

PENGARUH PENAMBAHAN FITASE DALAM MEMPREDIKSI KEBUTUHAN NON-PHYTATE PHOSPHORUS AYAM PEDAGING FASE STARTER

THE EFFECTS OF PHYTASE SUPPLEMENTATIONS IN PREDICTING THE NON-PHYTATE PHOSPHORUS REQUIREMENT OF BROILERS IN STARTER PHASE

Rateh Wulandari^{1*}, Ferry Poernama², Zuprizal¹, dan Nanung Danar Dono¹

¹Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281

²PT Japfa Comfeed Indonesia Tbk., Jakarta, 12810

Submitted: 18 July 2016, Accepted: 13 March 2017

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kebutuhan *non-phytate phosphorus* (NPP) dengan penambahan enzim fitase untuk ayam pedaging fase *starter*. Penelitian dilaksanakan selama 21 hari menggunakan 1000 ekor ayam pedaging (500 ekor jantan dan 500 ekor betina), dengan 5 macam perlakuan pakan. Pakan perlakuan P1-P5 berupa pakan basal dengan penambahan 0,67% Ca dan 60 FTU enzim fitase dengan kandungan NPP yang berbeda, yaitu: 0,420% (P1); 0,345% (P2); 0,270% (P3); 0,195% (P4); dan 0,120% (P5). Pakan basal disusun berbasis jagung-bungkil kedelai dengan kandungan kalsium (Ca) 0,097% dan fosfor (P) 0,124%, menurut rancangan acak lengkap pola searah. Parameter yang diamati meliputi: konsumsi pakan, pertambahan bobot badan, konversi pakan, rerata bobot badan, angka kematian ternak dan kadar abu *toe*. Pengukuran respon penambahan NPP terhadap rerata bobot badan dan kadar abu *toe* yang dilanjutkan dengan pembentukan grafik persamaan kuadrat: $y = ax^2 + bx + c$. Penentuan respon maksimum ditentukan melalui grafik $y_{maks} = -b/2a$. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa estimasi kebutuhan NPP dengan penambahan enzim fitase berdasarkan rerata bobot badan adalah sebesar 0,317% (0 s.d. 10 hari); 0,314% (11 s.d. 21 hari), dan 0,315% (0 s.d. 21 hari). Estimasi kebutuhan penambahan NPP dengan enzim fitase berdasarkan kadar abu *toe* adalah sebesar 0,990% pada periode 21 hari.

(Kata kunci: Ayam pedaging, Enzim fitase, Kinerja pertumbuhan, Mineralisasi tulang, *Non-phytate phosphorus*)

ABSTRACT

This study was aimed to observe the requirements of non-phytate phosphorus (NPP) with phytase supplementation in starter phase broiler. A total number of 1000 broiler (500 males and 500 females) were divided into 5 dietary treatments for 21 days rearing period. The treatment diets (P1-P5) were basal diets with 0.67% Calcium (Ca) and 60 FTU phytase that combined with NPP at different levels, i.e.: 0.420% (P1); 0.345% (P2); 0.270% (P3); 0.195% (P4); 0.120% (P5). The basal diet was a corn-soybean based diet that contained 0.097% Ca and 0.124% Phosphorus (P). The data were subjected to a one-way ANOVA using complete randomized design. Response variables that observed in current study were: feed intake, nett gain, feed conversion ratio, average body weight, mortality and toe ash. Measurement of responses due to the reduction of NPP supplementation on average body weight and toe ash were then followed subsequently by generating equation for quadratic curve $y = ax^2 + bx + c$ to determinate the NPP requirement. Determination of the maximum response was done through $y_{maks} = -b/2a$. Results showed that based on average body weight, estimation of NPP requirement with phytase supplementation were 0.317% for the 0-10 days; 0.314% for the 11-21 days; and 0.315% for the the 0-21 days rearing periods. Based on toe ash content, estimation of NPP requirement with phytase supplementation was 0.990% (toe) for the 21 days rearing period.

(Keywords: Bone mineralization, Broiler, Growth performance, Non-phytate phosphorus, Phytase enzyme)

* Korespondensi (corresponding author):
Telp. +62 812 3399 6600
E-mail: ratehwulandari80@gmail.com

Pendahuluan

Bahan pakan penyusun pakan ternak unggas didominasi oleh bahan pakan sumber energi dan protein. Bahan pakan sumber energi yang biasanya diberikan berupa: jagung dan gandum (*wheat, barley, oat*, serta sorgum). Bahan pakan sumber protein umumnya dipenuhi dari: *soybean meal, corn gluten meal*, atau *dried distiller grain with soluble*. Beberapa bahan pakan sumber energi, seperti: gandum, umumnya kaya akan energi. Namun, tidak seluruh mineral fosfor (P) yang ada di dalam bahan pakan tersebut dapat dimanfaatkan oleh ternak unggas. Hal ini disebabkan karena P masih terikat dalam bentuk asam fitat (Waldroup et al., 2000). Asam fitat ($C_6H_{18}O_{24}P_6$ atau IP_6) secara struktural adalah suatu cincin *myo-inositol* yang mengikat penuh fosfat di sekeliling cincin (Seaman et al., 2003). Ternak unggas tidak mampu mencerna fitat tersebut karena tidak memiliki enzim fitase dalam tubuhnya (Ravindran et al., 2006).

Agar dapat meningkatkan pemanfaatan mineral fosfor, protein, dan karbohidrat, maka perlu adanya upaya penggunaan suplemen yang mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis asam fitat yang terkandung dalam bahan pakan. Penambahan enzim fitase merupakan salah satu cara untuk mengatasi keterbatasan penggunaan P pakan karena terikat dalam bentuk asam fitat sehingga *unavailable* (Li et al., 2000; Waldroup et al., 2000). Suplementasi enzim fitase dalam pakan terbukti efektif memperbaiki penggunaan dan ketersediaan kalsium (Ca) dan fosfor (P) (Traylor et al., 2001), mampu memperbaiki performan dan meningkatkan penggunaan P, Ca, Mg dan Zn (Viveros et al., 2002), memiliki efek positif pada laju pertumbuhan, efisiensi pakan, retensi mineral dan pertumbuhan broiler (Khan et al., 2013) serta meningkatkan retensi fosfor di dalam saluran pencernaan sehingga dapat dimanfaatkan ternak untuk metabolisme nutrisi harian (Zyla et al., 2000). Diharapkan penggunaan *non-phytate phosphorus* (NPP) dan enzim fitase dengan jumlah yang tepat akan lebih memaksimalkan kinerja produksi ayam pedaging melalui peningkatan kerja enzim dan ketersediaan nutrisi melalui peningkatan absorpsi P oleh dinding usus halus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kebutuhan riil fosfor non-fitat (*non-phytate phosphorus*) dengan

penambahan enzim fitase pada ayam pedaging fase *starter*.

Materi dan Metode

Penelitian dimulai dengan proses formulasi, pencampuran, serta penyediaan pakan penelitian.

Ayam yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah *day old chick* (DOC) ayam broiler umur 1 hari Lohmann MB 202 sebanyak 1000 ekor, yang terdiri dari 500 ekor jantan dan 500 ekor betina. Bahan baku pakan yang digunakan berupa bahan pakan komersial (Tabel 1). Ayam dipelihara di dalam kandang dengan sistem *closed house*.

Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dan 5 replikasi, masing-masing unit kandang terdiri dari 20 ekor ayam (10 ayam jantan dan 10 ayam betina). Pakan perlakuan (pakan *starter*; 22,83 % PK dan 3095 kcal/kg ME; ditambah enzim fitase) diberikan pada umur 0 s.d. 21 hari dengan menurunkan level NPP. Kalsium dan fosfor yang diberikan berupa *calcium carbonate* ($CaCO_3$) dan *mono calcium phosphate*. Ca pakan P1 – P5 diberikan sebanyak 0,598%; 1,105%; 1,252%; 1,399%; 1,546% sedangkan NPP ditambahkan dalam pakan sebanyak 1,484%; 1,113%; 0,742%; 0,371%; 0%; secara berurutan. Pengamatan rerata konsumsi pakan, pertambahan bobot badan (PBB), konversi pakan, rerata bobot badan dan angka kematian dilakukan pada 3 kelompok, yaitu: 0 s.d. 10 hari, 11 s.d. 21 hari, dan *overall* 0 s.d. 21 hari. Kadar abu *toe* diukur pada umur 21 hari. Data hasil penelitian dianalisis statistik menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan *Duncan's new multiple range test* untuk data yang berbeda antar perlakuan. Setiap pernyataan perbedaan yang nyata didasarkan pada level signifikansi kurang dari 5%. Analisis dilakukan menggunakan software *statistical package for the social sciences* (SPSS) versi 15.0. Data pada variabel rerata bobot badan dan kadar abu *toe* yang berbeda nyata untuk pengaruh NPP kemudian dilanjutkan dengan pembentukan grafik persamaan kuadrat:

$$y = ax^2 + bx + c$$

Penentuan kebutuhan NPP untuk rerata bobot badan dan kadar abu *toe*, melalui 95% dari respon maksimum. Respon maksimum ditentukan melalui:

$$y_{maks} = -b/2a$$

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian pada Tabel 2. menunjukkan bahwa pada periode 0-10 hari, pemberian pakan dengan kandungan Ca 0,67% dengan penambahan fitase ketika kandungan NPP yang diturunkan dari 0,420% hingga 0,120% tidak mempengaruhi konsumsi pakan, FCR, dan angka kematian. Penurunan kadar NPP dalam pakan hingga 0,195% juga tidak mempengaruhi pertambahan bobot badan (PBB) dan rerata bobot badan ternak yang dihasilkan. Namun demikian, penurunan hingga kadar 0,120% menurunkan PBB hingga 6,13% ($P < 0,001$)

dan rerata bobot badan hingga 5,54% ($P < 0,001$).

Pada periode 11-21 dan 0-21 hari, pemberian pakan dengan kandungan Ca 0,67% dengan penambahan fitase dan kandungan NPP yang diturunkan dari 0,420% hingga 0,120% tidak mempengaruhi nilai FCR dan angka kematian ternak. Hasil penelitian menunjukkan kandungan NPP yang diturunkan dari 0,420% hingga 0,195% tidak mempengaruhi konsumsi pakan, PBB, rerata bobot badan, ketika kadar NPP diturunkan hingga 0,120% konsumsi pakan ($P < 0,001$) turun sebanyak 9,55%, PBB turun hingga 8,23%, dan nilai rerata bobot badan turun hingga 8,73% ($P < 0,001$). Pada periode 0-21 hari, penurunan NPP hingga 0,120% menurunkan konsumsi pakan sebanyak

Tabel 1. Komposisi bahan pakan basal dan kandungan nutrient terhitung
 (ingredients composition of basal diet and nutrient content as analyzed)

Bahan baku (ingredients)	Persentase (percentage)
Bahan pakan penyusun pakan (%) (ingredients composition (%))	
Jagung	58,093
Corn gluten meal (CGM)	4,142
Dried distiller grain with soluble (DDGS)	3,095
Soybean meal (SBM)	30,657
Palm olein	2,390
DL-Methionine	0,292
Garam	0,203
L-Lysin HCl	0,351
L-Threonin	0,105
Sodium bicarbonat	0,349
Protector min premix III	0,031
Choline-Cl 60%	0,036
PX BRO starter	0,258
Total	100,000
Kandungan nutrien dan energi (nutrients and energy contents)	
Energi (kcal/kg) (energy (kcal/kg))	3095
Protein kasar (%) (crude protein (%))	22,829
Serat kasar (%) (crude fiber (%))	2,546
Lemak kasar (%) (ether extract (%))	5,374
Bahan kering (%) (dry matter (%))	88,604
Kadar air (%) (moisture (%))	11,396
Abu (%) (ash (%))	3,451
Kalsium (%) (calcium (%))	0,097
Fosfor total (%) (total phosphorus (%))	0,370
NPP (%)	0,123
Sodium (%)	0,939
M+C (%)	0,999

*Analisis dilakukan di Laboratorium Quality Control (QC) Pakan Japfa Comfeed Indonesia Unit Sidoarjo, Jawa Timur (analyses were performed at the Laboratory of Feed Quality Control, Japfa Comfeed Indonesia Unit Sidoarjo, East Java).

Tabel 2. Kinerja pertumbuhan ayam pedaging yang mendapatkan penambahan 0,67% Ca dan 60FTU fitase dengan level penambahan NPP yang berbeda
(growth performance of broiler with 0.67% Ca that combined with NPP at different levels with phytase)

Variabel (variable)	Perlakuan (treatments)					Statistik (statistic)	
	P1	P2	P3	P4	P5	SEM	P-value
Periode 1-10 hari (1-10 days rearing periods)							
FI (g)	297 ^{ab}	300 ^a	296 ^{ab}	305 ^a	284 ^b	2,170	0,022
NG (g)	261 ^a	260 ^a	258 ^a	261 ^a	245 ^b	22,877	0,029
FCR*	1,14	1,15	1,14	1,17	1,16	2,060	0,417
ABW	307 ^a	307 ^a	304 ^a	307 ^a	290 ^b	2,065	0,024
Mortalitas	1,50	0,50	0,00	1,00	0,50	0,286	0,544
Periode 11-21 hari (11-21 days rearing periods)							
FI (g)	963 ^a	960 ^a	951 ^a	953 ^a	871 ^b	6,673	<0,001
NG (g)	705 ^a	717 ^a	704 ^a	706 ^a	647 ^b	0,005	<0,001
FCR*	1,35	1,33	1,35	1,34	1,34	4,822	0,854
ABW	710 ^a	717 ^a	704 ^a	707 ^a	648 ^b	4,822	<0,001
Mortalitas	0,56	0,56	0,56	2,22	0,00	0,276	0,106
Overall							
FI (g)	1260 ^a	1259 ^a	1247 ^a	1259 ^a	1155 ^b	8,388	<0,001
NG (g)	1261 ^a	1259 ^a	1240 ^a	1236 ^a	1155 ^b	0,004	<0,001
FCR*	1,29	1,28	1,29	1,29	1,28	6,237	0,923
ABW	1017 ^a	1024 ^a	1008 ^a	1014 ^a	938 ^b	6,252	<0,001
Mortalitas	2,06	1,06	0,56	3,22	0,50	0,398	0,144

* Kadar NPP pakan: 0,420% (NPP of diets : 0.420% (P1); 0,345% (P2); 0,270% (P3); 0,195% (P4); 0,120% (P5).

FI= feed intake, NG= nett gain, FCR= adjusted feed conversion ratio, ABW= average body weight.

** Nilai FCR telah terkoreksi dengan angka kematian (mortality-corrected FCR).

Tabel 3. Estimasi kebutuhan NPP dengan enzim fitase ayam pedaging berdasarkan rerata pertambahan bobot badan
(estimation of NPP requirement with phytase based on average body weight of broiler)

Hari (days)	Variabel (variable)	Respon kurva kuadrat (quadratic responsecurve)	R ²	Estimasi kebutuhan NPP tercerna (%) (requirement estimation of digestible NPP (%))
1-10	ABW	-355,5X ² +237,3X-268,8	0,78 7	0,317 ^A
11-21	ABW	-1473X ² +974,1X-558,1	0,88 3	0,314 ^A
1-21	ABW	-1828X ² +1211X-826,9	0,86 6	0,315 ^A

^AKalkulasi 95% dari respon maksimum (calculated 95% from maximum response).

8,33% (P<0,001), menurunkan PBB hingga 8,41% (P<0,001), dan rerata bobot badan hingga 7,77% (P<0,001). Penentuan estimasi kebutuhan NPP dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil estimasi kebutuhan NPP dengan penambahan fitase untuk memaksimalkan rerata bobot badan yaitu 0,317% pada 1-10 hari; 0,314% pada 11-21 hari dan 0,315% pada 1-21 hari. Hasil analisis menunjukkan bahwa rerata bobot badan ayam pedaging pada 1-10 hari, 11-21 hari dan 1-21 hari dinilai baik, karena nilai R² mendekati 1.

Hasil penelitian ini mirip dengan hasil penelitian Cheng *et al.* (2004) yang menunjukkan bahwa penambahan fitase pada pakan rendah P memperbaiki penampilan pertumbuhan ayam pedaging. Kekurangan nutrisi pada pakan rendah P

dapat dipenuhi dengan adanya fitase yang dapat menghidrolisis nutrisi yang terikat pada asam fitat, oleh karena itu P dapat dimanfaatkan oleh ayam pedaging untuk pertumbuhan normal harian (Khan *et al.*, 2013). Hal ini disebabkan karena fitase dapat menghidrolisis senyawa kompleks yang terikat pada asam fitat, oleh karena itu P dan nutrisi lain dapat dilepaskan sehingga dapat diserap oleh dinding saluran pencernaan ayam pedaging untuk pertumbuhan normal. Faktor yang mempengaruhi kerja enzim fitase adalah konsentrasi fitat, taraf pemberian enzim fitase, karakteristik enzim fitase, sumber fitase, dan ukuran pakan (Amerah dan Ravidran, 2009). Agbede *et al.* (2009) menyebutkan bahwa penambahan fitase pada pakan rendah P dapat memperbaiki nilai kecernaan pakan, karena asam fitat dapat

Tabel 4. Kadar abu toe ayam pedaging umur 21 hari dengan penambahan 0,67% Ca dengan level penambahan NPP yang berbeda dengan penambahan fitase (toe ash content of broileron 21 days rearing periods with 0.67% Ca that combined with NPP at different level with phytase)

Variabel (variable)	Perlakuan (treatments)					Statistik (statistic)	
	P1	P2	P3	P4	P5	SEM	P-value
Kadar abu toe (toe ash)	12,28 ^a	12,05 ^{ab}	11,64 ^{bc}	11,24 ^c	10,30 ^d	14,745	<0,001

P1= 0,420; P2=0,345; P3=0,270; P4=0,195; P5=0,120.

Tabel 5. Estimasi kebutuhan NPP dengan enzim fitase ayam pedaging untuk kadar abu toe (estimation for NPP requirement with phytase for toe ash of broiler)

Variabel (variable)	Respon kurva kuadrat (quadratic responsecurve)	R ²	Estimasi kebutuhan NPP tercerna (%) (estimation for digestible NPP requirement (%))
Kadar abu toe (toe ash)	-18,07x ² + 16,11x + 8,670	0,990	0,424 ^A

^AKalkulasi 95% dari respon maksimum (calculated 95% from maximum response).

dihidrolisis oleh fitase menjadi 6 buah *monomioinositol-P*, sehingga dapat meningkatkan kandungan asam amino, P, dan energi (Zhou *et al.*, 2008).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa nilai FCR dan angka kematian tidak terpengaruh oleh penurunan kandungan fosfor, meskipun telah ditambahkan fitase ke dalam campuran pakannya. Waldroup *et al.* (2000) menyatakan bahwa penambahan fitase pada level terendah fosfor dapat menurunkan nilai angka kematian.

Hasil penelitian pada Tabel 4 menunjukkan bahwa pemberian pakan yang ditambah fitase dengan kandungan Ca 0,67% dan kandungan NPP yang diturunkan hingga 0,345% tidak mempengaruhi kadar abu toe. Namun, penurunan kandungan NPP hingga di bawah 0,195% menurunkan (P<0,001) kadar abu toe sebesar 8,47% dan pada kadar NPP 0,120% menurunkan (P<0,001) kadar abu toe sebesar 16,12%.

Data hasil penelitian ini sesuai dengan temuan Angel *et al.* (2006) yang menunjukkan bahwa penambahan fitase dalam pakan ayam pedaging rendah P sebanyak 600 U/kg meningkatkan kualitas tulang dengan meningkatkan kandungan abu tibia. Penelitian lain (Viveros *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2008) juga secara tegas menyebutkan bahwa kenaikan mineral P dapat memperbaiki mineralisasi tulang ayam pedaging. Senada dengan hal tersebut, Radovic *et al.* (2007) menunjukkan bahwa penambahan fitase dapat meningkatkan kualitas tulang ayam pedaging. Penelitian lain (Waldroup *et al.*, 2000) juga menunjukkan

bahwa kandungan abu tulang meningkat pada ayam pedaging yang diberi pakan berbasis jagung dan kedelai dengan penambahan fitase.

Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa penurunan NPP dengan enzim fitase secara statistik mempengaruhi kadar abu toe ayam pedaging fase starter. Penentuan estimasi kebutuhan kadar abu toe ayam pedaging fase starter dengan penambahan fitase terdapat pada Tabel 5. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa rerata kadar abu toe 1-21 hari dinilai baik karena nilai R² yang diperoleh mendekati 1. Hal ini memperkuat hasil penentuan estimasi kebutuhan NPP dengan penambahan fitase, dimana estimasi kebutuhan NPP dengan penambahan fitase untuk memaksimumkan rerata kadar abu toe pada umur 21 hari adalah 0,424%.

Kesimpulan

Dapat disimpulkan bahwa penurunan level fosfor dalam pakan menurunkan kinerja pertumbuhan ayam pada keseluruhan periode 0-10 hari; 11-21 hari dan 0-21 hari. Namun, ketika ke dalam campuran pakan ditambahkan enzim fitase, konsumsi pakan, pertambahan bobot badan, dan rerata bobot badan ayam dapat dipertahankan. Estimasi kebutuhan dengan penambahan NPP dan enzim fitase berdasarkan rerata bobot badan adalah sebesar 0,317% (0 s.d. 10 hari); 0,314% (11 s.d. 21 hari), dan 0,315% (0 s.d. 21 hari). Estimasi kebutuhan penambahan NPP dengan enzim fitase berdasarkan kadar

abu toe adalah sebesar 0,990% pada periode 21 hari.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada perusahaan PT. Japfa Comfeed dengan supervisi Ferry Poernama, Ph.D. atas fasilitas serta bimbingan selama penelitian ini berlangsung.

Daftar Pustaka

- Agbede, J. O., H. Kluth, and M. Rodehutsord. 2009. Studies on the effect of microbial phytase on amino acid digestibility and energy metabolisability in caecectomised laying hens and the interaction with the dietary phosphorus level. *Brit. Poult. Sci.* 50: 583-591.
- Amerah, A. M., and V. Ravindran. 2009. Influence of maize particle size and microbial phytase supplementation on the performance, nutrient utilization and digestive tract parameters of broiler starters. *Anim. Prod. Sci.* 49: 704-710.
- Angel, R., W. W. Saylor, A. D. Mitchell, W. Powers, and T. J. Applegate. 2006. Effect of dietary phosphorus, phytase and 25-hydroxycholecalciferol on broiler chicken bone mineralization, litter phosphorus and processing yields. *Poult. Sci.* 85:1200-1211.
- Cheng, Y. H., J. P. Goff, J. L. Sell, M. E. Dallorso, S. Gil, S. E. Pawlak, and R. L. Horst. 2004. Utilizing *Solanum glaucophyllum* alone or with phytase to improve phosphorus utilization in broilers. *Poult. Sci.* 83: 406-413.
- Khan, S. A., H. R. Chaudhry, Y. S. Butt, T. Jameel, and F. Ahmad. 2013. The effect of phytase enzyme on the performance of broiler flock. *Poult. Sci.* 1: 117-125.
- Li, Y. C., D. R. Ledoux, T. L. Veum, V. Raboy, and D. S. Ertl. 2000. Effects of low phytic acid corn on phosphorus utilization, performance and bone mineralization in broiler chicks. *Poult. Sci.* 79: 1444-1450.
- Radovic, V., S. Bogosavljevic-Boskovic, and V. Daskovic. 2007. Phytase in diet for fattening chickens, influence on bone's quality. *Biotechnology Anim. Husbandry* 3: 303-309.
- Ravindran, V., W. L. Bryden, and E. T. Kornegay. 2006. Phytates: Occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poult. Avian Biol. Reviews* 6: 125-143.
- Santos, F. R., M. Hruby, E. E. M. Pierson, J. C. Remus, and N. K. Sakomura. 2008. Effect of phytase supplementation in diets on nutrient digestibility and performance in broiler chicks. *J. Appl. Poult. Res.* 17: 191-201.
- Seaman, J. C., J. M. Hutchison, B. P. Jackson, and V. M. Vulava. 2003. In situ treatment of metals in contaminated soils with phytate. *J. Environ. Quality.* 32: 153-161.
- Traylor, S. L., G. L. Cromwell, M. D. Lindermann, and D. A. Kuabe. 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.
- Viveros, A., A. Brenes, I. Arija, and C. Centeno. 2002. Effect of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. *Poult. Sci.* 81: 1172-1183.
- Waldroup, P. W., J. H. Kerey, E. A. Saleh, C. A. Fritts, F. Yan, H. L. Stilborn, R. C. Crum, Jr, and V. Raboy. 2000. Nonphytate phosphorus requirement and phosphorus excretion of broiler chicks fed diets composed of normal and high available phosphate corn with and without microbial phytase. *Poult. Sci.* 79: 1451-1459.
- Zhou, J. P., B. Yang, W. R. Yang, X. Y. Wang, S. Z. Jiang, and G. G. Zhang. 2008. Effect of a new recombinant phytase on the performance and mineral utilization of broilers fed phosphorus-deficient diets. *J. Appl. Poult. Res.* 17: 331-339.
- Zyla, K., J. Koreleski, S. Swiatkiewicz, D. R. Ledoux, and J. Piironen. 2000. Influence of supplemental enzymes on the performance and phosphorus excretion of broilers fed wheat-based diets to 6 weeks of age. *Anim. Feed Sci. Technol.* 89: 113-118.