

## Respons Ayam Broiler yang Diberi Ransum dengan Suplementasi Fitase, Zn dan Cu (*Broiler Response Feed upon Phytase, Zn, and Cu Supplementation*)

Hendi Setiyawan<sup>1)</sup>, dan Wiranda G Piliang<sup>2)</sup>

1. Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran Bandung

2. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor

Email: setiyawan@yahoo.co.id

### Abstrak

Seng dan tembaga bersifat antagonis di dalam media *intestinal metallothionein*. Zn mempunyai afinitas yang lebih tinggi untuk berikatan dengan *histidin* dan *sistein*, sedangkan Cu hanya berafinitas tinggi dengan *histidin*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan interaksi antara mineral seng, tembaga, dan aktivitas *alkalin fosfatase* pada ayam broiler yang diberi ransum dengan suplementasi fitase, Zn dan Cu. Dua ratus delapan puluh delapan ekor DOC (*Unsexed*) yang dipelihara selama 42 hari, dialokasikan ke dalam rancangan acak lengkap dengan sembilan ransum perlakuan dan diulang sebanyak empat kali. Kombinasi ransum penelitian terdiri atas: R1 (Ransum kontrol positif), R2 (Ransum kontrol negatif), R3 (R2 + 132,70 ppm ZnO), R4 (R2 + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>), R5 (R2 + 132,70 ppm ZnO + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>), R6 (R2 + fitase 1000 FTU/kg), R7 (R2 + fitase 1000 FTU/kg + 132,70 ppm ZnO), R8 (R2 + fitase 1000 FTU/kg + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>), R9 (R2 + fitase 1000 FTU/kg + 132,70 ppm ZnO + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suplementasi kombinasi fitase 1000 FTU/kg, ZnO 132,70 ppm, dan CuSO<sub>4</sub> 286,16 ppm dalam ransum memberikan interaksi sinergis yang ditandai dengan peningkatan kandungan Zn dalam serum dan aktivitas *alkalin fosfatase*.

**Kata kunci :** seng, tembaga, aktivitas *alkalin fosfatase*, ayam broiler

### Abstract

Zn and Cu are antagonist in the intestinal metallothionein. Zn has a higher affinity for chelate with Histidine and sistein, although Cu just has a high affinity with histidine. This research is aimed to get an interaction between Zn, Cu, and the alkaline phosphate activity in broiler chicken that feed with phytase suplementation, Zn, and Cu. Two hundred eighty eight Day Old Chicks unsexed were allocated into nine treatment diets with four replications (eight chicks in each replicate). The birds were raised up to 42 days old. Combination of the treatment diets were: R1 (positive control), R2 (negative control), R3 (R2 + 132.70 ppm ZnO), R4 (R2 + 286.16 ppm CuSO<sub>4</sub>), R5 (R2 + 132.70 ppm ZnO + 286.16 ppm CuSO<sub>4</sub>), R6 (R2 + phytase 1000 FTU/kg), R7 (R2 + phytase 1000 FTU/kg + 132.70 ppm ZnO), R8 (R2 + phytase 1000 FTU/kg + 286.16 ppm CuSO<sub>4</sub>), R9 (R2 + phytase 1000 FTU/kg + 132.70 ppm ZnO + 286.16 ppm CuSO<sub>4</sub>). The results of this research indicated that the combination between fitase 1000 FTU/kg, ZnO 132,70 ppm, and CuSO<sub>4</sub> 286,16 ppm in feed give a synergic interaction that showed with the increase of Zn in feed and alkaline fosfatase activity.

**Keywords :** zinc, copper, alkaline phosphate activity, broiler

### Pendahuluan

Mineral Zn dan Cu bekerja pada enzim-enzim yang terlibat dalam pertumbuhan dan sistem kekebalan tubuh, akan tetapi ketersediaan hayatinya bagi tubuh ternak dipengaruhi oleh kehadiran asam fitat dalam ransum (Piliang 2000). Fitat pada pH netral membentuk kompleks dengan mineral-

mineral bervalensi dua, yaitu Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, CO<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, dan Ca<sup>2+</sup>. Ikatan fitat-Zn dan fitat-Cu merupakan ikatan yang stabil dan tidak larut sehingga absorpsinya di dalam saluran pencernaan menurun (Piliang 2000).

Mineral Zn dalam sistem biologis merupakan komponen *metaloenzym*, seperti *polimerase DNA*,

*peptidase karboksi A dan B*, dan *alkalins fosfatase*. Enzim tersebut berperan dalam *proliferasi DNA* yang selanjutnya berpengaruh pada sintesis protein, proses pencernaan protein, dan absorpsi asam amino, serta metabolisme energi (Larvor 1983).

Mineral Cu berperan pada sintesis hemoglobin yang normal dan merupakan komponen *seruloplasmin*, *dismutase superoksida (SOD)*, *oksidase lysil*, dan *oksidase sitokrom*. *Seruloplasmin* berperan dalam penyerapan dan transpor Fe yang dibutuhkan untuk sintesis hemoglobin dan dapat berfungsi sebagai antioksidan serta agen pertahanan (Harmon dan Torre 1997).

Fitase adalah enzim yang mampu melepaskan ikatan fitat dengan Ca, Zn, Cu, dan Mn, serta meningkatkan relaksasi usus, dan absorpsi nutrien (Traylor *et al.* 2001). Mineral Zn dan Cu bersifat antagonis di dalam media *intestinal metallothionein*. Tembaga selalu kalah bersaing dalam berikatan dengan protein. Hal ini terjadi karena Zn mempunyai afinitas lebih tinggi untuk berikatan dengan histidin dan sistein, sedangkan Cu hanya berafinitas tinggi dengan histidin (Berdanier 1998). Kandungan Cu yang tinggi dalam ransum akan menurunkan absorpsi Zn (Piliang 2000) sehingga keseimbangan Zn dan Cu dalam ransum perlu diperhatikan.

Penelitian ini mengkaji interaksi antara mineral seng, tembaga, dan aktivitas alkalin fosfatase pada ayam broiler yang diberi ransum berbahan dasar dedak dengan suplementasi fitase, Zn dan Cu

## Metode

Ayam broiler umur sehari (DOC) strain *Cobb* sebanyak 288 ekor (*unsexed*) dengan berat badan rata-rata 48,72 g dan koefisien variasi 7,96% digunakan dalam penelitian ini. Anak ayam

ditempatkan secara acak ke dalam 36 unit kandang yang terbuat dari bahan besi dan kawat, dan masing-masing unit berukuran 0,75 x 0,50 x 0,40 meter. Setiap unit kandang diisi dengan 8 ekor DOC. Pemanasan kandang dilakukan selama 2 minggu menggunakan lampu pijar berkekuatan 60 watt yang dipasang pada tiap petak kandang. Setelah periode tersebut dua lampu pijar digunakan sebagai alat penerangan malam hari di kandang utama. Susunan ransum kontrol penelitian dicantumkan dalam Tabel 1 dan komposisi nutrien dalam Tabel 2.

Ransum penelitian terdiri atas: R1 (Kontrol positif), R2 (Kontrol negatif), R3 (R2 + 132,70 ppm ZnO), R4 (R2 + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>), R5 (R2 + 132,70 ppm ZnO + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>), R6 (R2 + fitase 1000 FTU/kg), R7 (R2 + fitase 1000 FTU/kg + 132,70 ppm ZnO), R8 (R2 + fitase 1000 FTU/kg + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>), dan R9 (R2 + fitase 1000 FTU/kg + 132,70 ppm ZnO + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>). Ransum kontrol terdiri atas kontrol positif dan kontrol negatif sesuai dengan rekomendasi BASF (2002). Tiap perlakuan diulang sebanyak empat kali. Ransum diberikan dalam bentuk *mash* dan air minum diberikan *ad libitum*.

Peubah yang diukur adalah: kadar Zn dan Cu serum, kadar Zn dan Cu dalam feses, dan aktivitas *alkalin fosfatase* dalam serum. Kandungan Zn dan Cu dianalisis dengan menggunakan *atomic absorption spectrophotometer* (AAS). Analisis dilakukan di Laboratorium Kimia, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan IPB Bogor. Pengukuran aktivitas *alkalin fosfatase* (ALP) dilakukan berdasarkan IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) (Stauffer 1989) yang dilakukan di Laboratorium Prodia. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan dan uji korelasi (Steel dan Torrie 1980).

Tabel 1 Bahan pakan penyusun ransum penelitian

No	Bahan Pakan	Kontrol	Kontrol	No	Bahan Pakan	Kontrol	Kontrol
		Positif (%)	Negatif (%)			Positif (%)	Negatif (%)
1	Dedak Padi	50	50	5	Minyak CPO	5,5	4,2
2	Tepung Ikan	15,14	15,14	6	Premiks	0,3	0,3
3	Jagung	15	15	7	CaCO <sub>3</sub>	0,96	2,26
4	Bungkil Kedelai	13	13	8	Garam	0,1	0,1

Tabel 2 Komposisi nutrien ransum kontrol penelitian berdasarkan perhitungan

No	Nutrien*	Kontrol	Kontrol	No	Nutrien	Kontrol	Kontrol
		Positif	Negatif			Positif	Negatif
1	EM (Kkal/kg)	3100	3000	10	Metionin (%)	0,39	0,39
2	PK (%)	21,60	21,60	11	Met + Sist (%)	1,19	1,19
3	SK (%)	7,60	7,60	12	Cu (mg/kg)	11,62	11,62
4	Ca (%)	1,23	1,75	13	Fe (mg/kg)	17,80	17,80
5	P total (%)	1,31	1,31	14	Mn (mg/kg)	14,03	14,03
6	P tersedia (%)	0,16	0,16	15	Zn (mg/kg)	45,50	45,50
7	Na (%)	1,27	1,27	16	Asam Fitat (%)	3,80	3,80
8	Cl (%)	0,14	0,14	17	Molar rasio AF : Zn	83	91,39
9	Lisin (%)	1,18	1,18				

Keterangan :

- Ransum kontrol positif disusun berdasarkan rekomendasi Cobb Guide

- Ransum kontrol negatif disusun berdasarkan rekomendasi BASF

\* Analisis proksimat bahan pakan dilakukan di Lab. Ilmu dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan IPB (2003).

## Hasil dan Pembahasan

### Kandungan Mineral Feses

Kadar Zn dalam feses ada yang diberi rasa disuplementasi hanya ZnO; kombinasi ZnO dan CuSO<sub>4</sub>; dan fitase dan ZnO nyata ( $P<0,05$ ) daripada perlakuan lainnya. Demikian pula kadar Cu dalam feses terus ada yang diberi rasa disuplementasi hanya CuSO<sub>4</sub>, kombinasi ZnO dan CuSO<sub>4</sub>; fitase dan CuSO<sub>4</sub>; dan fitase, ZnO dan CuSO<sub>4</sub> lebih tinggi ( $P<0,05$ ) dari perlakuan lainnya (Tabel 4). Tingginya ekskresi Zn pada suplementasi ZnO dan peningkatan Cu pada suplementasi CuSO<sub>4</sub> disebabkan karena penyerapan Zn dalam bentuk ZnO menurun dengan meningkatnya ketersediaan

Zn dalam saluran pencernaan, demikian halnya Cu dalam bentuk CuSO<sub>4</sub>. Kedua bentuk mineral tersebut memiliki daya larut tinggi ?, penurunan ketersediaan kedua mineral tersebut menggambarkan bahwa kebutuhan ayam akan mineral Zn dan Cu sudah terpenuhi pada tingkat suplementasi 132,70 ppm ZnO dan 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>. Hal tersebut juga menggambarkan adanya kemampuan maksimum absorpsi dinding saluran pencernaan terhadap Zn dan Cu. Ekskresi Zn dan Cu melalui feses meningkat secara linier sejalan dengan peningkatan taraf Zn dan Cu ransum (Kim dan Patterson 2004). Hal ini berarti bahwa suplementasi 132,70 ppm ZnO dan 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub> telah melebihi kebutuhan.

Tabel 4 Rataan kandungan mineral Zn dan Cu dalam feses ayam broiler yang dipelihara dari umur 1-42 hari

Mineral	Ransum Perlakuan								
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
<b>ppm</b>									
Zn	4,57 <sup>b</sup> (0,84)	4,61 <sup>b</sup> (1,32)	7,27 <sup>a</sup> (0,61)	4,42 <sup>b</sup> (0,91)	7,17 <sup>a</sup> (0,79)	3,94 <sup>b</sup> (0,17)	6,29 <sup>a</sup> (1,65)	4,28 <sup>b</sup> (0,23)	4,65 <sup>b</sup> (0,34)
Cu	1,21 <sup>b</sup> (0,10)	1,18 <sup>b</sup> (0,05)	1,36 <sup>b</sup> (0,15)	2,75 <sup>a</sup> (0,16)	2,60 <sup>a</sup> (0,36)	1,07 <sup>b</sup> (0,09)	1,13 <sup>b</sup> (0,12)	2,59 <sup>a</sup> (0,34)	2,87 <sup>a</sup> (0,40)

Keterangan : Angka di dalam kurung adalah standar deviasi. Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ( $P<0,05$ ). **R1** (Kontrol positif), **R2** (Kontrol negatif), **R3** (R2 + 132,7 ppm ZnO), **R4** (R2 + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>), **R5** (R2 + 132,7 ppm ZnO + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>), **R6** (R2 + fitase 1000 FTU/kg), **R7** (R2 + fitase 1000 FTU/kg + 132,7 ppm ZnO), **R8** (R2 + fitase 1000 FTU/kg + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>), **R9** (R2 + fitase 1000 FTU/kg + 132,7 ppm ZnO + 286,16 ppm CuSO<sub>4</sub>)

Tabel 5 Rataan kandungan mineral Zn, Cu, dan aktivitas *Alkalin fosfatase* dalam serum ayam broiler yang dipelihara dari umur 1-42 hari

Mineral	Ransum Perlakuan								
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
Zn ( $\mu\text{g/dl}$ )	79,39 <sup>f</sup> (0,18)	79,14 <sup>f</sup> (0,57)	47,67 <sup>h</sup> (0,31)	100,6 <sup>c</sup> (0,14)	81,5 <sup>e</sup> (0,28)	103,4 <sup>b</sup> (0,33)	65,45 <sup>g</sup> (0,26)	90,52 <sup>d</sup> (0,30)	106,6 <sup>a</sup> (0,36)
Cu ( $\mu\text{g/dl}$ )	91,50 <sup>g</sup> (0,09)	76,52 <sup>i</sup> (0,07)	84,51 <sup>h</sup> (0,06)	98,63 <sup>f</sup> (0,25)	113,5 <sup>e</sup> (0,08)	128,5 <sup>c</sup> (0,06)	136,5 <sup>b</sup> (0,07)	143,5 <sup>a</sup> (0,20)	121,5 <sup>d</sup> (0,07)
Alp (U/L)	206,4 <sup>f</sup> (0,41)	204,3 <sup>g</sup> (0,28)	184,4 <sup>i</sup> (0,45)	230,1 <sup>d</sup> (0,65)	210,4 <sup>e</sup> (0,47)	240,6 <sup>c</sup> (0,23)	189,3 <sup>h</sup> (0,23)	256,7 <sup>b</sup> (0,12)	270,2 <sup>a</sup> (0,14)

Keterangan : Angka di dalam kurung adalah **standar deviasi**. Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P<0,05$ ). **R1** (Kontrol positif), **R2** (Kontrol negatif), **R3** ( $R2 + 132,7 \text{ ppm ZnO}$ ), **R4** ( $R2 + 286,16 \text{ ppm CuSO}_4$ ), **R5** ( $R2 + 132,7 \text{ ppm ZnO} + 286,16 \text{ ppm CuSO}_4$ ), **R6** ( $R2 + \text{fitase } 1000 \text{ FTU/kg}$ ), **R7** ( $R2 + \text{fitase } 1000 \text{ FTU/kg} + 132,7 \text{ ppm ZnO}$ ), **R8** ( $R2 + \text{fitase } 1000 \text{ FTU/kg} + 286,16 \text{ ppm CuSO}_4$ ), **R9** ( $R2 + \text{fitase } 1000 \text{ FTU/kg} + 132,7 \text{ ppm ZnO} + 286,16 \text{ ppm CuSO}_4$ )

Tabel 6 Korelasi antara mineral dalam ransum dan mineral dalam feses, serum, dan aktivitas enzim *alkalin fosfatase*

Korelasi	
Zn ransum x Cu feses	0,12
Zn ransum x Zn feses	0,69
Zn ransum x Zn serum	-0,43
Zn ransum x Enzim <i>alkalin fosfatase</i>	-0,27
Cu ransum x Cu feses	0,95
Cu ransum x Cu serum	0,36

Ekskresi Cu meningkat pada suplementasi kombinasi fitase, ZnO, dan CuSO<sub>4</sub>. Hal ini menggambarkan adanya interaksi antagonis antara Zn dan Cu di dalam saluran pencernaan akibat suplementasi fitase. Fitase mampu melepaskan ikatan fitat dengan mineral, energi, dan asam-asam amino. Mineral Zn dan Cu diserap melalui dinding usus atas bantuan *ligand chelate*. Zat pengikat yang membantu proses absorpsi adalah asam amino (Groff dan Gropper 2000).

Persaingan antara Zn dan Cu untuk berikatan dengan asam amino terjadi di dalam media *intestinal metallothionein*. Cu selalu kalah bersaing untuk berikatan dengan protein sehingga ekskresi Cu meningkat (Berdanier 1998). Hal ini memberi gambaran bahwa suplementasi fitase 1000 FTU/kg

ke dalam ransum yang mengandung ZnO dan CuSO<sub>4</sub> meningkatkan absorpsi Zn.

#### ***Kandungan Zn, Cu, dan Aktivitas Alkalin Fosfatase dalam Serum***

Suplementasi kombinasi fitase, ZnO, dan CuSO<sub>4</sub> nyata meningkatkan ( $P<0,05$ ) kandungan Zn dan aktivitas *alkalin fosfatase* di dalam serum. Suplementasi kombinasi fitase dan CuSO<sub>4</sub> nyata meningkatkan ( $P<0,05$ ) kandungan Cu dalam serum (Tabel 5) Peningkatan kandungan Zn serum dan aktivitas *alkalin fosfatase* akibat suplementasi kombinasi fitase, ZnO, dan CuSO<sub>4</sub> memberi gambaran adanya keserasian kerja antara fitase dan Zn. Fitase meningkatkan absorpsi Zn, kehadiran Zn dan Cu asal ransum tidak menghambat aktivitas fitase. Fitase memberikan aksi pada pelepasan ikatan *myoinositol 1,2,3,4,5,6 - hexakis dihydrogen fosfate* sehingga ikatan fitat dengan fosfor, mineral bervalensi dua, dan asam-asam amino terlepas (Bagaimana hubungan P dengan Zn ?). Zn dan Cu bersaing untuk menempati posisi pada protein, Zn memiliki afinitas lebih tinggi dibandingkan dengan Cu sehingga lebih banyak Zn yang bisa diserap. Hal ini menggambarkan bahwa terjadi interaksi antagonis antara Zn dan Cu untuk diabsorpsi akibat suplementasi fitase. Peningkatan kandungan Zn serum meningkatkan aktivitas *Alkalin fosfatase*. Hal ini menggambarkan bahwa aktivitas *alkalin fosfatase* dipengaruhi kandungan Zn di dalam serum. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa *alkalin fosfatase* membutuhkan Zn untuk strukturnya serta

memerlukan  $Zn^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  untuk aktivitasnya (Metzler 1977). Hal ini memberi gambaran bahwa suplementasi kombinasi fitase 1000 FTU/kg,  $ZnO$  132,70 ppm, dan  $CuSO_4$  286,16 ppm meningkatkan kandungan Zn dalam serum yang diikuti dengan peningkatan aktivitas *alkalin fosfatase*.

#### **Korelasi antara Mineral Ransum dan Mineral Feses, Serum, dan Aktivitas Alkaline Phosphatase**

Dugaan korelasi antara mineral dalam ransum, feses, serum, dan aktivitas enzim *alkalin fosfatase* disajikan pada Tabel 6. Uji korelasi membuktikan bahwa suplementasi hanya  $ZnO$  menurunkan ketersediaan Zn dan aktivitas *alkalin fosfatase*. Suplementasi hanya  $CuSO_4$  meningkatkan ekskresi feses. Hal ini memberi gambaran bahwa Zn atau Cu tidak efektif diberikan masing-masing tanpa kombinasi.

#### **Kesimpulan**

Suplementasi enzim fitase sebanyak 1000 FTU/kg,  $ZnO$  132,70 ppm, dan  $CuSO_4$  286,16 ppm ke dalam ransum menghasilkan interaksi sinergis. Pada perlakuan ini terjadi peningkatan absorpsi Zn. Sebagian besar Zn yang diabsorpsi digunakan untuk meningkatkan aktivitas *alkalin fosfatase*. Uji korelasi membuktikan bahwa suplementasi hanya  $ZnO$  menurunkan ketersediaan Zn dan aktivitas *alkalin fosfatase*. Suplementasi hanya  $CuSO_4$  meningkatkan ekskresi feses. Hal ini memberi gambaran bahwa Zn atau Cu tidak efektif diberikan masing-masing tanpa kombinasi.

#### **Daftar Pustaka**

- BASF and DSM. 2002. *The Natural Key to Higher Yields*. BASF, Ludwigshafen, Germany.
- Berdanier CD. 1998. *Advanced Nutrition Microelement*. Boca Raton, Boston, London, New York, Washington DC : CRC Press:143-150 ; 194-207.
- Biehl RR, Baker DH. 1997. Microbial phytase improves amino acid utilization in young chicks fed diets based on soybean meal but not diets based on peanut meal. *Poult Sci* 76:355-360.
- Groff JL, Gropper SS. 2000. *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Ed ke-3. U.S.A : Wadsworth Thomson Learning.
- Harmon RJ, Torre PM. 1997. Economic Implication of Copper and Zinc Proteinate : Role in Mastitis Control. Di dalam: Lyon TP, Jacques KA, Editor. *Biotechnology in The Feed Industry*. Nottingham University Pr. hlm. 419-430.
- Kim WK, Patterson PH. 2004. Effects of dietary zinc supplementation on broiler performance and nitrogen loss from manure. *Poult Sci* 83:34-38.
- Kornegay ET, Denbow DM, Yi Z, Ravindran V. 1998. Response of Broiler to Graded Levels of Natuphos Phytase added to Corn-Soybean Meal-Based Diets Containing Three Levels of Non Phytate Phosphorus. *Brit J Nutr* 75:839-852.
- Larvor P. 1983. The Pools of Cellular Nutrients: Mineral. Di dalam: Riss PM, editor. *Dynamic Biochemistry of Animal Production*. Elsevier: Amsterdam.
- Metzler DE. 1977. *Biochemistry : The chemical reactions of living cells*. London : Academic Press, Inc.
- Piliang WG. 2000. *Nutrisi Mineral*. Edisi ke 3. Bogor: PAU Ilmu Hayat IPB .
- Rutherford SM, Chung TK, Morel PCH, Moughan. 2004. Effect of Microbial Phytase on Ileal Digestibility of Phytate Phosphorus, Total Phosphorus, and Amino Acids in a Low-Phosphorus Diet for Broiler. *Brit. Poult. Sci* 43 (4): 598-606.
- Stauffer. 1989. *Metode pengukuran aktivitas alkaline phosphatase*. Petunjuk laboratorium. Laboratorium klinik Prodia. Jakarta.
- Steel RDG, Torrie JH. 1980. *Principles and Procedures of Statistics, A Biometrical Approach*. International Student Ed. McGraw-Hill. Kokusha Limited, Tokyo.
- Sumiati, Piliang WG. 2005. Increasing Laying Performances and Egg Vitamin A Content Through Zinc Oxide and Phytase Enzyme Supplementation. *Med Pet* 28(3) :130-135.
- Traylor SL, Cromwell GL, Lindermann MD, Kuabe DA. 2001. Effects of Levels of Supplemental Phytase on Ileal Digestibility of Amino Acid, Calcium and Phosphorus in Dehulled Soybean Meal for Growing Pigs. *J Anim Sci* 79:2634-2642.