect ( $P > 0.05$ ) on the parameters tested. It was concluded that the probiotics L-1, L-2 dan L-3 had the same effect on egg production and weight.

**Keywords:** duck, probiotic, egg production, egg weight

## Pendahuluan

Itik merupakan salah satu jenis unggas lokal penting di Indonesia dan terbukti memberikan peluang usaha ekonomi produktif sebagai sumber pendapatan keluarga yang utama. Dengan populasi 58,24

juta ekor pada tahun 2020, Indonesia merupakan negara dengan populasi itik petelur terbesar di dunia, dengan produksi telur mencapai 332.907 ton. Pada tahun 2018 sedikitnya ada 285.000 rumah tangga peternak itik di Indonesia, sehingga peningkatan produktivitas itik akan meningkatkan taraf hidup keluarga peternak itik, ekuivalen dengan kesejahteraan jutaan penduduk, baik yang langsung terlibat dalam kegiatan budidaya itik maupun yang terlibat secara tidak langsung dalam agribisnis itik (BPS, 2020).

Saat ini masyarakat dunia menghadapi tantangan berat berkaitan dengan munculnya fenomena perubahan iklim yang ditandai antara lain dengan naiknya suhu lingkungan. Perubahan iklim berdampak serius terhadap kehidupan itik karena itik sangat rentan terhadap perubahan akibat ambang toleransi yang terbatas terhadap perubahan suhu lingkungan. Perubahan iklim berpotensi besar dalam menurunkan produktivitas dan daya tahan tubuh serta meningkatkan biaya produksi. Peternakan merupakan salah satu sektor krusial penggerak perekonomian nasional, maka upaya mitigasi risiko perubahan iklim di sub-sektor peternakan, termasuk peternakan itik, sangat penting dilakukan (Arundhati, 2020).

Pemeliharaan unggas di daerah tropis sangat rentan terhadap cekaman panas (Markert, 2021). Lebih-lebih dengan munculnya fenomena perubahan iklim yang berkaitan erat dengan cekaman panas yang berdampak buruk bagi produksi ternak dan ekonomi keluarga peternak (Sejian et al., 2019). Perubahan iklim adalah perubahan jangka panjang terhadap pola suhu dan iklim dan aktivitas manusia merupakan penyebab pokok dari terjadinya perubahan iklim, terutama karena penggunaan bahan bakar fosil (UN, 2021). Peningkatan suhu permukaan bumi, musim kemarau yang lebih panjang, timbulnya cuaca ekstrim serta curah hujan yang tinggi dalam waktu pendek merupakan contoh dari dampak perubahan iklim (UNDP, 2007). Perubahan iklim berdampak negatif pada kesehatan dan kenyamanan ternak sebagai akibat dari perubahan suhu udara, curah hujan, dan cuaca ekstrim. Perubahan iklim bisa berdampak langsung melalui kenaikan suhu udara dan gelombang udara panas, serta tidak langsung melalui perubahan kualitas dan kuantitas bahan pakan, air minum, dan penyebaran penyakit (Lacetera, 2019).

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa iklim di Indonesia telah menjadi lebih hangat selama abad 20 dengan suhu rata-rata tahunan telah meningkat sekitar 0,3°C sejak 1900 (LAPAN, 2012). Suhu yang terlalu panas akan membuat unggas mengalami cekaman yang mengakibatkan penurunan produksi dan meningkatkan mortalitas. Cekaman panas terjadi ketika tubuh kesulitan dalam menyeimbangkan antara produksi dan pembuangan panas tubuh. Dalam kondisi tersebut maka unggas akan melakukan mekanisme hiperventilasi seperti panting untuk mengontrol panas tubuh. Panting berdampak menghabiskan banyak energi tubuh serta menurunkan konsumsi dan efisiensi pakan. Apabila suhu berada di atas zona thermoneutral, maka panting akan meningkat sepuluh kali lipat yang berdampak terhadap penurunan produktivitas (Ahmad dan Mawar, 2005), serta imunitas dan kenyamanan ternak (Lara dan Rostagno, 2013).

Dari penelitian sebelumnya diperoleh hasil bahwa penggunaan probiotik berisi *Lactobacillus sp.* dengan *Saccharomyces cerevisi* berdampak positif dari aspek kenyamanan ternak (*animal welfare*) dan produksi telur (Suswoyo dan Rosidi, 2016; Suswoyo et al., 2021). Demikian halnya dengan *Lacsacpro* adalah probiotik yang juga berisi campuran antara bakteri *Lactobacillus sp.* dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Di dalam *Lacsacpro*, bakteri dan ragi memiliki fungsi dan peran yang berbeda dan saling mendukung satu sama lain selama berada di dalam saluran pencernaan itik. Secara umum disebutkan bahwa *Lactobacillus sp.* memiliki berbagai enzim untuk meningkatkan pencernaan dan penyerapan zat makanan (Scholz-Ahrens, 2007). Utamanya adalah enzim protease (Purkhan,

2017). Sedangkan *Saccharomyces cerevisiae* tahan terhadap materi antimikroba dan berperan penting dalam mikrobiota saluran pencernaan (Fernandez-Pacheco, 2018), serta mengandung enzim amilase dan pitase (Munira et al., 2016)

Sampai saat ini belum diteliti kombinasi perbandingan masing-masing mikroba tersebut agar *Lacsacpro* dapat berfungsi secara optimal. Oleh karena itu penelitian untuk memanipulasi kombinasi mikroba tersebut layak untuk dilakukan guna memperoleh *Lacsacpro* yang paling efektif dalam rangka meningkatkan produktivitas itik sebagai upaya meningkatkan pendapatan peternak dan sebagai salah satu upaya mengantisipasi dampak perubahan iklim.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan *Lacsacpro* yang paling efektif melalui pengembangan teknologi yang murah dan sederhana sesuai dengan sumberdaya dan kearifan lokal dalam rangka meningkatkan produksi dan bobot telur itik.

## Materi dan Metode Penelitian

Penelitian terdiri dari 2 tahap penelitian yaitu:

Tahap 1: Perakitan probiotik *Lacsacpro* yang paling efektif dengan cara rekayasa jumlah bahan sumber mikroba.

Tabel 1. Komposisi *Lacsacpro*

No.	Bahan sumber mikroba	Starter <i>Lacsacpro</i> -1	Starter <i>Lacsacpro</i> -2	Starter <i>Lacsacpro</i> -3
1.	<i>Lactobacillus sp.</i>	65 ml	130 ml	195 ml
2.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15 g	10 g	5 g

Masing-masing *Lacsacpro*-1 sampai *Lacsacpro*-3 dibuat 3 kali sehingga diperoleh 9 sampel. Sampel probiotik *Lacsacpro* yang dihasilkan kemudian dianalisis kandungan masing-masing mikroba secara kuantitatif, sehingga diketahui secara pasti rata-rata populasi *Lactobacillus sp.* dan *Saccharomyces cerevisiae* pada tiap jenis *Lacsacpro*.

Tahap 2: Uji coba *Lacsacpro* hasil penelitian tahap pertama pada itik periode produksi

### Metode penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap. Sebagai perlakuan adalah *Lacsacpro* (L-1, L-2, dan L-3) masing-masing sebanyak 5 ml/kg pakan. Setiap perlakuan diulang 6 kali jadi terdapat 18 petak kandang yang berisi 30 ekor itik periode produksi tiap petak, sehingga secara keseluruhan digunakan 540 ekor. Probiotik dicampurkan dalam air untuk mencampur pakan dan diberikan setiap pagi. Perlakuan diberikan selama 3 bulan. Peubah yang diukur yang diukur adalah produksi telur (% HDP) dan bobot telur. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisa variansi.

## Hasil dan Pembahasan

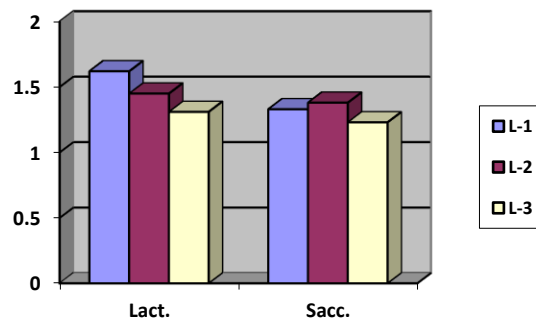
### Kandungan mikroba dan pH *Lacsacpro*

Sebagai probiotik maka kandungan utama *Lacsacpro* adalah bakteri asam laktat dari species *Lactobacillus sp.* dan ragi/yeast dari species *Saccharomyces cerevisiae*. Berdasarkan analisa laboratorium diperoleh populasi *Lactobacillus sp.* pada L-1, L-2 dan L-3 berturut-turut adalah  $1.62 \times 10^6$ ,  $1.45 \times 10^6$ , dan  $1.31 \times 10^6$  cfu's/ml. Sedangkan untuk species *Saccharomyces cerevisiae* pada L-1, L-2 dan L-3 masing-masing adalah  $1.33 \times 10^6$ ,  $1.38 \times 10^6$ , dan  $1.23 \times 10^6$  cfu's/ml. Dengan jumlah

mikroba sebanyak itu maka *Lacsacpro* sudah memenuhi syarat sebagai probiotik, karena probiotik harus mengandung populasi mikroba minimal 10 pangkat 6-7 cfu’s/ml (Rahayu, 2020).

Tabel 2. Parameter hasil penelitian

No	Parameter	<i>Lacsacpro</i>		
		L-1	L-2	L-3
1.	<i>Lactobacillus sp.</i> Jumlah (cfu’s/ml)	1,62 x 10 <sup>6</sup>	1,45 x 10 <sup>6</sup>	1,31 x 10 <sup>6</sup>
2.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Jumlah (cfu’s/ml)	1,33 x 10 <sup>6</sup>	1,38 x 10 <sup>6</sup>	1,23 x 10 <sup>6</sup>
3.	pH	2,36	2,34	2,79
4.	Produksi telur (%HDP)	63,93 + 8.58	65,63 + 9.85	66,37 + 8.69
5.	Berat telur (g/bt)	70,82 + 2.60	71,57 + 3.29	72,77 + 4.12



Gambar 1. Kandungan mikroba *Lacsacpro*

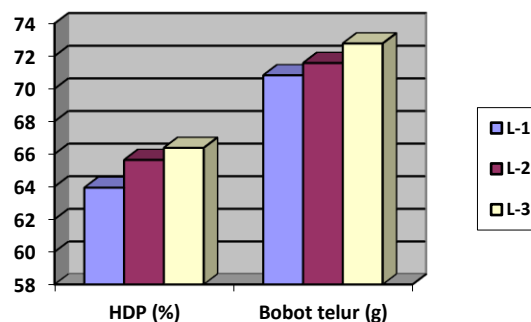
Disamping kandungan mikroba maka pH merupakan faktor lain untuk mendukung kerja suatu probiotik. Pengukuran pH yang dilakukan menunjukkan bahwa nilai pH untuk L-1, L-2 dan L-3 masing-masing adalah 2,36; 2.34; dan 2,79. Rendahnya pH merupakan kelebihan yang akan memberikan manfaat dari keberadaan probiotik. Probiotik harus bersifat asam dengan pH antara 2,5 sampai 3,54 (Rizal et al., 2016). Dengan demikian maka *Lacsacpro* sudah memenuhi syarat sebagai probiotik.

### Produksi telur

Rata-rata produksi telur itik selama penelitian adalah 65,14 + 6,32 % berkisar antara 46,5 sampai 81,73 %. Temuan ini mengkonfirmasi hasil penelitian sebelumnya (Suswoyo dan Rosidi, 2016.) Analisis statistik menunjukkan bahwa produksi telur berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) antar perlakuan. Penggunaan probiotik pada unggas berdampak positif terhadap pertumbuhan, produksi telur, dan efisiensi pakan (Jin et al., 1998). Dinyatakan bahwa probiotik mempengaruhi mikrobioma usus dan meningkatkan penyerapan usus, yang semuanya bersama-sama meningkatkan kinerja (Sohail et al., 2011). Di samping itu, pola makan berpengaruh sangat signifikan terhadap produksi telur. Dalam penelitian ini, semua itik memiliki ransum yang relatif sama dengan konsumsi harian rata-rata 156 g per hari. Pola makan yang dikonsumsi telah memenuhi kebutuhan. Itik lokal pada usia produktif membutuhkan protein 17 %, 2.700 kkal/kg ME, 2,3 % Ca, dan 0,60 % P (Ketaren, 2002). Beberapa penelitian telah melaporkan efek menguntungkan probiotik pada mikroarsitektur usus (Rahimi et al., 2009). Peningkatan tinggi dan lebar vili memberikan area permukaan yang lebih besar untuk

pencernaan nutrisi dan penyerapan yang diikuti dengan peningkatan enzim mukosa, penyerapan, dan sistem transportasi nutrisi (Amat et al., 1996). Dari hasil Analisa laboratorium maka dapat dilihat bahwa probiotik yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kandungan mikroba dan nilai pH yang tidak terlalu jauh berbeda, sehingga hal ini yang kemungkinan menjadi penyebab pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap produksi telur.

Berat telur yang dihasilkan selama penelitian berkisar antara 66,34 – 77,33 gram, dengan rata-rata  $71.73 + 6.077$  gram. Temuan ini menguatkan hasil penelitian sebelumnya yang menemukan bahwa berat telur adalah  $71.73 + 6.077$  gram (Ismoyowati dan Purwantini, 2013). Dibuktikan bahwa suplemen makanan probiotik (*Pediococcus acidilactici*) meningkatkan berat telur secara signifikan (Mikulski et al., 2012). Probiotik melepaskan protease yang memecah protein menjadi asam amino yang digunakan untuk produksi telur (Haryati, 2011). Asam amino sangat penting dalam pembentukan telur karena pengaruhnya terhadap berat dan jumlah telur (Ramsay dan Houston, 1998). Dalam penelitian ini bobot telur tidak dipengaruhi secara nyata ( $P > 0,05$ ) oleh perlakuan. Hal ini diduga kandungan mikroba dalam prebiotik L-1, L-2 dan L-3 masih dalam rentang yang tidak terlalu jauh.



Gambar 2. HDP dan bobot telur hasil penelitian

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian probiotik *Lacsacpro-1*, *Lacsacpro-2* dan *Lacsacpro-3* dalam pakan berdampak sama terhadap produksi dan bobot telur itik yang dipelihara secara terkurung.

## Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung oleh Dana BLU UNSOED. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Rektor Universitas Jenderal Soedirman serta Kepala Pusat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Jenderal Soedirman atas program Riset Unggulan Terapan Unsoed. Terima kasih juga diucapkan kepada ketua dan seluruh anggota KTTI 'Berkah Abadi' Kota Tegal yang sudah bekerjasama dalam penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- BPS. 2020. Peternakan dalam Angka 2020. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Arundhati, ST. 2020. Strategi Menghadapi Perubahan Iklim dalam Era New Normal untuk Mendukung Peternakan Maju, Mandiri dan Modern. Pros. Semnas Teknologi Peternakan dan Veteriner. ICARD. Bogor.
- Markert, P. 2021. Managing indoor climates in poultry houses in the tropics. Poultry World Jun 23, 2021.
- Sejian, V, VP Rashamol, dan R Bhatta. 2019. Impact of Heat Stress: Production vs Adaptation. Dalam: Heat Stress: Solutions to combat the damage (Ed. R. Burgin). Misset Uitgeverij BV. Doetinchem.
- UN.2021. Climate Action. United Nations, New York.



- UNDP.2007. Sisi lain perubahan iklim : Mengapa Indonesia harus beradaptasi untuk melindungi rakyat miskinnya. UNDP Indonesia Country Office. Jakarta.
- Lacetera, N. 2019. Impact of climate change on animal health and welfare. *Animal Frontiers*. 9(1):26–31.
- LAPAN, 2012. Perubahan Iklim di Indonesia. Lembaga Penerbangan dan Antariksa Nasional. Jakarta.
- Ahmad, T dan M Sarwar. 2005. Dietary Electrolytes Combat Heat Stress in Broilers. *Feed Mix. The International Journal on Feed, Nutrition and Technology*.13 (4):15-17.
- Lara, LJ. dan MH Rostagno. 2013. Impact of Heat Stress on Poultry Production. *Animals (Basel)*. 3(2): 356–369.
- Suswoyo, I dan Rosidi. 2016. Welfare and Egg Production of Local Ducks Fed Diets Containing Two Probiotics in Commercial Farms. *International J. of Poul. Sci*. 15 (6): 235-239.
- Suswoyo, I, Ismoyowati W, Widodo, dan Z Vincēviča–Gaile. 2021. The Use of Probiotic and Antioxidants to Improve Welfare and Production of Layer Duck at Commercial Farms for Global Warming Mitigation. *E3S Web of Conferences* 226, 00025.
- Scholz-Ahrens, KE, P Ade, B Marten, P Weber, W Timm, Y Acil, CC Gluer, dan J Schrezenmeir. 2007. Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *J. Nutr.* 137(3) Suppl. 2:838S–846S
- Purkhan, NN, Laila S, dan Sumarsih. 2017. *Lactobacillus bulgaricus* sebagai Probiotik guna Peningkatan Kualitas Ampas Tahu untuk Pakan Cacing Tanah. *Jurnal Kimia Riset*. 2(1): 1-9.
- Fernandez-Pacheco, P, M Arevalo-Villena, A Bavilacqua, MR Cobo, dan AB Perez. 2018. Probiotic characteristics in *Saccharomyces cerevisiae* strains: Properties for application in food industries. *LWT - Food Science and Technology*. 97: 332–340.
- Munira, S, LO Nafiu, dan AM Tasse. 2016. Performans Ayam Kampung Super pada Pakan yang Disubstitusi Dedak Padi Fermentasi dengan Fermentor Berbeda. *JITRO*. 3(2): 22-29.
- Rahayu, ES. 2020. Probiotik. *PS Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta*.
- Rizal, S, M Erna, F Nurainy, dan A R Tambunan. 2016. Karakteristik Probiotik Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas dengan Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat. *J. Kim. Terap. Indones*.18 (1):63-71.
- Jin, JZ, YW Ho, N Abdullah, MA Ali, dan S Jalaludin. 1998. Effect of adherent *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broiler. *Anim. Feed Sci.Tech*. 70(3): 197-209.
- Sohail, MU, ZU Rahman, A Ijaz, MS Yousef, K Ashraf, T Yaqub, H Zenab, H Anwar, dan H Rehman. 2011. Single or combined effects of mannan-oligosaccharides and probiotics supplements on the total oxidants, total anti-oxidants, enzymatic anti-oxidants, liver enzymes and serum trace minerals in cyclic heat stressed broilers. *Poult. Sci*. 90: 2573-2577.
- Ketaren, PP. 2002. Nutrient requirement of egg laying and meat ducks. *Wartazoa*. 12 (2): 37-46.
- Rahimi, S, JL Grimes, O Fletcher, E Oviedo, dan BW Sheldon. 2009. Effect of a direct-fed microbial (Primalac) on structure and ultrastructure of small intestine in turkey poults. *Poult. Sci*. 88: 491-503.
- Amat, C, JM Planas, dan M Moreto. 1996. Kinetics of hexose uptake by the small and large intestine of the chicken. *Am. Jou. Physiol. Res*. 271: 1085-1089.
- Ismoyowati, D dan Purwantini. 2013. Egg production and quality of local ducks at duck center areas. *Journal of Rural Development*.13 (1): 15-24.
- Mikulski, D, J Jankowski, J Naczmanski, M Mikulska, dan V Demey. 2012. Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poult Sci*. 91(10):2691-700.
- Haryati, T, 2011. Probiotic and Prebiotic as Non-ruminant Feed Additive. *Wartazoa*. 21(3).
- Ramsay, SL dan D C Houston. 1998 . The effect of dietary amino acid composition on egg production in blue tits. *Proc Biol Sci.*: 1401–1405.