

Penggunaan Enzim Fitase Untuk Meningkatkan Ketersediaan Fosfor Dari Sumber Bahan Nabati Pakan dan Pertumbuhan Ikan Lele (*Clarias Sp*)

The Use of Phytase Enzyme to Increase Phosphorus Bioavailability of the Diets and Growth Performance of Catfish (*Clarias sp*)

Mohamad Amin¹⁾, Dedi Jusadi²⁾, Ing Mokoginta²⁾

¹⁾PS Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Jl Palembang –Prabumulih KM 32 Ogan Ilir Sumsel, Telp (0711) 580934 , Fax : (0711) 580276, email : amindous@yahoo.com

²⁾Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Dermaga Bogor.

Diserahkan : 28 Desember 2010; Diterima : 20 Januari 2011

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian enzim fitase terhadap ketersediaan fosfor (P) dari sumber bahan nabati pakan ikan lele, dan pengaruhnya terhadap kinerja pertumbuhan serta limbah P yang dihasilkan. Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 4 ulangan yaitu: pakan A sebagai kontrol pakan dengan penambahan P anorganik; pakan B pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase; pakan C pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase dan asam sitrat; dan pakan D pakan tanpa P anorganik dan tanpa enzim fitase. Pakan uji adalah isoprotein dan isokalori. Jumlah enzim fitase yang ditambahkan sebanyak 50 mg/100 g bahan nabati (bungkil kedelai dan polard). Data diperoleh dianalisis sidik ragam, yang dilanjutkan dengan uji Tukey. Ikan lele sebanyak 10 ekor dengan berat $6,3 \pm 0,05$ g, dimasukkan ke dalam akuarium berukuran 50x40x35 cm. Pakan diberikan 3 kali sehari secara *at satiation*, selama 60 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan enzim fitase mampu meningkatkan pencernaan P dari 68,55% menjadi 86,10%. Kecernaan P pakan B dan C lebih tinggi ($p < 0,05$) dibandingkan pakan A dan D. Laju pertumbuhan harian pakan B dan C lebih tinggi dibandingkan dengan pakan D, tetapi sama dengan pakan A. Konversi pakan (FCR) pakan A, B, dan C lebih baik dibanding pakan D. Konsentrasi P dalam tubuh, tulang maupun serum darah pakan A, B, dan C lebih tinggi dibanding pakan D, tetapi konsentrasi Ca dan Zn baik dalam tubuh, tulang dan serum darah semuanya sama. Limbah P yang dihasilkan lebih rendah 58 % dibandingkan dengan pakan kontrol (pakan A).

Kata kunci: Ikan lele dumbo , enzim fitase, fosfor, ketersediaan

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of dietary phytase supplementation on phosphorus (P) bioavailability of the diets and growth performance of catfish (*Clarias sp*) as well as P loading. Four experimental diets were used in this experiment. Diet (A), as a control, was supplemented with inorganic P; diet (B) supplemented with phytase, without inorganic P; diet (C) supplemented with phytase and citric acid, without inorganic P; and diet (D) without phytase and inorganic P. Phytase was added to the diet at 50 mg/100 g soy bean meal and pollard. Ten fishes with initial body weight of 6.3 ± 0.05 g distributed into an aquarium. Fish fed on the diets for 60 days, there time daily, at satiation. Results indicated that P digestibility increased from 68.55% to 86.1% by the addition of phytase. P digestibility in diet B and C was higher than diet A and D. Daily growth rate of fish from diet B and C were significantly higher than that of diet D, but similar with diet A. Food conversion ratio (FCR) of fish from diet A, B, and C was better than diet D. P concentration in the whole body, bone, and plasma, of fish from diet A, B, and C was higher than diet D, but the Ca and Zn concentration in the whole body, bone, plasma was the same in all treatments. P loading by fish fed diet with phytase were 58% lower than that of the fish fed control diet.

Keyword: *Clarias sp*, phytase, phosphorus, bioavailability

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tepung ikan merupakan sumber protein utama yang digunakan dalam pembuatan pakan ikan, namun penggunaan tepung ikan akan mengalami masalah terutama pada harga dan ketersediaannya dalam memenuhi kebutuhan untuk budi daya. Usaha untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan mengurangi penggunaan tepung ikan dan menggantinya dengan sumber protein dari bahan

nabati. Bahan pengganti tepung ikan umumnya adalah tepung bungkil kedelai karena selain mempunyai protein yang tinggi, profil asam aminonya relatif mirip dengan profil asam amino dari tepung ikan (Hertrampf dan Pascual, 2000). Tepung bungkil kedelai mampu mensubstitusi sebagian tepung ikan dalam pakan *rainbow trout* (Hardy, 2002), ikan gurami (Suprayudi *et al.*, 2003). Robinson dan Li (2002) menggunakan berbagai bahan baku nabati dalam pakan ikan channel

catfish yaitu tepung bungkil kedelai, tepung polard, dan tepung biji kapas.

Penggunaan sumber bahan baku nabati dalam bahan pakan ikan perlu memperhatikan adanya faktor anti nutrisi yaitu asam fitat. Asam fitat merupakan bentuk penyimpanan utama fosfor (P) dan dapat mencapai 80% dari total fosfor yang ada. Asam fitat juga mampu mengikat mineral-mineral bervalensi 2 atau 3 (kalsium, besi, seng, magnesium) untuk membentuk kompleks yang sulit diserap usus (Baruah *et al.*, 2004). Fosfor yang terkandung dalam bahan baku nabati tidak mampu dimanfaatkan oleh ikan karena keterbatasan enzim pemecah asam fitat yaitu fitase (Masumoto *et al.*, 2001; Debnath *et al.*, 2005). Asam fitat diekskresikan bersama feses ikan akan mengalami degradasi oleh mikroba penghasil fitase dalam air, sehingga fosfor akan dilepaskan ke perairan. Kandungan fosfor yang tinggi di perairan akan memicu proses eutrofikasi yang akan merugikan bagi kelangsungan proses budi daya (Baruah *et al.*, 2004). Penambahan enzim fitase dalam pakan dapat meningkatkan pemanfaatan P dari sumber bahan baku nabati, sehingga dapat mengurangi pencemaran P ke perairan (Baruah *et al.* 2004). Fitase adalah enzim yang mampu mengkatalisis hidrolisis asam fitat (mio-inositol heksakisfosfat) menjadi mio-inositol mono, di, tri, tetra dan pentafosfat, serta fosfat organik (Baruah *et al.* 2004)

Sejumlah penelitian sudah dilakukan untuk mengetahui pengaruh enzim fitase terhadap ketersediaan fosfor dari bahan nabati pakan ikan. Masumoto *et al.* (2001) menyatakan bahwa pemberian fitase dengan dosis 50 mg/100 g tepung bungkil kedelai, mampu meningkatkan ketersediaan P pakan ikan Japanese flounder ukuran 35 g. Yan *et al.* (2002) melaporkan bahwa pemberian enzim fitase 1000 unit per kilogram pakan mampu meningkatkan konsentrasi Ca, P, Mg dalam tulang ikan channel catfish ukuran 12 g. Debnath *et al.* (2005) melaporkan bahwa penambahan enzim fitase dengan dosis 500 unit per kilogram pakan, mampu meningkatkan pertumbuhan ikan *Pangasius pangasius* ukuran fingerling.

Efektivitas penggunaan enzim fitase terhadap pencernaan nutrisi dan kinerja pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh spesies, ukuran, dan bahan baku yang digunakan. Untuk mendapatkan informasi lebih luas

mengenai hal ini, maka perlu dilakukan pengkajian pengaruh enzim fitase terhadap pencernaan nutrisi dan kinerja pertumbuhan pada spesies, ukuran, dan bahan

baku yang berbeda. Suplementasi enzim fitase dalam pakan ikan lele ini diharapkan dapat mengurangi penambahan mineral P anorganik dalam pakan, meningkatkan pertumbuhan dan mengurangi limbah P ke dalam perairan, sehingga akan tercipta pakan yang ramah lingkungan.

Bahan dan Metode

Pakan Uji

Pakan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas empat macam pakan yang berbeda berdasarkan perlakuan, yaitu: (A) pakan dengan penambahan P anorganik, (B) pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase, (C) pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase dan asam sitrat, dan (D) pakan tanpa P anorganik dan tanpa pemberian enzim fitase. Pakan uji untuk setiap perlakuan adalah isoprotein dan isokalori. Enzim fitase yang digunakan adalah enzim fitase merek Natuphos 5000[®]. Jumlah enzim fitase yang ditambahkan adalah 50 mg/100 g bahan nabati (bungkil kedelai dan polard), 50 mg enzim fitase setara dengan 250 unit enzim fitase. Asam sitrat digunakan untuk membuat kondisi pH pakan 5,5. Komposisi pakan uji berdasarkan hasil penelitian Mayasari (2005) yang dimodifikasi, tertera pada Tabel 1. Proses pembuatan pakan dari 1 kg bahan baku menggunakan metode Cheng dan Hardy (2002) dan Masumoto *et al.* (2001). Hasil analisis proksimat dari pakan disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 1 Komposisi bahan pakan penelitian (g/kg pakan)

Bahan pakan	Pakan			
	A	B	C	D
Tepung ikan ¹	193	193	193	193
Tepung kedelai ¹	357	357	357	357
Tepung polard ¹	335	335	335	335
Tepung tapioka	29,90	29,45	21,55	29,90
Minyak kedelai	20	20	20	20
Minyak ikan	10	10	10	10
Bahan additive	5	5	5	5
Vitamin mix	15	15	15	15
Mineral mix²	30	0	0	0
Mineral mix bebas P³	0	30	30	30

Choline chloride	5	5	5	5
Vitamin C	0,10	0,10	0,10	0,10
Fitase	0	0,35	0,35	0
Asam sitrat	0	0	8	0

Keterangan:

1. Kandungan protein (bobot kering) tepung ikan 70,93%, tepung bukil kedelai 42,75%, tepung polard 19,86%.
2. Mineral mix g/100g pakan; MgSO₄·7H₂O 7,50, NaCl 0,50, NaH₂PO₄·H₂O 12,50, KH₂PO₄ 16,00, Ca₂(PO₄)₃ 6,53, Fe- Citrat 1,25, trace elemen mix 1,00, Maizena 13,92 (Takeuchi 1988).
3. Mineral mix bebas P g/100g pakan, menggunakan KCl 8,7 untuk mengganti KH₂PO₄ 16,00 dan Ca Cl₂·5H₂O 6,977 untuk mengganti Ca₂(PO₄)₃ 6,53.

A: pakan dengan penambahan P anorganik,

B : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase,

C : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase dan asam sitrat, dan

D: pakan tanpa P anorganik dan tanpa pemberian enzim fitase.

Tabel 2 Komposisi proksimat, energi dan P pakan uji (% bobot kering)

Kandungan	Pakan			
	A	B	C	D
Protein	31,34	31,58	31,16	31,35
Lemak	5,77	5,52	5,67	5,69
Kadar abu	9,57	10,60	8,99	8,97
Serat kasar	6,98	4,42	5,91	6,50
Kadar air	14,81	18,22	17,05	17,34
BETN ¹	54,27	58,36	57,07	56,68
Total fosfor	1,32	1,16	1,11	1,13
Fosfor terlarut	0,58	0,46	0,49	0,22
Fosfor terlarut/total P (%)	43,90	39,70	44,10	19,50
Energi total (GE kkal/100g) ²	380,94	380,73	378,07	380,94
Energi /protein (kkal GE/g protein)	14,26	14,73	14,62	14,70

Keterangan: 1. Bahan ekstrak tanpa nitrogen. 2. Energi total dihitung berdasarkan nilai ekuivalen : protein 5,6 kkal/g, lemak 9,4 kkal/g, BETN 4,1 kkal/g (Watanabe 1988).

A: pakan dengan penambahan P anorganik,

B : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase,

C : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase dan asam sitrat, dan

D: pakan tanpa P anorganik dan tanpa pemberian enzim fitase.

Pemeliharaan Ikan dan Pengumpulan Data Uji Pertumbuhan

Ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele dengan bobot rata-rata individu 6,3 ± 0,05 g yang berasal dari sentral pembenihan di Parung, Bogor. Ikan dipelihara dalam akuarium sebanyak 16 buah dengan ukuran 50x40x35 cm yang dilengkapi dengan sistem resirkulasi. Adaptasi ikan terhadap lingkungan laboratorium dan pakan uji dilakukan selama 2 minggu. Setelah ikan dapat beradaptasi, ikan diseleksi, sebelum diseleksi ikan dipuasakan selama 24 jam, kemudian dibius dengan menggunakan *tricaine methanosulfonate* (MS 222) 12 ppm. Ikan ditimbang bobotnya, kemudian dimasukkan ke dalam akuarium sebanyak 10 ekor/akuarium. Selama pemeliharaan, ikan diberi pakan tiga kali sehari sekitar pukul 8.00, 13.00 dan 18.00 WIB. Pemberian pakan dilakukan sampai kenyang (*at satiation*). Untuk menjaga kualitas air, dilakukan penyiponan dan pergantian air sebanyak 30% dari volumenya. Ikan dipelihara selama 60 hari. Ikan yang mati selama pemeliharaan ditimbang untuk dimasukkan dalam perhitungan konversi pakan. Di akhir masa pemeliharaan seluruh ikan yang hidup ditimbang bobotnya. Sebelum dilakukan penimbangan, ikan terlebih dahulu dipuasakan selama 24 jam. Ikan

kemudian dibius dengan menggunakan MS 222 dengan dosis 12 ppm. Kualitas air selama penelitian adalah sebagai berikut: kandungan oksigen terlarut berkisar 4,1-5,5 ppm, suhu berkisar 28-30 °C, pH berkisar 6,13-6,21, total amonia 0,012-0,18 ppm dan alkalinitas 28-30 ppm CaCO₃, yang cukup mendukung pertumbuhan ikan.

Uji Kecernaan

Uji kecernaan pakan dengan menggunakan indikator kromium oksida (Cr₂O₃). Kromium oksida yang ditambahkan dalam pakan sebanyak 0,5%. Uji kecernaan dilakukan secara terpisah dengan uji pertumbuhan. Ikan lele yang digunakan dalam uji kecernaan ini berukuran 12 ± 1,5 g. Uji kecernaan menggunakan ikan lele yang berbeda dengan yang digunakan untuk uji pertumbuhan, tetapi masih berasal dari sumber yang sama. Wadah pemeliharaan adalah akuarium sebanyak 12 akuarium dengan ukuran 50x40x35 cm yang dilengkapi dengan sistem resirkulasi. Setiap akuarium diisi dengan 10 ekor ikan. Adaptasi pakan berkromium dilakukan selama 7 hari. Pada hari ke 8, feses mulai dikumpulkan dan pengumpulan feses dilakukan selama 21 hari. Pengumpulan feses dilakukan segera setelah ikan mengeluarkan feses

untuk menghindari pencucian feses, dengan cara penyiponan. Kandungan kromium, fosfor, dan protein dalam feses dianalisis untuk menghitung pencernaan berdasarkan prosedur Takeuchi (1988).

Analisis Kimia

Analisis proksimat meliputi kadar protein, lemak, BETN, abu serat kasar dan air. Bahan baku pakan dan pakan dianalisis pada awal penelitian, sedangkan proksimat tubuh ikan dilakukan pada awal penelitian dan akhir penelitian. Analisis feses dilakukan saat menguji pencernaan. Analisis kadar protein menggunakan metode *Kjedahl*, analisis lemak menggunakan metode ekstraksi *ether*, kadar abu dengan pemanasan sampel pada suhu 600°C, serat kasar dengan menggunakan metode pelarutan sampel dalam asam dan basa kuat serta pemanasan. Analisis mineral fosfor dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer, dan untuk mineral Ca, Zn menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). Analisis mineral menggunakan prosedur Reitz *et al.* (1960). Untuk analisis proksimat dan mineral tubuh ikan, sampel yang digunakan sebanyak 4 ekor/ulangan. Sampel ikan yang digunakan untuk analisis mineral tulang sebanyak 3 ekor/ulangan. Tulang dipisahkan dari daging dengan cara perendaman air panas, setelah daging empuk kemudian tulang dipisahkan dari daging sampai bersih. Untuk membersihkan lemak dalam tulang, dilakukan perendaman dengan menggunakan alkohol 70% selama 24 jam, kemudian dianalisis kadar mineral P, Ca, dan Zn. Analisis mineral dalam tulang dilakukan pada akhir penelitian.

Untuk analisis mineral dalam serum darah, sampel ikan yang digunakan sebanyak 3 ekor/ulangan yang sebelumnya sudah dipuasakan selama 24 jam. Darah diambil dengan menggunakan spuit suntik ukuran 1 ml. Darah diambil di daerah pangkal ekor, terlebih dahulu ikannya dibius dengan menggunakan MS 222 dengan dosis 12 ppm. Sampel darah selanjutnya disentrifuse selama 10 menit dengan

kecepatan 1700 rpm untuk memisahkan serumnya. Serum darah diambil kemudian dianalisis mineral P, Ca, dan Zn. Metode pengambilan darah berdasarkan Hughes dan Soares (1998). Analisis mineral dalam serum darah dilakukan pada akhir penelitian.

Analisis Statistik

Metode yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 4 ulangan. Selanjutnya data pencernaan fosfor, limbah P, konsumsi pakan, laju pertumbuhan harian, retensi lemak, konversi pakan, kadar mineral tubuh, tulang, dan serum darah dianalisis dengan menggunakan analisis ragam, jika terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Tukey (Matjik dan Sumertajaya 2000). Software yang digunakan untuk mengolah data adalah Minitab 13.

Perhitungan peubah-peubah yang diamati pada penelitian ini menggunakan formulasi sebagai berikut: Kecernaan fosfor/ protein (%) (Takeuchi, 1988), Laju pertumbuhan harian (Huisman, 1976), Retensi protein (Takeuchi, 1988), Konversi pakan (Stefens, 1989), Sintasan (SR), Fosfor (P) terbuang melalui feses (Li *et al.* 2004), Limbah P akibat memproduksi 1 kg ikan dihitung berdasarkan limbah P yang terbuang lewat feses dengan memperhatikan nilai konversi pakan (FCR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian enzim fitase dalam pakan dengan atau tanpa asam sitrat mampu meningkatkan pencernaan fosfor (P) pakan secara nyata. Penambahan enzim fitase dalam pakan mampu meningkatkan pencernaan P dari 68,55% menjadi 86,10% (Tabel 3). Besarnya nilai pencernaan akan berkaitan dengan limbah yang dihasilkan, dimana semakin tinggi nilai pencernaan maka semakin kecil limbah P dalam feses yang dihasilkan. Limbah P yang dihasilkan selama penelitian disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3 Nilai pencernaan fosfor dan protein serta limbah P selama penelitian

Komponen	Pakan			
	A	B	C	D
Kecernaan fosfor (%)	73,13 ± 0,85 ^b	86,10 ± 0,45 ^a	85,05 ± 0,27 ^a	68,55 ± 0,39 ^c
Konsumsi P (g)	15,60 ± 0,7 ^a	13,90 ± 0,7 ^b	13,70 ± 0,6 ^b	11,50 ± 0,1 ^c
P tercerna (g)	11,40 ± 0,5 ^a	12,00 ± 0,6 ^a	11,60 ± 0,5 ^a	7,90 ± 0,0 ^b
P terbuang (g)	4,20 ± 0,2 ^a	1,90 ± 0,1 ^c	2,00 ± 0,1 ^c	3,60 ± 0,0 ^b

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

A: pakan dengan penambahan P anorganik,

B : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase,

C : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase dan asam sitrat, dan

D: pakan tanpa P anorganik dan tanpa pemberian enzim fitase.

Penambahan enzim fitase dalam pakan, mampu mengurangi limbah P secara nyata dibandingkan dengan pakan tanpa pemberian enzim fitase. Pakan B dan C menghasilkan limbah P yang paling rendah, sedangkan limbah P paling besar dihasilkan oleh pakan A. Walaupun nilai pencernaan

pakan A lebih tinggi dari pakan D, tetapi limbah yang dihasilkan pakan D lebih rendah, hal ini disebabkan perbedaan jumlah konsumsi pakan, dimana ikan yang diberikan pakan A tingkat konsumsi pakan lebih besar dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan D. Limbah P yang dihitung berdasarkan 1 kg produksi

ikan disajikan pada Tabel 4. Untuk menghasilkan 1 kg ikan, dengan penambahan enzim fitase dalam pakan (pakan B dan C), limbah P yang dihasilkan lebih

rendah secara nyata dibandingkan pakan kontrol (pakan A).

Tabel 4 Limbah P (g/kg penambahan bobot ikan) yang terbuang melalui feses

Parameter	Pakan			
	A	B	C	D
Limbah P(g/kg penambahan bobot)	4,26 ± 0,14 ^b	1,77 ± 0,06 ^c	1,82 ± 0,03 ^c	4,9 ± 0,6 ^a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

A: pakan dengan penambahan P anorganik,

B : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase,

C : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase dan asam sitrat, dan

D: pakan tanpa P anorganik dan tanpa pemberian enzim fitase.

Komposisi mineral dalam tubuh, tulang dan serum darah ikan lele disajikan dalam Tabel 5. Pemberian enzim fitase dengan atau tanpa asam sitrat

mampu meningkatkan kandungan P secara nyata dalam tubuh, tulang maupun serum darah.

Tabel 5 Komposisi mineral ikan lele selama penelitian untuk semua perlakuan

Parameter	Perlakuan			
	A	B	C	D
Tubuh				
P (%)	2,64 ± 0,19 ^a	2,75 ± 0,18 ^a	2,74 ± 0,13 ^a	2,27 ± 0,11 ^b
Ca (%)	5,61 ± 0,25 ^a	6,05 ± 0,45 ^a	5,86 ± 0,87 ^a	5,04 ± 0,25 ^a
Zn (%)	0,01 ± 0,001 ^a	0,01 ± 0,001 ^a	0,01 ± 0,001 ^a	0,01 ± 0,001 ^a
Tulang				
P (%)	20,47 ± 1,29 ^a	20,65 ± 0,65 ^a	20,76 ± 0,09 ^a	18,07 ± 0,09 ^b
Ca (%)	46,77 ± 4,40 ^a	49,12 ± 3,14 ^a	47,59 ± 1,28 ^a	45,32 ± 4,11 ^a
Zn (%)	0,03 ± 0,002 ^a	0,03 ± 0,001 ^a	0,03 ± 0,001 ^a	0,03 ± 0,001 ^a
Serum darah				
P (mg/100ml)	12,68 ± 0,48 ^a	11,56 ± 0,71 ^a	10,76 ± 0,49 ^a	8,62 ± 0,50 ^b
Ca (mg/100ml)	12,16 ± 0,39 ^a	11,40 ± 1,01 ^a	12,36 ± 1,03 ^a	11,20 ± 1,56 ^a
Zn (mg/100ml)	3,25 ± 0,17 ^a	2,75 ± 0,65 ^a	3,05 ± 0,28 ^a	2,50 ± 0,64 ^a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

A: pakan dengan penambahan P anorganik,

B : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase,

C : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase dan asam sitrat, dan

D: pakan tanpa P anorganik dan tanpa pemberian enzim fitase.

Namun pemberian enzim fitase dalam pakan memberikan hasil yang sama dengan pakan yang diberikan P anorganik (pakan A). Ikan yang memakan pakan tanpa penambahan P anorganik dan enzim fitase (pakan D), kandungan mineral P dalam tubuh, tulang dan serum darah paling rendah. Sedangkan konsentrasi mineral Ca dan Zn, pemberian enzim fitase dalam pakan tidak memberikan pengaruh yang nyata, baik di dalam tubuh, tulang, maupun serum darah.

Data bobot biomassa ikan lele awal dan akhir pada setiap perlakuan selama penelitian tertera pada Tabel 6. Penambahan enzim fitase dalam pakan, baik tanpa maupun dengan asam sitrat, menghasilkan laju

pertumbuhan yang secara nyata lebih tinggi dibanding dengan pakan yang tidak ditambahkan enzim fitase dan P anorganik (pakan D). Laju pertumbuhan harian ikan yang diberikan pakan dengan penambahan P anorganik (pakan A) memberikan hasil yang sama dengan pakan yang diberikan enzim fitase (pakan B dan C). Ikan yang diberikan pakan dengan penambahan enzim fitase dengan atau tanpa asam sitrat, retensi lemaknya sama dengan ikan pada pakan A, tetapi berbeda dengan ikan yang makan pakan tanpa P anorganik dan enzim fitase (pakan D).

Tabel 8 Rata-rata bobot biomassa awal (B0), bobot biomassa akhir (B1), laju pertumbuhan harian (LPH), konsumsi pakan (KP), konversi pakan (FCR), dan sintasan (SR)

Parameter	Pakan			
	A	B	C	D
B0(g)	63,0 ± 1,4	62,4 ± 1,7	62,6 ± 2,0	63,5 ± 1,0
B1 (g)	1062,0 ± 98,5	1164,9 ± 34,3	1156,9 ± 69,2	762,4 ± 20,9
LPH(%)	4,6 ± 0,17 ^a	4,8 ± 0,04 ^a	4,8 ± 0,14 ^a	4,1 ± 0,07 ^b
KP (g)	1 209,2 ± 21,44 ^a	1 199,7 ± 56,68 ^a	1 232,8 ± 52,53 ^a	1 005,8 ± 7,90 ^b
FCR	1,2 ± 0,08 ^a	1,1 ± 0,04 ^a	1,1 ± 0,09 ^a	1,4 ± 0,15 ^b
RL(%)	80,0 ± 4,47 ^a	86,5 ± 6,75 ^a	72,8 ± 7,27 ^a	55,2 ± 2,87 ^b
SR	92,5 ± 9,5 ^a	97,5 ± 5,0 ^a	97,5 ± 5,0 ^a	92,5 ± 5,0 ^a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

A: pakan dengan penambahan P anorganik,

B : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase,

C : pakan tanpa P anorganik dengan penambahan enzim fitase dan asam sitrat, dan

D: pakan tanpa P anorganik dan tanpa pemberian enzim fitase.

Nilai konversi pakan menunjukkan bahwa pemberian enzim fitase dengan atau tanpa asam sitrat dalam pakan, menghasilkan nilai konversi pakan yang nyata lebih baik daripada pakan tanpa penambahan enzim fitase dan P anorganik (Tabel 8). Konversi pakan yang paling kecil dihasilkan pakan dengan penambahan enzim fitase baik dengan atau tanpa asam sitrat, dan konversi pakan terbesar dihasilkan pakan pada perlakuan tanpa pemberian P anorganik dan enzim fitase (pakan D).

Pembahasan

Penambahan enzim fitase dengan atau tanpa asam sitrat mampu meningkatkan nilai pencernaan P pakan. Ikan yang diberi pakan dengan penambahan enzim fitase, pencernaan P (86,10%) lebih tinggi dibanding pakan yang tidak diberi penambahan enzim fitase (68,55%). Hal ini membuktikan bahwa enzim fitase mampu membebaskan P yang terikat dalam asam fitat yang terdapat pada bungkil kedelai dan polard, sehingga dapat meningkatkan pencernaan P. Hasil yang sama diperoleh Tales *et al.* (1998) melaporkan bahwa penambahan enzim fitase dalam pakan yang mengandung bahan nabati dapat meningkatkan pencernaan P dari 63% menjadi 79,8% pada ikan seabass (*Dicentracus labraks*) ukuran juvenile, Papatryphon dan Soares (2001) pada ikan striped bass (*Morone saxatilis*) dari 59% menjadi 87%, Cheng dan Hardy (2004) pada ikan rainbow trout ukuran 20 g dari 80% menjadi 89,1%, Sajjadi dan Carter (2004) pada ikan Atlantik salmon (*Salmo salar*) ukuran 100 g dari 63, 84% menjadi 74, 06%, dan Yulisman (2006) pada ikan baung (*Hemibagrus nemurus*) ukuran 6,9 g dari 64,5% menjadi 87,0%. Ketiadaan enzim fitase dalam pakan D menyebabkan P yang terdapat dalam bahan nabati masih terikat dalam asam fitat, sehingga pencernaan P menjadi rendah.

Kecernaan P pakan yang diberi penambahan enzim fitase dengan atau tanpa asam sitrat ternyata sama, keduanya mempunyai pencernaan P yang tinggi. Penambahan asam sitrat bertujuan untuk membuat kondisi pH pakan sebesar 5,5. Pada pH tersebut enzim fitase akan bekerja dengan optimal, sehingga proses pelepasan P dari asam fitat akan maksimal. Masumoto

et al. (2001) menyatakan bahwa umumnya pH pakan yang menggunakan bahan nabati bungkil kedelai berada pada kisaran 6,5, dimana pada pH tersebut aktivitas enzim fitase sudah mulai menurun, sehingga perlu ditambahkan asam sitrat untuk membuat kondisi pH berada pada kisaran 5,5. Pakan B yang hanya ditambahkan enzim fitase tanpa pemberian asam sitrat, ternyata memberikan hasil yang sama terhadap pencernaan P. Proses hidrolisis asam fitat dimulai pada saat seluruh bahan baku pakan sudah tercampur. Pada penelitian ini diperoleh bahwa pH pakan yang menggunakan bahan nabati bungkil kedelai dan polard pH pakannya sebesar 6,1. Pada pH tersebut enzim fitase ternyata mampu bekerja dengan baik sehingga proses pelepasan P dari asam fitat juga dapat maksimal dilakukan. Sheuermann *et al.* (1988) dalam Beruah *et al.* (2004) menyatakan bahwa enzim fitase aktif bekerja pada rentang pH 4-6,9.

Adanya perbedaan nilai rasio P terlarut/P total (Tabel 2) dan nilai pencernaan P (Tabel 3) mengindikasikan bahwa enzim fitase melepaskan P dari bahan nabati terjadi melalui dua tahap. Pertama pada saat pembuatan pakan: pada saat pakan diinkubasi pada suhu 37 °C, maka proses pelepasan P dari asam fitat terjadi. Hal ini terlihat dari nilai rasio P terlarut/P total dari pakan tanpa penambahan enzim fitase sebesar 19,5% menjadi 44,1% pada pakan dengan penambahan enzim fitase. Tahap kedua dapat dijelaskan dengan melihat adanya perbedaan nilai rasio P terlarut/P total dari pakan dengan penambahan enzim fitase dengan nilai kecernaannya. Nilai rasio P terlarut/P total yaitu 39,7% pada pakan B dan 44,1% pada pakan C, tetapi nilai pencernaan P meningkat menjadi 86,1% untuk pakan B dan 85,05% untuk pakan C. Hal ini menjelaskan bahwa pada saat makanan masuk dalam saluran pencernaan, enzim fitase masih aktif bekerja. Hal ini senada dengan pendapat Masumoto *et al.* (2001) bahwa melalui proses inkubasi, pakan yang diberi penambahan enzim fitase 50 mg/100 g bahan nabati pada suhu 37 °C selama 2 jam memberikan nilai P terlarut/P total sebesar 58,7% dan nilai pencernaan P nya 95,4%.

Kecernaan P akan berpengaruh pada nilai P absolut yang dicerna akibat dari jumlah P yang

dikonsumsi yang berbeda sehingga P yang tersedia dalam tubuh juga berbeda. Nilai konsumsi P yang tinggi dan didukung pencernaan yang tinggi menyebabkan nilai P yang dicerna juga tinggi, sehingga konsentrasi P dalam serum darah akan tinggi. Konsentrasi P dalam serum darah menggambarkan hasil absorpsi P yang ditransport. Djodjosubagio (1990) menyatakan bahwa penyebaran fosfor dalam tubuh melalui peredaran darah dan cairan antar sel.

Material pakan yang tidak dapat dicerna oleh ikan akan dikeluarkan melalui feses. Pemberian enzim fitase dalam pakan mampu mengurangi ekskresi P yang terbuang melalui feses. Ikan yang diberikan pakan dengan penambahan enzim fitase, jumlah limbah fosfor yang dihasilkan lebih rendah dibanding dengan perlakuan tanpa pemberian enzim fitase. Ini membuktikan bahwa dengan penambahan enzim fitase fosfor yang terikat dalam asam fitat mampu diuraikan sehingga dapat dimanfaatkan oleh ikan. Hasil berbeda pada perlakuan D dan A dimana fosfor yang terikat dalam asam fitat tidak dapat cerna oleh ikan sehingga limbah fosfornya tinggi. Hewan-hewan monogastrik seperti ikan tidak mampu mencerna asam fitat oleh karenanya akan dilepas ke perairan. Asam fitat yang diekskresikan ini selanjutnya akan mengalami degradasi oleh mikroba penghasil fitase dan melepaskan fosfor. Fosfor dalam jumlah yang besar masuk ke perairan akan memicu timbulnya *eutrofikasi* di perairan (Baruah *et al.* 2004).

Penurunan limbah P yang dihasilkan karena penambahan enzim fitase dalam pakan, dapat lebih jelas jika kita menghitungnya berdasarkan 1 kg produksi ikan. Untuk memperoleh 1 kg ikan lele, maka dengan penambahan enzim fitase dalam pakan, limbah P yang dihasilkan hanya 1,7 g, atau lebih rendah sekitar 58 % dari pakan kontrol (pakan A). Hasil yang sama diperoleh Teles *et al.* (1998) pada ikan sea bass (*Dicentrarchus labrax*) mampu mengurangi limbah P sebesar 58%, Sajjadi dan Carter (2004) pada ikan Atlantic salmon (*Salmo salar*) mampu menurunkan limbah P sebesar 52%, Vielma *et al.* (2000) pada ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sebesar 47%, dan Yulisman (2006) pada ikan baung (*Hemibagrus nemurus*) menurunkan limbah P sebesar 80%

Komposisi mineral P dalam serum darah menunjukkan bahwa pemberian enzim fitase mampu meningkatkan kadar P dalam serum darah. Mineral P yang mempunyai pencernaan tinggi tentunya akan lebih mudah diserap oleh usus dan selanjutnya oleh darah ditransport ke seluruh tubuh. Hal ini dibuktikan ikan yang diberikan pakan dengan penambahan enzim fitase yang memiliki pencernaan P tinggi, kandungan mineral dalam serum darah juga lebih tinggi dibanding perlakuan yang tanpa pemberian enzim fitase. Masumoto *et al.* (2001) melaporkan pemberian enzim fitase pada pakan ikan Japanese flounder, konsentrasi P dalam serum darah lebih tinggi (8,1 mg/100 ml) dibanding pada ikan yang tanpa diberi tambahan enzim fitase (5,9 mg/100 ml).

Meningkatnya mineral P yang terserap akan dapat meningkatkan aktivitas metabolisme, yang pada gilirannya akan meningkatkan pertumbuhan. Hal ini

berkaitan dengan fungsi P yang sangat besar peranannya dalam berbagai proses metabolisme dalam tubuh. Mineral P diperlukan pada saat proses fosforilasi dalam pembentukan Adenosintrifosfat (ATP). ATP merupakan senyawa fosfor berenergi tinggi yang diperlukan untuk semua aktivitas tubuh (Page 1989). Meningkatnya ketersediaan P dalam tubuh, tentunya akan lebih banyak menyediakan P untuk sintesis protein. Hal ini berkaitan dengan penggunaan P untuk proses sintesis protein, dimana dalam proses sintesis protein sangat diperlukan mineral P. Proses sintesis protein sedikitnya membutuhkan empat ATP yaitu: 1 ATP dalam proses pengikatan aminoasil t-RNA dalam daur perpanjangan, 1 ATP untuk kerja mekanik translokasi ribosom, dan 2 ATP untuk pembentukan aminoasil t-RNA dan asam amino (Page 1989). Ikan yang diberi pakan B dan C ternyata memanfaatkan mineral P lebih banyak dibanding pakan A dan D. Meningkatnya penggunaan mineral P oleh tubuh tentunya akan meningkatkan proses sintesis protein. Efek ini terlihat pada retensi protein, dimana pada pakan B dan C retensi proteinnya lebih tinggi dibanding pakan A dan D, walaupun laju pertumbuhan harian antara ikan yang diberi pakan B dan C sama dengan pada pakan kontrol (pakan A).

Selain untuk proses sintesis protein mineral P juga sangat berperan dalam pembentukan tulang. Hal ini terlihat pada kandungan mineral P dalam tulang, ikan yang menggunakan mineral P lebih banyak (B dan C) kandungan mineral P dalam tulang lebih tinggi. Hasil ini sesuai dengan Li *et al.* (2004) dimana pemberian enzim fitase 500 unit per kilogram pakan ikan channel catfish dapat meningkatkan mineral P pada tulang dari 7,4 % menjadi 9,8%, Hughes dan Soares (1998) pada ikan striped bass (*Morone saxatilis*) dari 59,2 mg/g menjadi 78,1 mg/g. Kekurangan fosfor mengakibatkan rendahnya kandungan fosfor dalam tulang, hal ini disebabkan fosfor yang ada, sebagian besar digunakan untuk kebutuhan *maintenance* tubuh sehingga fosfor yang dideposisi pada tulang menjadi rendah. Distribusi mineral P dalam tubuh sebagian besar berada di tulang sebanyak 85%, dan sebagian kecil dalam jaringan tubuh sebanyak 15% (Georgievskii 1982). Meningkatnya laju pertumbuhan, tentunya akan meningkatkan konsentrasi P dalam tubuh, hal ini terlihat pada kandungan mineral P dalam tubuh dimana ikan yang diberi pakan B dan C kandungan mineral dalam tubuh lebih tinggi dibanding dengan pakan D, karena laju pertumbuhan antara B dan C sama dengan pakan A, maka kandungan mineral P dalam tubuh juga sama.

Komposisi mineral lain seperti Ca dan Zn tidak menunjukkan perbedaan, baik dalam tubuh, tulang maupun serum darah. Hasil yang sama dilaporkan oleh Masumoto *et al.* (2001) penambahan enzim fitase dalam ikan Japanese flounder tidak memberikan dampak terhadap kandungan Ca dan Zn dalam serum darah. Hal ini mungkin disebabkan karena ikan mempunyai kemampuan menyerap mineral Ca dari lingkungannya, sehingga dampak pemberian enzim fitase dalam pakan tidak terlihat. Pakan yang

tanpa penambahan enzim fitase mungkin kekurangan Ca dalam pakannya, tetapi bisa dipenuhi dengan cara mengambilnya dari lingkungan, sehingga konsentrasi Ca dalam dalam tubuh, tulang maupun serum darah tidak menunjukkan perbedaan. Hasil berbeda dilaporkan oleh Hughes dan Soares (1998) pemberian enzim fitase pada ikan striped bass ukuran 160 g mampu meningkatkan konsentrasi Ca dari 88,2 mg/g menjadi 101,3 mg/g dalam tulang. Perbedaan ini mungkin disebabkan perbedaan bahan baku pakan dan spesies ikan yang digunakan. Untuk mineral Zn, penambahan enzim fitase tidak memberikan peningkatan konsentrasi Zn baik di tubuh, tulang maupun serum darah. Hasil yang sama diperoleh Masumoto *et al.* (2001) menyatakan bahwa penambahan enzim fitase 50 mg/100 g bungkil kedelai tidak mempengaruhi konsentrasi Zn dalam serum darah.

Meningkatnya proses metabolisme dalam tubuh akan memacu ikan untuk mengkonsumsi pakan lebih banyak. Semakin banyak pakan yang dikonsumsi dan penggunaan pakan yang efisien, sehingga pertumbuhan akan meningkat. Hal ini dapat dilihat pada ikan yang diberi pakan B, C dan A, dimana kebutuhan fosfor mencukupi, maka semua proses metabolisme berjalan dengan lancar. Pada keadaan ini ikan akan memanfaatkan pakan dengan efisien, sehingga akan meningkatkan laju pertumbuhannya. Di sisi lain ikan yang diberikan pakan D, diduga kekurangan P akibatnya penggunaan pakan tidak efisien, sehingga memberikan nilai laju pertumbuhan yang rendah juga. Lall (2002) menyatakan bahwa kekurangan fosfor akan menyebabkan rendahnya efisiensi pakan dan menurunkan laju pertumbuhan. Hasil ini sesuai dengan penelitian dari Li *et al* (2004) pada pemberian enzim fitase 500 unit per kg pakan mampu mengganti pemberian dicalcium fosfat dalam pakan dan mempengaruhi pertumbuhan ikan channel catfish, Debnath *et al.* (2005), pada ikan *Pangasius pangasius*. Kecurangan P yang rendah pada pakan yang tidak diberikan enzim fitase menyebabkan mineral P yang tersedia tidak mencukupi kebutuhan

DAFTAR PUSTAKA

- Baruah K, Sahu NP, Pal AK and Debnath D. 2004. Dietary phytase: an ideal approach for a cost effective and low-polluting aqua feed. NAGA, World Fish Center Quarterly. 27(3&4): 15-19.
- Ceng ZJ and Hardy RW. 2002. Effect of microbial phytase on apparent nutrient digestibility of barley, canola meal, wheat and wheat middling, measured in vivo using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition. 8: 271-277.
- Ceng ZJ and Hardy RW. 2004. Effects of microbial phytase supplementation in corn distiller's dried grain with solubles on nutrient

tubuh, sehingga proses metabolisme dalam tubuh terganggu dan menyebabkan pertumbuhannya lebih rendah.

Nilai konversi pakan berhubungan erat dengan laju pertumbuhan dan konsumsi pakan. Ketersediaan P dalam tubuh yang cukup membuat ikan lebih efisien dalam memanfaatkan pakan, sehingga memberikan nilai konversi pakan yang kecil, ini terlihat pada pakan B dan C dan A. Di sisi lain pada pakan tanpa penambahan enzim fitase nilai konversi pakan paling besar (pakan D). Sesuai dengan penelitian Debnath *et al.* (2005) penambahan enzim fitase mampu menghasilkan nilai konversi pakan yang lebih baik dibandingkan pada pakan yang tidak diberikan enzim fitase pada ikan *Pangasius pangasius*, Yulisman (2006) pada ikan baung (*Hemibagrus nemurus*).

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah penggunaan enzim fitase dalam pakan mampu meningkatkan keceraan P dari bahan baku nabati dari 68,55% menjadi 86,10%, dan mampu memberikan kinerja pertumbuhan yang sama dengan pakan yang diberikan P anorganik (pakan kontrol). Penggunaan enzim fitase dengan dosis 50 mg/100 g bahan nabati mampu mengurangi limbah fosfor dan limbah N masing-masing sebanyak 58% dan 31% dari pakan kontrol.

Saran

Enzim fitase dengan dosis 50 mg/100 g bahan nabati dapat digunakan dalam formulasi pakan ikan lele untuk mengganti penambahan fosfor anorganik, dan mengurangi limbah fosfor.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Ditjen Dikti Departemen Pendidikan Nasional atas biasiswa BPPS, untuk kelancaran penelitian dan penulisan Tesis di Program Studi Ilmu Perairan Sekolah Pascasarjana IPB

digestibility and growth performance of rainbow trout, *oncorhynchus mykiss*. Journal of Applied aquaculture. 15: 83-100.

- Debnath D, Pal AK, Sahu NP, Jain KK, Yengkokpam, and Mukherjee SC. 2005. Effect dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* fingerling. Aquaculture Research. 36 (2): 180-187.

Georgievskii VI. 1982. Mineral Nutrition of Animal. Butterworths. London. 11-56 pp.

- Hardy RW. 2002. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) 184-202 pp. in Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture. Edited Webster CD and Lim C. CBI Publishing. New York.

- Hertrampf JW, and Pascual FP. 2000. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. Kluwer Academic Publishers. London. 573 pp.
- Hughes KP, and Soares JH. 1998. Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass *Morone saxatilis*. Aquaculture Nutrition. Blackwell Science. 4: 133-140.
- Lall SP. 2002. The mineral. 25-308. In Fish Nutrition third Edition Edited Halver JE and Hardy RW. Academic Press. New York.
- Matjik AA dan Sumertajaya M. 2000. *Rancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab*, IPB Press, Bogor. 326 hal.
- Masumoto T, Tamura B, and Shimeno S. 2001. Effects of phytase on bioavailability of phosphorus in soybean meal-based diet for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Fisheries Science .67: 1075-1080.
- Mayasari N. 2005. *Penggunaan Metionin dan Taurin Pada Kadar Yang Berbeda Dalam Pakan Ikan Lele Dumbo*. Skripsi. Departemen Budi daya Perairan Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor (tidak dipublikasikan)
- Page DS. 1989. Prinsip-prinsip biokimia. Diterjemahkan oleh Soendoro. R. Penerbit Erlangga. Jakarta. 465 hal.
- Papatryphon E. and Soares JH. 2001. The effect of phytase on apparent digestibility of four practical plant feedstuffs fed to striped bass (*Morone saxatilis*). Aquaculture Nutrition. 7:161-167.
- Reitz LL, Smith WH, and Plumlee MP. 1960. Analytical Chemistry. Animal Science Department, West Lafayette, Ind. 1730 pp.
- Robinson EH and Li MH. 2002. Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) 293-318. in Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture. Edited Webster CD and Lim C. CBI Publishing. New York.
- Suprayudi M A, Mokoginta I, dan Naim M. 2003. Penggantian tepung ikan oleh tepung bungkil kedelai dalam pakan benih ikan gurami (*Osporonemus gouramy*). Prosiding Semi Loka Aplikasi Teknologi Pakan dan Peranannya Bag Perkembangan Usaha Perikanan Budidaya. Pusat Riset Perikanan Budidaya. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Sajjadi M and Carter CG. 2004. Dietary phytase supplementation and the utilization of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar* L) fed a canola-meal based diet. Aquaculture. 240: 417-431.
- Teles AO, Pereira JP, Gouveia A, and Gomes E. 1998. Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquaculture Living Resours. 11(4): 255-259.
- Vielma J, Makinen T, Ekholm P, and Koskela J. 2000. Influence of dietary soy and phytase level on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. Aquaculture 183:349-362.
- Watanabe T. 1988. Fish Nutrition and Mariculture JICA Textbook The General Aquaculture Course. Tokyo University of Fisheries. Japan. 232 pp
- Yan W. and Reigh R.C. 2002. Effects of fungal phytase on utilization of dietary protein and minerals, and dephosphorylation of phytic acid in the alimentary tract of channel catfish *Ictalurus punctatus* fed an all-plantprotein diet. J. World Aqua. Soc. 33:10-22.
- Yulisman 2006. *Peggunaan Fitase Dalam Pakan Berbasis Tepung Bukil Kedelai Untuk Ikan aung (Hemibagrus nemurus)* Tesis Magister. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor (tidak dipublikasikan)