

## **PENGARUH PENAMBAHAN ENZIM FITASE PADA RANSUM DENGAN LEVEL PROTEIN BERBEDA TERHADAP RETENSI NITROGEN DAN PENGGUNAAN PROTEIN NETTO (PPN) AYAM BROILER**

**(PHYTASE ENZYMES SUPPLEMENTED IN THE DIETARY PROTEIN LEVEL DIET ON NITROGEN RETENTION AND NET PROTEIN UTILIZATION (NPU) OF BROILER CHICKENS)**

Kartika Tris Apriliyana\*), Edjeng Suprijatna\*\* dan Umiyati Atmomarsono\*\*  
Laboratorium Ternak Unggas Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro  
Jln. Kampus drh. R. Soejono Kusumawardjo Tembalang, Semarang 50275

E-mail : teeka.tries@gmail.com

\*)Mahasiswa Pasca Sarjana Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

\*\*)Staff Pengajar Pasca Sarjana Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji penggunaan enzim fitase dalam ransum pada level protein yang tepat untuk meningkatkan retensi nitrogen dan penggunaan protein netto (PPN) ayam broiler. Materi yang digunakan dalam penelitian adalah ayam broiler dengan bobot badan  $108,14 \pm 11,44$  g (CV 10,58%) umur 1 minggu sebanyak 128 ekor (unsex) yang dipelihara dalam 16 unit kandang selama 6 minggu, masing-masing unit berisi 8 ekor ayam. Penambahan fitase dilakukan pada minggu kedua pemeliharaan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan yaitu T0 (Ransum protein 23%), T1 (Ransum protein 21% + fitase 1000 FTU/kg), T2 (Ransum protein 23% + enzim fitase 1000 FTU/kg), T3 (Ransum protein 23% + mineral 1%). Data dianalisis ragam menggunakan uji F pada level 5%. Uji Duncan dilakukan untuk melihat perbedaan antar perlakuan apabila terdapat pengaruh perlakuan. Parameter penelitian meliputi konsumsi nitrogen, retensi nitrogen dan penggunaan protein netto (PPN). Hasil penelitian perlakuan menunjukkan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap konsumsi nitrogen dan retensi nitrogen, tetapi tidak berpengaruh ( $P > 0,05$ ) terhadap penggunaan protein netto (PPN). Kesimpulan dalam penelitian penambahan fitase dalam ransum protein rendah dan tinggi belum meningkatkan retensi nitrogen, tetapi mampu menghasilkan penggunaan protein netto (PPN) yang lebih baik.

**Kata kunci :** enzim fitase, level protein, retensi nitrogen, broiler

### **ABSTRACT**

*The research was conducted to studying the effect of phytase enzymes suplemented in the dietary protein level diet on nitrogen retention and net protein utilization (NPU) of broiler chickens. Material the research used were 128 broiler chickens at 8 days old initial body weight  $108,14 \pm 11,44$  g (CV 10,58%) housed in 16 pen for 6 weeks. Completely Randomized Design (CRD) involving 4 treatments with 4 replications were used in this study. They were T0 (23% protein diet), T1 (21% protein diet + 1000 FTU phytase enzymes), T2 (23% protein diet + 1000 FTU phytase enzymes), T3 (23% protein ration + 1% bone meal). The data was analyzed using F test to determine the effect of treatment, continued by Duncan's multiple range test with probability level at 5% if any significant effect was found. Parameters research were nitrogen consumption, nitrogen retention and net protein utilization (NPU). The results showed that the suplemented of phytase enzymes in the diet that there was significant effect ( $P < 0,05$ ) on the nitrogen consumption and nitrogen retention, but net protein utilization (NPU) did not affected ( $P > 0,05$ ). The conclusion of this phytase enzymes suplemented in the 21% and 23% protein ration results have not affected in nitrogen retention with better net protein utilization (NPU).*

**Key words :** phytase enzymes, protein level, nitrogen retention, broiler chickens.

## PENDAHULUAN

Asam fitat merupakan zat antinutrisi yang terdapat dalam kacang-kacangan yang dapat bervalensi dengan mineral (Ca, Mg, Zn, Fe) dan protein sehingga menyebabkan terjadinya gangguan pencernaan yang dapat menurunkan nilai gizi. Ketersediaan protein sebagai substrat dalam tubuh berhubungan erat dengan metabolisme protein khususnya proses deposisi protein yang menunjang pertumbuhan (Suzuki et al., 1987). Terbentuknya senyawa fitat-mineral atau fitat-protein yang tidak larut dapat menyebabkan penurunan ketersediaan mineral dan nilai gizi protein pakan. Mineral-mineral dan protein yang membentuk kompleks dengan fitat tersebut tidak dapat diserap oleh dinding usus bagi ternak (Kornegay et al., 1999). Trisiwi et al. (2004) menyebutkan bahwa ketidakseimbangan asam-asam amino berpengaruh terhadap efisiensi penggunaan protein. Tillman et al. (1998), menyatakan bahwa konsumsi energi yang cukup penting untuk mengevaluasi kualitas protein berdasarkan retensi nitrogen, jika retensi nitrogen menurun maka kualitas protein ransum rendah, yaitu jumlah asam amino kurang atau komposisi asam amino tidak seimbang. Asam fitat yang berinteraksi dengan protein dan mineral perlu diurai karena ayam tidak dapat mengkatalisis asam fitat, sehingga diberikan enzim fitase untuk meningkatkan pencernaan nutrisi, dalam hal ini yaitu retensi nitrogen dan penggunaan protein netto ransum.

Enzim fitase merupakan enzim yang dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis asam fitat dan menghasilkan ortofosfat anorganik serta senyawa inositol fosfat yang lebih rendah. Enzim fitase dapat mengatasi efek negatif dari asam fitat terhadap performan ternak. Penggunaan enzim sebagai suplementasi dalam ransum dapat menguntungkan secara ekonomi bila dapat meningkatkan secara nyata efisiensi ransum dan menekan harga ransum. Suplementasi enzim fitase

Natuphos sebanyak 500 fitase total unit (FTU)/kg pada ransum ayam broiler yang mengandung P-tersedia rendah (0.22% untuk umur 1 hari–3 minggu dan 0.14% untuk ayam umur 3–6 minggu), mampu memperbaiki performa dan meningkatkan penggunaan mineral P, Ca, Mg dan Zn (Viveros et al., 2002). Retensi nitrogen pada penelitian Yusriani (2011) sebesar 76,73% pada perlakuan bungkil biji jarak pagar fermentasi 5% ditambahkan 1000 FTU lebih baik dibandingkan dengan perlakuan bungkil biji jarak pagar fermentasi ditambahkan enzim selulase. Unggas tidak dapat menghasilkan enzim fitase pemecah asam fitat sehingga perlu diberikan enzim fitase dalam pakan, hal ini bertujuan untuk meningkatkan penyerapan nutrisi protein ransum dan penggunaan protein netto.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji penggunaan enzim fitase dalam ransum pada level protein yang tepat untuk meningkatkan retensi nitrogen dan penggunaan protein netto (PPN) ayam broiler. Hasil penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi serta mengetahui retensi nitrogen dan penggunaan protein netto (PPN) ayam broiler akibat pengaruh penambahan enzim fitase pada ransum level protein berbeda.

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan di kandang Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro pada bulan Desember 2013-Januari 2014. Materi yang digunakan dalam penelitian adalah ayam broiler dengan bobot badan 108,14 g ± 11,44 g (CV 10,58%) umur 1 minggu sebanyak 128 ekor, enzim fitase merk Natuphos 5000®, vaksin gumboro, vaksin NDIB dan vaksin ND Lasota. Komposisi dan kandungan nutrisi penyusun ransum terdapat pada Tabel 1 yang terdiri dari jagung kuning, bekatul, bungkil kedelai, PMM (Poultry Meat Meal), tepung ikan, tepung tulang steam. Ransum dalam bentuk mash. Kandang perlakuan

kecernaan menggunakan kandang cage sejumlah 16 buah.

Ransum dan air minum diberikan ad libitum. Ransum perlakuan dengan penambahan enzim fitase diberikan mulai hari ke-8 sampai hari ke-42. Setiap akhir minggu dilakukan penimbangan bobot badan untuk mengetahui pertambahan bobot badan. Pengambilan data konsumsi protein dilakukan setiap hari dengan menimbang jumlah konsumsi ransum dikalikan dengan kadar protein ransum. Untuk pengambilan data

kecernaan protein diambil 1 ekor ayam kemudian ditempatkan pada kandang cage dan dipuaskan selama 24 jam namun air minum tersedia ad libitum. Ayam diberi pakan sebanyak 70 g per ekor dengan metode force feeding setelah pemuasaan selesai. Metode force feeding tidak dilakukan dengan memasukkan pakan langsung ke tembolok, namun dengan membentuk pakan menjadi bolus (gumpalan) lalu dimasukkan ke mulut ayam, pakan harus habis dalam waktu 1 - 2 jam, namun air minum tetap disediakan

Tabel 1. Bahan Ransum dan Kandungan Nutrisi Ransum Penelitian

	T0	T1	T2	T3
Bahan Pakan :	(%)			
Jagung	42,50	47,50	42,50	41,50
Bekatul	20,50	20,50	20,50	20,50
Tepung ikan	8,00	8,00	8,00	8,00
Bungkil kedelai	23,00	15,50	23,00	22,00
PMM	6,00	8,50	6,00	7,00
Tepung tulang steam	0	0	0	1,00
Enzim Fitase	0	1.000 FTU	1.000 FTU	0
Jumlah	100	100	100	100
Kandungan :				
EM (kkal/kg)*	3.163,40	3.155,98	3.163,40	3.126,21
Protein (%)*	23,17	21,36	23,17	23,14
Serat Kasar (%)*	5,08	4,84	5,08	5,04
Lemak Kasar (%)*	7,64	8,94	7,64	8,47
Ca (%)*	0,79	0,90	0,79	1,07
P-tersedia (%)*	0,53	0,57	0,53	0,67
Lysin*	1,53	1,42	1,53	1,54
Metionin*	0,50	0,49	0,50	0,50
Arginin*	1,80	1,69	1,80	1,81
Triptofan*	0,29	0,26	0,29	0,29
Vitamin B5**	4,74	5,25	4,74	4,77
Vitamin B6**	5,09	4,90	5,09	4,95
Fitase (U/kg)	0	1.000,00	1.000,00	0

Sumber : \* Kandungan nutrisi bahan pakan ransum dianalisis di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan.

\*\* Perhitungan menurut tabel Kearl (1982) dan Wahju (2004)

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan, setiap unit percobaan diisi 8 ekor DOC. Ransum perlakuan terdiri dari:

T0 : Ransum protein 23%

T1 : Ransum protein 21% + enzim fitase 1000 FTU/kg

T2 : Ransum protein 23% + enzim fitase 1000 FTU/kg

T3 : Ransum protein 23% + tepung tulang 1%

hingga saat penyembelihan. Empat jam setelah pakan habis dikonsumsi, ayam disembelih dan organ dalamnya dikeluarkan. Digesta diambil dari usus halus bagian ileum, yaitu 1 cm setelah Meckel's diverticulum hingga batas 1 cm sebelum ileo-ceca junction. Digesta diletakkan dalam nampang dan dijemur selama 4 hari, setelah itu dianalisis kandungan nitrogennya dengan metode mikro Kjehldahl di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro.

Data diolah menggunakan sidik ragam dan apabila menunjukkan pengaruh nyata ( $P<0,05$ ) akibat perlakuan dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh penambahan enzim fitase pada ransum ayam broiler dengan level protein berbeda terhadap konsumsi nitrogen, retensi nitrogen dan penggunaan protein netto ayam broiler disajikan dalam Tabel 2.

### Konsumsi Nitrogen

Pengaruh penambahan enzim fitase pada ransum dengan level protein berbeda pada ayam broiler berpengaruh nyata ( $P<0,05$ ) terhadap konsumsi nitrogen (g/ekor/hari) disajikan dalam Tabel 2. Berdasarkan uji Duncan, diperoleh bahwa konsumsi nitrogen perlakuan T3 (protein 23% + mineral 1%) meningkat secara nyata dibandingkan

perlakuan T0, T1 dan T2 yang disebabkan konsumsi ransum perlakuan berbeda nyata. Konsumsi nitrogen dipengaruhi oleh konsumsi ransum, semakin baik metabolisme zat-zat makanan dalam tubuh maka akan berpengaruh konsumsi ransumnya. Hal ini sejalan dengan Wahju (2004), besarnya konsumsi ransum mencerminkan besarnya protein yang dikonsumsi. Konsumsi ransum yang tinggi, maka konsumsi protein juga semakin tinggi, begitu juga sebaliknya jika konsumsi ransum rendah maka konsumsi protein juga rendah. Perlakuan T3 (protein 23%+mineral 1%) mengalami peningkatan ketersediaan fosfor bagi tubuh ternak akibat penambahan mineral. Menurut Anggorodi (1994), fosfor mempunyai peran dalam metabolisme karbohidrat. Sesuai dengan penelitian Suthama (2006), yang menyatakan bahwa perbaikan kualitas ransum dengan menggunakan dedak padi fermentasi dan penambahan sumber mineral Ca dan P ternyata dapat meningkatkan retensi nitrogen. Penelitian ketersediaan fosfor dalam defluorionated fosfat dengan solubilitas fosfor yang berbeda oleh Coffey et al., (1994), secara nyata meningkatkan konsumsi ransum, pertambahan bobot badan, konversi ransum, kekuatan tulang tibia ayam broiler.

Augspurger et al. (2003), yang menyatakan bahwa enzim fitase aktif didalam saluran pencernaan unggas. Ikatan fitat dengan fosfor lepas akibat kerja enzim fitase sehingga meningkatkan

Tabel 2. Pengaruh Penambahan Enzim Fitase pada Level Protein Berbeda terhadap Konsumsi Nitrogen, Retensi Nitrogen dan Penggunaan Protein Netto Ayam Broiler

Parameter	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Konsumsi Nitrogen (g/ekor)	2,00±0,01 <sup>b</sup>	2,19±0,02 <sup>b</sup>	2,42±0,04 <sup>b</sup>	2,88±0,03 <sup>a</sup>
Retensi Nitrogen (g/ekor)	2,99±0,01 <sup>a</sup>	2,72±0,02 <sup>b</sup>	2,96±0,4 <sup>a</sup>	2,97±0,02 <sup>a</sup>
Penggunaan Protein Netto	0,99±0,005	0,98±0,008	0,98±0,014	0,99±0,009

Keterangan : Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P<0,05$ )

ketersediaan mineral fosfor, protein dan energi. Ahmed et al., (2004), menyatakan bahwa konsumsi ransum, konversi ransum, bobot badan ayam broiler meningkat akibat suplementasi fitase pada ransum berbasis tepung kedelai.

### Retensi Nitrogen

Berdasarkan analisis ragam, perlakuan penambahan enzim fitase pada ransum dengan level protein berbeda memberikan pengaruh nyata ( $P<0,05$ ) terhadap retensi nitrogen ayam broiler yang disajikan dalam Tabel 2. Menurut McLeod et al. (1988) yang disitasi oleh Mirnawati (2013) bahwa retensi nitrogen pada ayam pedaging dapat mencapai 1,50-1,73 g. Menurut penelitian Yusriani et al. (2011), enzim fitase memberikan efek yang lebih baik dari pada enzim selulase atau campuran fitase+selulase dalam kombinasi dengan bungkil biji jarak pagar fermentasi dalam meningkatkan energi termetabolis dan retensi nitrogen. Hal ini disebabkan konsumsi protein dan kecernaan protein yang juga berpengaruh nyata dengan adanya penambahan enzim fitase dalam ransum yang menunjukkan semakin banyaknya nitrogen yang tertahan dalam tubuh karena adanya tambahan protein dari enzim fitase. Enzim fitase dapat memecah ikatan antara fitat dengan protein dan mineral sehingga ketersediaan nutrisi protein dan mineral meningkat. Lim et al. (2003) menyatakan suplementasi enzim fitase selain dapat meningkatkan kecernaan bahan kering, lemak kasar dan mineral-mineral penting juga secara nyata dapat meningkatkan retensi nitrogen. Menurut Wahju (2004), meningkatnya konsumsi nitrogen diikuti dengan meningkatnya retensi nitrogen tetapi tidak selalu disertai dengan peningkatan bobot badan bila energi ransum rendah.

Hasil penelitian menunjukkan T0 (ransum kontrol protein 23%) tidak berbeda dengan T2 (protein 23%+ 1000

FTU/kg) dan T3 (protein 23%+mineral 1%) tetapi berbeda dengan T1 (protein 21%+fitase 1000 FTU/kg). Penambahan enzim fitase pada protein rendah menunjukkan retensi yang lebih kecil dibandingkan dengan retensi ransum kontrol, penambahan fitase pada protein tinggi dan ransum yang ditambahkan mineral. Akibat penambahan mineral, ketersediaan dan absorpsi mineral meningkat. Metabolisme mineral selalu membutuhkan senyawa lain seperti protein, semakin banyak asupan Ca maka semakin tinggi pula aktivitas CANP yang dapat meningkatkan degradasi protein. Sorensen dan Tribe (1983) menyatakan kalsium yang berperan dalam proses deposisi protein berasal dari kalsium ransum yang diabsorbsi di usus halus. Kalsium yang diserap masuk ke dalam darah dan ditransportasikan ke jaringan yang membutuhkan (tulang dan daging) berada dalam tiga bentuk yaitu berupa ion bebas, terikat dengan protein, dan ion yang tidak dapat larut (Pond et al., 1995). Enzim protease yang disebut dengan CANP dapat bersifat proteolitik apabila tersedia cukup kalsium (Suzuki et al., 1987).

### Penggunaan Protein Netto (PPN)

Penggunaan Protein Netto (PPN) menggambarkan kecepatan dan efisiensi penyerapan protein dalam ileum. Berdasarkan analisis ragam, perlakuan penambahan enzim fitase pada ransum dengan level protein berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap penggunaan protein netto ayam broiler pada ransum protein rendah maupun tinggi yang disajikan dalam Tabel2. Efisiensi penyerapan protein dari ransum bertaraf protein rendah yang ditambahkan fitase (T1) dapat menyamai ransum bertaraf protein tinggi (T0), protein tinggi yang ditambahkan fitase (T2) dan protein tinggi ditambah mineral (T3). Rerata PPN pada penelitian ini yaitu  $0,98\pm0,003$ , yang menunjukkan nilai lebih

tinggi dibandingkan penelitian menurut Nasoetion (2001), yang menyatakan PPN pada ayam broiler umur 21 hari sebesar 0,80. Peningkatan kecepatan dan efisiensi penyerapan protein ditunjukkan dengan adanya peningkatan nilai penggunaan protein netto. Ransum yang memiliki keseimbangan asam amino lebih efisien untuk diserap dalam dinding usus. Trisiwi et al. (2004) menyebutkan bahwa ketidakseimbangan asam-asam amino berpengaruh terhadap efisiensi penggunaan protein. Ransum dalam penelitian ini memilikiimbangan lisin : arginin yang sama antar perlakuan sehingga tidak berdampak pada penurunan penyerapan satu sama lain. Menurut de Carvalho et al. (2012), lisin dan arginin memiliki hubungan antagonisme, keduanya bersifat kompetitif dalam penyerapannya. Menurut McDonald et al. (2002), asam amino yang melebihi kebutuhan didegradasi dalam hati dan dihasilkan amonia yang bersifat toksik, sebagian besar amonia pada unggas diekskresikan dalam bentuk asam urat.

PPN berkaitan dengan retensi kalsium, dalam penelitian ini PPN dan retensi Ca tidak berbeda nyata antar perlakuan. PPN menentukan banyaknya protein yang diserap usus untuk dapat dimanfaatkan oleh ayam. Protein yang diserap dalam usus juga dimanfaatkan dalam transportasi kalsium, yaitu untuk mengikat kalsium pada mukosa usus yang dikenal sebagai calcium binding protein (CaBP). Menurut Guyton (1997), protein berperan dalam pengikat Ca saat proses transportasi Ca secara difusi dalam sel usus.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan fitase 1000 FTU/kg dalam ransum protein rendah dan tinggi belum meningkatkan konsumsi ransum. Penambahan fitase pada protein rendah dapat menghasilkan

nilai PPN yang sama dengan ransum protein tinggi yang ditambahkan fitase dan mineral dengan retensi nitrogen yang lebih kecil. Pada ransum protein 21% yang ditambahkan fitase menunjukkan kualitas protein yang diretensi T1 lebih baik dibandingkan ransum kontrol, ransum 23% yang ditambah fitase maupun ransum 23% yang ditambahkan mineral.

Dapat disarankan bahwa penambahan fitase dan mineral dalam ransum dapat digunakan untuk meningkatkan penggunaan protein netto ayam broiler.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, F., M. S. Rahman, S. U. Ahmed and M. Y. Miah. 2004. Performance of broiler on phytase supplemented soybean meal based diet. *Poultry Sci.* 3(4):266-271.
- Anggorodi, R. 1995. Nutrisi Aneka Ternak Unggas. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Augspurger. N. R., D. M. Webel., X.G. Lei and D. H. Baker. 2003. Efficacy of an *E. Coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chick and pigs. *J. Anim. Sci.* 81 : 474-483.
- Caldwell, R.A. 1992. Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin. *J. Agric. A Food Chem.* 40 : 406-413.
- Coffey, R. D., K. W. Mooney, G. L. Cromwell and D. K. Aaron. 1994. Biological availability of phosphorus in defluorinated phosphates with different phosphorus solubilities in neutral ammonium citrate for chicks and pigs. *J. Anim. Sci.* 72 : 2653-2660.

- de Carvalho, F.B., J.H. Stringhini, M.S. Matos, R.M.J. Filho, M.B. Cafe, N.S.M. Leandro, and M.A. Andrade. 2012. Performance and nitrogen balance of laying hens fed increasing levels of digestible lysine and arginine. *R. Bras. Zootec.* 41 (10):2183-2188.
- Guyton, A. C. and J. E. Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-9. EGC. Penerbit Kedokteran, Jakarta. (Diterjemahkan Oleh : I Setiawan K.A. Tengadi dan A. Santoso).
- Kearl, L. C. 1982. *Nutrient Requirements of Ruminants in Developing Countries*. International Feedstuffs Institute Utah Agricultural Experiment Station Utah State University, Logan Utah.
- Kornegay E.T., Z. Yi, and D.H Baker. 1999. Effect of supplemental natuphos phytase on trace mineral availability for poultry. Di dalam: Coelho MB, Kornegay ET. Phytase in Animal Nutrition and Waste Management. A BASF Reference Manual. Ed ke-2. BASF Corporation. Hlm 497 - 506.
- Lim, H.S., H., Namkung and I.K., Paik. 2003. Effects of phytase supplementation on the performance, egg quality, and phosphorus excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorus. *Poultry Sci.* 82: 92-99.
- McDonald, P., R. A. Edward, J. F. G. Greenhalgh dan C. A. Morgan. 2002. *Animal Nutrition*. Ed ke-6. Longmann Singapore Publishers (Pte) Ltd. Singapore.
- McLeod, M.G., C. C. Whitehead, H. D. Griffin dan T. R. Jewitt. 1988. Energy and nitrogen retention and loss in broiler chickens genetically selected for leanness and fatness. *Br. Poultry Sci.* 67: 285-292
- Mirnawati, B. Sukamto dan V., D. Yunianto. 2013. Kecernaan protein, retensi nitrogen dan massa protein daging ayam broiler yang diberi ransum daun murbei (*Morus alba L*) yang difermentasi dengan cairan rumen. *JITP* 3 (1): 25-32.
- Nasoetion, M.H. 2001. Pengaruh Pemberian Kelenjar Tiroid Sapi Pasca Pembatasan Pakan terhadap Penampilan dan Penggunaan Protein Ayam Broiler. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang. (Tesis)
- Pond, W. G., D. C. Church and K. R. Pond. 1995. *Basic Animal Nutrition and Feeding*. Edisi ke-4. John and Willey, New York
- Sorensen, A. N. and D. E. Tribe. 1983. *Dynamic Biochemistry of Animal Production*. Elsevier, New York.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika : Suatu Pendekatan Biometrik* Cetakan ke-4. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. (Diterjemahkan oleh B. Sumantri).
- Suthama, N. 2006. Kajian aspek protein turnover pada ayam Kedu periode pertumbuhan. Media Peternakan Agustus 2006 : 47 – 53.
- Suzuki, K. S. Ohno, Y. Emori, S. Inaroh and H. Kawasaki. 1987. Calcium activated neutral protease (CANP) and its biological implications. *Progress Clin. Biochem. J. Medical.* 5: 44-63

- Tillman, A., H. Hartadi, S. Reksohadiprojo, S. Prawirokusumo, dan S. Lebdosoekojo. 1998. Ilmu Makanan Ternak Dasar. Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.
- Trisiwi, H.F., Zuprizal, dan Supadmo. 2004. Pengaruh level protein dengan koreksi asam amino esensial dalam pakan terhadap penampilan dan nitrogen ekskreta ayam kampung. Buletin Peternakan 28 (3): 131 – 141.
- Viveros A, A. Brenes, I. Arija and C. Centeno. 2002. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. Poult Sci 81:1172–1183.
- Wahju, J. 2004. Ilmu Nutrisi Unggas. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Yusriani, Y., T. Toharmat, Sumiati, E. Wina and A. Setiyono. 2011. Effect of fermented *Jatropha curcas* meal combined with enzymes on metabolizable energy, retention of N, P, Ca and digestible crude fiber. JITV 16(3): 163-172.