

Fitat dan fitase : dampak pada hewan ternak

Yanuartono, Alfarisa Nururrozi dan Soedarmanto Indarjulianto

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada
Jl. Fauna No.2, Karangmalang, Depok, Sleman. 55281 Yogyakarta

yanuartono20@yahoo.com

ABSTRACT: In countries with high plant biodiversity such as Indonesia, the availability of food of plant origin is very diverse. The presence of anti-nutrients in plants would potentially cause problems in cattle if not managed properly. phytic acid is one anti nutritional factor that have a role in disrupting the health and productivity. The term phytate refers to the molecule phytic acid, which generally acts as a chelate to Mg, Ca, Na, and K, and in some cases protein and carbohydrates. Seeds of cereals, legumes and oilseed plant which is used as animal feed usually contains a lot of phytic acid which can cause a decline in nutritional value. However, with a variety of processing methods, levels of phytic acid in animal feed can be reduced or even eliminated. In addition to the processing method, the method of adding phytase enzyme may also be done to improve the nutritional value of the animal feed ingredients.

Keywords:anti-nutrients.phytic acid. processingmethods.phytase

PENDAHULUAN

Pakan ternak memiliki kandungan nutrisi, vitamin dan mineral yang berguna bagi pertumbuhan dan kesehatan. Namun demikian pakan ternak dapat mengandung racun alami yang disebut sebagai faktor antinutrisi. Faktor antinutrisi tersebut memiliki potensi membahayakan kesehatan ternak yang mengkonsumsinya. Faktor antinutrisi adalah zat yang baik secara langsung atau melalui produk metabolisme mereka, mengganggu pemanfaatan pakan dan mempengaruhi kesehatan serta produksi hewan melalui mekanisme penurunan asupan nutrisi, gangguan pencernaan dan penyerapan serta mengakibatkan efek samping merugikan lainnya (Akande *et al.*, 2010).

Salah satu faktor antinutrisi yang memiliki peran dalam mengganggu produktivitas ternak adalah asam fitat. Istilah fitat mengacu untuk molekul asam fitat, yang umumnya berperan sebagai *chelate* untuk Magnesium (Mg), kalsium (Ca), Natrium (Na), besi (Fe), seng (Zn) dan Kalium (K), serta dalam beberapa kasus protein dan karbohidrat (Selle *et al.*, 2000). Kandungan asam fitat dalam bahan pakan dapat diturunkan atau bahkan dihilangkan melalui berbagai macam metode pengolahan. Proses pengolahan tersebut antara lain adalah perendaman, perkecambahan, perebusan, pemerasan dan fermentasi. Selain metode pengolahan bahan pakan, peningkatan nilai nutrisi pakan juga dapat dilakukan dengan penambahan fitase yang berasal dari

mikroorganisme. Dalam beberapa tahun terakhir, penambahan fitase asal mikroorganisme(*Aspergillus niger*, *Peniophoralyceii*, *Escherichia coli*) ke dalam pakan ternak semakin banyak dilakukan karena kemampuannya menghidrolisa asam fitat yang terkandung pada bahan pakan menjadi senyawa inositol dan glukosa serta senyawa fosfor organik sehingga meningkatkan kecernaan fosfor dan penyerapan mikro mineral lainnya (Ravindran *et al.*, 2000). Penambahan fitase merupakan salah satu cara untuk mengatasi tingginya asam fitat dalam ransum.

Struktur dan sifat asam fitat

Nama kimia untuk asam fitat adalah *myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis phosphate* dengan formula C₆H₁₈O₂₄P₆. Asam fitat memiliki fosfor bermuatan negatif yang besar sehingga asam fitat mampu berikatan dengan banyak kation divalen, protein, dan karbohidrat. Garam dari asam fitat disebut sebagai *phytates* (Grafs *et al.*, 1987; Kerouvo *et al.*, 2000). Fosfat yang berikatan pada asam fitat terdiri dari dua posisi yaitu aksial dan ekuatorial, terdapat lima gugus P berada dalam posisi equator dan satu gugus dengan posisi aksial (Bohn *et al.*, 2008).

Asam fitat memiliki struktur kimia yang sangat stabil dan jika berada dalam bentuk P organik memiliki kandungan fosfat yang tinggi. Dalam kondisi fisiologi normal asam fitat membentuk *chelate* dengan mineral mineral essensial seperti Ca, Mg, Fe dan Zn. Asam fitat seringkali berikatan dengan asam-asam amino atau menghambat enzim-enzim pencernaan (Pallauf and Rimback, 1996). Fosfat dengan muatan negatif yang terdapat pada asam fitat dapat dengan kuat mengikat logam kation seperti Ca, Fe, K, Mg, Mn, dan Zn sehingga menjadi tidak larut dan me-

nyebabkan logam kation tersebut tidak tersedia sebagai faktor nutrisi (Bohn *et al.*, 2008; Weaver and Kannan, 2002).

Singh *et al.* (1991) menyatakan bahwa ada korelasi negatif yang nyata antara fitat dan daya cerna protein *in vitro* pada kacang tanah. Tampaknya fitat menurunkan daya cerna protein dengan mengganggu aktivitas enzim protease. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa asam fitat kemungkinan menghambat aktivitas enzim. Conrad *et al.* (1996), menyatakan bahwa asam fitat menghambat aktivitas enzim tripsin. Metabolisme ini melibatkan *chelate* mineral dan menghilangkan kofaktor serta membutuhkan aktivitas enzim secara optimal akibat terbentuknya reaksi kompleks fitat-enzim. Kemampuan asam fitat yang lain adalah dapat menghambat aktivitas amilase baik secara langsung atau tidak langsung dengan *chelating* Ca, yang merupakan kofaktor yang diperlukan untuk amilase (Rickard and Thompson, 1997).

Selama ini telah diketahui bahwa beberapa protein dari cereal dan legum membentuk ikatan antara fitat dengan protein yang dapat mempengaruhi daya cerna protein. Bentuk ikatan tersebut diyakini diyakini akan menghambat degradasi enzimatik dari protein. Hasil hasil penelitian menunjukkan bahwa asam fitat mampu menekan pemanfaatan protein dan atau asam amino, dengan membentuk kompleks fitat-protein sehingga menyebabkan perubahan pada struktur protein. Perubahan struktur tersebut akan mengakibatkan penurunan kelarutan protein, aktivitas enzim dan kecernaan protein (Deshpande and Damodaran, 1989; Urbano *et al.*, 2000; Greiner and Konietzny, 2011).

Menurut Baldwin (2001) fitat dapat berinteraksi dengan karbohidrat baik secara langsung atau tidak lang-

sung dengan melalui interaksi *Starch Granuleassociated Proteins*(SGAP). Interaksi secara langsung dengan cara mengikat amilum melalui ikatan hidrogen, atau secara tidak langsung melalui protein yang terkait dengan amilum. Interaksi antara fitat dengan karbohidrat tersebut berpengaruh terhadap daya cerna dan penyerapan glukosa (Rickard dan Thompson, 1997).

Sumber asam fitat

Biji tanaman cereal, legum, dan *oilseed plant* banyak digunakan sebagai sumber nutrisi yang penting bagi hewan. Selain sebagai sumber karbohidrat, protein dan lemak, biji-bijian tersebut juga bertindak sebagai sumber mineral yang penting bagi pertumbuhan seperti P, Ca, Fe, dan Zn (Morris, 1986). Namun demikian biji-bijian tersebut banyak mengandung asam fitat yang menyebabkan nilai nutrisinya menjadi rendah. Steiner *et al.* (2007) melaporkan bahwa sekitar 67% dari total P dalam biji legum, cereal, *oilseed plant* dan limbah cereal berikatan dengan asam fitat. Pada bijian cereal, asam fitat banyak terdapat pada lapisan terluar biji, sementara di sebagian besar *oilseeds* dan bijian legum asam fitat terutama terletak di lapisan aleuron dan dedak luar (Angel *et al.*, 2002; Steiner *et al.*, 2007). Tanaman cereal, legum, dan *oilseed* tersebut antara lain kedelai (*Glycine max L*) (Raboy and Dickinson, 1993), kacang tanah (*Arachis Hypogaea*) (Panhwar, 2005), barley (*Hordeum vulgare*), gandum (*Triticum aestivum*), buncis (*Phaseolus vulgaris*) (Reddy *et al.*, 1982), *Phaseolus lunatus* (Ologhobo *et al.*, 1982), padi (*Oryza sativa*), biji jagung (*Zea mays*) (O'Dell *et al.*, 1972). Kandungan asam fitat dalam tanaman maupun bijian tersebut dipengaruhi oleh genetika, kondisi iklim, kondisi lokasi, irigasi, jenis tanah, tahun dan pemupukan (Reddy *et*

al., 1989). Sebagai negara yang kaya akan keragaman hayati, Indonesia memiliki banyak ragam tanaman legum dan cereal. Tanaman legum seperti gamal (*Gliricidia*), turi (*Sesbania grandiflora*), petai cina (*Leucaena leucocephala*), kaliandra (*Calliandra calothrysus*), puero (*Pueraria phaseoloides*), orok – orok (*Crotalaria juncea*), lamtoro mini (*Desmanthus virgatus*), stilo (*Stylosanthes graciliaris*), siratro (*Macroptilium atropurpureum*), kembang telang (*Clitoria ternatea L.*) dan *Indigofera Sp.* Sedangkan jenis cereal adalah padi (*Oryza sativa L.*) jagung (*Zea mays L.*) sorghum (*Sorghum bicolor L.*) kedelai (*Glycine max L.*) dan juwawut (*Setaria italica (Linn.) P. Beauv.*)

Di Indonesia, hanya beberapa sumber pakan ternak asal bijian yang telah digunakan. Hal tersebut karena kemungkinan berkaitan dengan harga, jumlah volume panen dan pemanfaatan lebih ke konsumsi untuk manusia. Di Indonesia sumber pakan ternak asal bijian yang telah digunakan yang murah dan mudah didapat adalah dedak padi bungkil kedelai dan jagung. Dedak padi adalah hasil limbah penggilingan padi yang digunakan sebagai pakan ternak, baik monogastrik maupun ruminansia. Namun demikian, meskipun murah dan mudah didapat, sumber pakan tersebut banyak mengandung asam fitat. Asam fitat dalam padi terutama terdapat dalam lembaga (germ) dengan kandungan sebesar 7,6 g 100 g¹ dan endosperma sebesar 1,2 g 100 g¹ (O'Dell *et al.*, 1972). Sedangkan konsentrasi asam fitat dalam dedak padi yang terdiri dari pericarp, aleuron dan lembaga, adalah sebesar 5,94-6,09 g 100 g¹ (Kasim and Edwards, 1998). Oleh karena dedak padi mengandung asam fitat yang cukup tinggi maka diperlukan metode untuk meningkatkan nilai nutrisi bahan tersebut.

Hasil penelitian Lolaset *et al.* (1976) menunjukkan bahwa konsentrasi asam fitat dalam kedelai memiliki sedikit variasi. Dari 15 varietas kedelai yang diteliti, kandungan asam fitat berkisar antara 1% sampai 1,47% dari berat kering, dengan nilai rata-rata 1,14%. Sedangkan hasil penelitian Harland and Proskey (1979) menunjukkan konsentrasi asam fitat dalam kedelai yang lebih tinggi yaitu 2,22%. Hasil penelitian lebih rinci oleh Greiner dan Konietzny (2006) menunjukkan bahwa kandungan asam fitat dalam biji kedelai dapat mencapai 9,2-16,7 mg/g butir.

Sekitar 50-80% P dalam bungkil kedelai terikat dalam kompleks asam fitat sehingga dapat menyebabkan masalah pencemaran lingkungan dan meningkatnya biaya pemeliharaan ternak unggas dan babi (Eeckhout dan De Paepe, 1994; Tyagi dan Verma, 1998; Knowlton *et al.*, 2004). Hasil penelitian Glencross (2004) menunjukkan bahwa sejumlah 19,9 mg/kg P pada bungkil kedelai terdapat dalam bentuk kompleks asam fitat. Fermentasi bungkil kedelai dengan bakteri penghasil fitase dapat dilakukan sebagai salah satu usaha untuk menurunkan kadar asam fitat pada bungkil kedelai.

Selain dedak padi dan bungkil kedelai, bahan pakan yang paling banyak digunakan sebagai sumber energi monogasrik pada ayam adalah jagung. Dalam ransum unggas, baik ayam broiler maupun petelur, jagung menyumbang lebih dari separuh energi yang dibutuhkan ayam. Tingginya kandungan energi jagung berkaitan dengan tingginya kandungan karbohidrat (>60%) biji jagung. Di samping itu, jagung mempunyai kandungan serat kasar yang relatif rendah sehingga cocok untuk pakan ayam. Berbeda dengan bijian cereal, kandungan fitat pada jagung 80% terdapat dalam lembaga (*germ*).

Kandungan asam fitat pada jagung sebesar 0,75 – 2,22% dari berat kering atau 367 mg/100 g (Sokrab *et al.*, 2011). Namun demikian, kandungan fitase dalam jagung cukup rendah sehingga dalam proses pengolahan yang seerah akan hilang. Kandungan asam fitat dalam jagung tersebut menyebabkan penggunaannya sebagai pakan unggas perlu dibatasi (Anggorodi, 1995). Berbagai metode telah dikembangkan untuk menurunkan kadar fitat dalam bahan makanan dan pakan, antara lain rekayasa genetika, germinasi, perendaman, perlakuan dengan fitase serta fermentasi (Gupta, 2013).

Banyaknya ragam bijian cereal, legum di Indonesia menjadikan kita harus meneliti lebih lanjut sumber-sumber pakan asal cereal, legum tersebut yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber pakan ternak. Penelitian tersebut sebaiknya dilanjutkan dengan usaha budidaya sehingga dapat memenuhi kebutuhan bahan pakan ternak.

Pengaruh fitat pada ruminansia

Ruminansia memiliki mikroba dalam rumen yang dapat menghasilkan fitase. Enzim tersebut mampu memecah ikatan P dengan fitat sehingga P dapat terabsorbsi. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa fitat hanya sedikit atau bahkan sama sekali tidak ada di feses ruminansia yang mengkonsumsi konsentrasi (Morse *et al.*, 1992). Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa mikroorganisme rumen mampu menghidrolisis seluruh fitat dalam rumen. Selain itu menurut Van Soest (1994) tidak ada efek negatif dari fitat terhadap penyerapan mineral di ruminansia. Namun demikian, menurut Jarrett *et al.* (2014) pada sapi perah yang berproduksi tinggi, pakan akan cepat melintasi rumen sehingga

kemungkinan degradasi fitat melalui fermentasi akan menjadi terbatas. Hal tersebut disebabkan karena singkatnya waktu fitat terpapar oleh fitase mikroba. Menurut Morse *et al.* (1992), degradasi fitat akan lambat dan hanya sebagian dari P yang dimanfaatkan ketika senyawa tersebut berubah konfigurasinya dengan membentuk kompleks dengan Ca. Namun apabila terbentuk kompleks dengan Zn menjadi kompleks Zn-fitat, kompleks tersebut kemungkinan akan didegradasi dan melepaskan Zn secara perlahan-lahan yang akan dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroba rumen dan memacu pertumbuhan ternak(Hernaman dkk. 2007). Penelitian oleh Park *et al.* (2002) menunjukkan bahwa domba mampu mendegradasi sebagian asam fitat bungkil biji kapas di dalam usus besar, meskipun demikian lebih dari 10% P dalam pakan dalam bentuk inositol fosfat diekskresikan dalam feses. Hal ini menunjukkan bahwa bungkil biji kapas mengandung P yang tidak tersedia untuk domba dan degradasi fitat terutama terjadi didalam rumen.

Pada ruminansia, pemberian bijian sereal, legum, dedak padi, bungkil kedelai tampaknya sampai saat ini tidak menimbulkan masalah karena mikroba dalam rumen yang dapat menghasilkan fitase. Apalagi bahan pakan tersebut tidak pernah menjadi pakan utama untuk ternak ruminansia. Bahan pakan tersebut biasanya disebut konsentrat dan diberikan hanya sekitar 1-3% dari bobot badan.

Pengaruh fitat pada monogastrik

Pembentukan kompleks mineral fitat yang tidak larut dapat menghambat penyerapan mineral pada saluran pencernaan, hal ini akan mengurangi ketersediaan mineral penting bagi tubuh (Kerovou *et al.*, 2000). pH merupakan faktor penting yang mempengaruhi kelarutan fitat. Fitat lebih mudah larut di pH rendah (<2) dibandingkan dengan pH tinggi (4-7) (Selle *et al.*, 2000). Oleh karena itu, fitat secara nyata mempengaruhi kecernaan Ca dan P. Pada pH 1 sampai 6, kisaran normal pH di dalam lambung babi asam fitat dapat membentuk kompleks dengan kation divalen seperti K, Ca, Mg, dan Zn (Bebot-Brigand *et al.*, 1999). Pada kisaran pH tersebut, asam fitat juga dapat membentuk kompleks dengan protein baik langsung melalui interaksi fitat-protein pada pH rendah atau melalui interaksi tiga serangkai ion-protein fitat-divalen pada pH tinggi (Cheryan, 1980).Dengan demikian, kompleks antara asam fitat dan mineral akan larut di bawah kondisi asam dalam lambung. Peningkatanan pH akan terjadi seiring dengan perjalanan dari lambung ke usus kecil sehingga akan menyebabkan penurunan absorpsi mineral. (Schlemmer *et al.*, 2009; Selle *et al*, 2009).Asam fitat dapat tercerna apabila terdapat fitase dalam saluran pencernaan ternak.Ternak non-ruminansia seperti babi dan ayam tidak memiliki fitase sehingga tidak mampu mendegradasi fitat menjadi fosfor tercerna (Greiner and Konietzny, 2011). Fosfor merupakan elemen penting bagi kehidupan untuk hewan, Akan tetapi karena sebagian besar disimpan dalam bentuk garam fitat dalam biji tanaman, maka ketersediaannya untuk hewan monogastrik seperti babi dan unggas menjadi berkurang (Reddy *et al.*, 1982; Selle *et al.*, 2009; Humer *et al.*, 2015). Ketersediaan P juga akan berkurang di hewan monogastrik karena mereka tidak memiliki fitase yang dibutuhkan untuk melepas P sehingga dapat diserap, dengan demikian sebagian besar P akan diekskresikan. Penambahan fosfor anorganik seperti dikalsium fosfat atau monokalsium monofosfat dalam ransum ternak non ruminansia diperlukan untuk

memenuhi kebutuhan fosfor (Soares Jr. 1995).

Hasil penelitian Piliang *et al.*(1982) menunjukkan bahwa pada ayam petelur dengan pemberian dedak padi sebanyak 81,5% dalam ransum mengakibatkan produksi telur lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang diberikan dedak sebanyak 39% atau 19,5% dalam ransum. Rendahnya produksi telur tersebut kemungkinan karena dedak padi mengandung asam fitat dan serat kasar yang cukup tinggi. Aktivitas fitase pada *brush border* usus yang tertinggi pada duodenum kemudian terjadi penurunan secara progresif di sepanjang usus halus. Aktivitas total fitase pada *brush border* usus paling tinggi adalah 35%, yaitu pada usus halus ayam petelur. Fitase pada *brush border* usus memberikan kontribusi pada pencernaan fitat-P dan berperan dalam pengaturan sebagai respons terhadap kebutuhan P dan vitamin D dari ayam (Maenz and Classen, 1998).

Penggunaan dedak padi sebagai bahan pakan babi cukup tinggi yaitu mencapai 30 - 40% di dalam ransum. Hal ini disebabkan karena beberapa faktor antara lain, produksinya yang relatif banyak, tidak dimanfaatkan sebagai bahan makanan manusia, harga relatif rendah serta kandungan nutriennya relatif baik sebagai pakan ternak. Disamping kelebihan tersebut diatas, dedak padi memiliki kelemahan yang salah satunya adalah mengandung asam fitat yang dapat mengikat mineral sehingga penyerapan mineral akan terganggu. Kandungan asam fitat dalam diet untuk babi secara umum telah terbukti menurunkan penampilannya (Woyengo and Nyachoti, 2013). Kandungan fitat dalam pakan babi biasanya antara 7 dan 10 g / kg dari diet (Selle *et al.*, 2009; National Research Council, 2012). Hasil penelitian

Woyengo *et al.* (2009) menunjukkan adanya penurunan absorpsi natrium dan magnesium dalam ileum anak babi yang diberi diet mengandung asam fitat cukup tinggi. Namun demikian penelitian pada babi yang diberikan diet *rapeseed* dengan kandungan Ca yang tinggi mengakibatkan degradasi fitat dalam saluran pencernaan sebesar 72%. Selanjutnya penelitian itu juga menunjukkan bahwa suplementasi diet kalsium karbonat mengurangi degradasi fitat dalam usus babi, tapi tidak dalam lambung dan usus kecil (Sandberg *et al.*,1993).

METODE PENURUNAN KANDUNGAN ASAM FITAT

Berbagai teknik pemrosesan dan pengolahan pakan, bersama dengan penambahan enzim eksogen adalah usaha yang telah dilakukan dan bertujuan untuk menurunkan jumlah fitat dalam pakan ternak (Kumar *et al.*, 2010). Metode pemrosesan secara fisik seperti perendaman, perkecambahan perebusan, pemasakan dan fermentasi merupakan metode yang umum dipakai untuk pemrosesan biji tanaman sereal, legum, dan *oilseed plant*. Metode metode tersebut biasanya akan menurunkan kandungan asam fitat dan meningkatkan kelarutan unsur hara (Selle and Ravindran 2008; Bilyeu *et al.*, 2008).

Menurut Kumar *et al.* (2010) metode perendaman dalam waktu paling sedikit semalam, secara umum memang akan menurunkan kandungan asam fitat dalam bijian. Namun demikian, metode perendaman juga akan menurunkan unsur unsur nutrisi yang lain. Hasil penelitian Abdel-Gawad, (1993) menunjukkan perendaman bijian legum dengan air atau natrium bikarbonat akan mengakibatkan penurunan konsentrasi sukrosa. Hal tersebut tidaklah mengherankan karena sifat dari fitat yang larut dalam air.

Metode perendaman tunggal dari beberapa penelitian hasilnya cukup menarik karena menunjukkan hasil saling bertentangan. Hasil penelitian Akindahunsi (2004) menunjukkan adanya peningkatan kandungan fitat setelah perendaman kacang minyak Afrika (*African oil beans*). Hasil yang sama juga diperoleh pada perendaman kacang kedelai selama 12 - 14 jam akan meningkatkan kandungan fitat sebesar 1,71% (Egounley and Arowh. 2003). Akan tetapi hasil penelitian oleh Mahmud *et al.* (2007) menunjukkan hasil yang sebaliknya. Perendaman kacang hijau dan kacang merah menunjukkan penurunan kandungan fitat. Terjadi penurunan fitat dalam kacang hijau sebesar 12,3% pada perendaman selama 12 jam, sedangkan pada kacang merah terjadi penurunan sebesar 15,6%. Namun penelitian oleh Vidal-Valverde *et al.* (1998) menunjukkan hasil berbeda, dimana tidak terjadi perubahan yang nyata kandungan asam fitat pada perendaman kacang faba. Mengingat bahwa asam fitat bersifat stabil, akan dibutuhkan waktu yang cukup lama untuk perendamannya. Proses perendaman merupakan proses awal dalam usaha menurunkan bermacam-macam kandungan antinutrisi termasuk di dalamnya adalah asam fitat. Proses tersebut selanjutnya diikuti oleh perebusan dan pemasakan.

Perkecambahan merupakan metode penurunan asam fitat secara sederhana dengan biaya yang murah serta telah lama dikerjakan oleh penduduk di Indonesia. Perkecambahan sendiri adalah proses alami yang terjadi selama masa pertumbuhan benih di mana mereka memenuhi kondisi minimum untuk pertumbuhan dan perkembangan (Sangronis *et al.*, 2006). Selama proses perkecambahan, terjadi aktivasi enzim dan peningkatan ketersediaan serta kecernaan nutrisi. Disisi lain, faktor-faktor antinutrisi mengalami penurunan kan-

dungan (Osman, 2007). Metode perkecambahan dengan cepat akan menurunkan konsentrasi asam fitat disertai dengan peningkatan aktivitas fitase (Laboure *et al.*, 1993). Menurut Shimelis and Rakshit (2007), kandungan asam fitat pada kacang ginjal akan menurun lebih dari 75% setelah 4 hari berkecambahan. Selain memiliki kemampuan menurunkan kandungan asam fitat, metode perkecambahan juga memiliki sisi positif yang lain. Menurut El-Adawy *et al.* (2002), perkecambahan juga adalah dilaporkan terkait dengan peningkatan vitamin konsentrasi dan bioavailabilitas elemen dan mineral. Hasil penelitian juga menemukan bahwa perkecambahan meningkatkan kalsium, tembaga, mangan, seng, riboflavin, niasin, dan kadar asam askorbat Kaushik *et al.* (2010).

Asam fitat adalah senyawa yang sangat stabil sehingga sulit terdegradasi dengan perebusan sesaat. Namun sebaliknya, fitase dalam bijian bersifat tidak stabil terhadap panas sehingga proses perebusan akan membuat enzim tersebut menjadi tidak aktif. Penurunan kandungan fitat selama proses perebusan kemungkinan disebabkan oleh terlarutnya fitat ke dalam air sebagai media perebusan. Kemungkinan lain adalah terjadinya degradasi dari kompleks fitat-protein dan atau fitat-mineral oleh panas pada proses perebusan (Siddhuraju and Becker, 2001). Proses perebusan tersebut juga akan mengakibatkan kerusakan komponen nutrisi yang lain seperti protein dan vitamin. Semakin lama waktu perebusan akan semakin menurunkan kandungan fitat, akan tetapi kandungan nilai nutrisi yang lain juga akan menurun atau bahkan hilang. Oleh sebab itu, untuk proses perebusan hanya dianjurkan untuk varietas bijian bijian yang memiliki kandungan fitase yang stabil terhadap panas atau dengan penambahan fitase dari luar yang

bersifat stabil terhadap panas (Kumar *et al.*, 2010).

Metode fermentasi adalah metode tradisional yang telah lama sekali digunakan karena teknologinya cukup sederhana, biaya yang murah dan mampu meningkatkan nilai nutrisi cukup besar. Perubahan tersebut meliputi tekstur, karakteristik organoleptik seperti rasa, aroma, penampilan, konsistensi, peningkatan kualitas dan eliminasi antinutrisi sebagian atau seluruhnya (Reinhold, 1975). Fermentasi bijian merupakan metode yang paling efektif untuk meningkatkan kecernaan protein dan karbohidrat serta ketersediaan mineral serta menurunkan tingkat anti-nutrisi seperti asam fitat dan polifenol (Dhankher dan Chauhan, 1987; Mahajan and Chauhan, 1987). Selain bijian, fermentasi juga dilakukan pada limbah bijian seperti bungkil kedelai. Lim *et al.* (2010) menyatakan bahwa fermentasi bungkil kedelai akan menghilangkan atau menginaktivasi faktor antinutrisi. Fermentasi tersebut juga akan meningkatkan nilai nutrisi dan peningkatan kecernaan (Kiers *et al.*, 2000). Teknologi fermentasi biasanya memanfaatkan bakteri *Aspergillus oryzae* atau mikroba lainnya.

Hasil hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi teknik pengolahan seperti pengolahan seperti perendaman, pemasakan, perkecambahan dan fermentasi akan memperoleh hasil yang lebih baik dibandingkan dengan metode pengolahan tunggal. Hasil penelitian Nunes *et al.* (2005) dan Liang *et al.* (2008) menunjukkan bahwa jangka waktu perendaman yang lama sebelum difermentasi atau perkecambahan akan mengakibatkan penurunan kadar asam fitat dan peningkatan bioavailabilitas mineral. Menurut penelitian Almashyuri *et al.* (1990), perebusan dan

perendaman kedelai dapat menurunkan kandungan asam fitat sekitar 31,5% sampai dengan 43%. Penelitian Duhan *et al* (1999) pada kacang gude (*Cajanus cajan*) menunjukkan bahwa metode perendaman selama periode waktu yang berbeda bisa menurunkan asam fitat sebesar 6-22% dibandingkan dengan kontrol. Hal tersebut menandakan bahwa waktu perendaman berpengaruh terhadap kandungan asam fitat dalam kacang gude. Hasil penelitian Mahesh *et al.* (2015) menunjukkan bahwa proses perendaman, perkecambahan dan fermentasi kacang tanah, biji bunga matahari, kedelai, kacang Gude (*Pigeon pea*) dan beras dapat menurunkan kadar asam fitat. Namun demikian, penurunan tersebut tidak disertai dengan peningkatan ketersediaan Zn dan Fe. Hal tersebut kemungkinan karena tingginya kandungan serat dalam biji-bijian tersebut. Sedangkan menurut Abd El-Moneim *et al.* (2012), kombinasi teknik pengolahan seperti pengolahan seperti perendaman, pemasakan, perkecambahan dan fermentasi akan menurunkan faktor antinutrisi seperti fitat, fenol, tanin dan enzim inhibitor dengan melepaskan enzim eksogen dan endogen seperti fitase yang terbentuk selama pengolahan.

Kultivar tanaman rendah fitat asam jagung, beras, kedelai, gandum, dan barley juga telah dikembangkan dan diharapkan memiliki potensi untuk meningkatkan efisiensi fosfor dalam makanan hewan (Larson *et al.*, 1998). Peningkatan ketersediaan fosfor dengan pemberian pakan kultivar barley rendah asam fitat terlihat pada unggas dan babi (Li *et al.*, 2001; Veum *et al.*, 2002). Menurut Khan *et al.* (2007) terdapat korelasi positif antara ketebalan kulit biji dengan kandungan asam fitat. Namun demikian, berat biji memiliki korelasi negatif dengan kandungan asam fitat. Dengan demikian, ketebalan

kulit serta berat biji dapat digunakan sebagai penanda fisiologis untuk kandungan asam fitat.

Metode perendaman dan perkecambahan tampaknya menjadi metode yang paling mudah dan murah untuk dilakukan, terutama untuk peternak unggas dengan skala kecil. Namun demikian yang perlu menjadi perhatian adalah seberapa lama hasil perendaman dan perkecambahan dapat bertahan digunakan sebagai pakan ternak. Metode tersebut kemungkinan akan efektif jika digunakan dalam jumlah atau skala kecil sehingga dapat dimanfaatkan secara maksimal tanpa merubah nilai nutrisi yang ada. Metode penurunan kandungan asam fitat tersebut diatas tetap memiliki kelemahan kelemahan yang perlu diatasi untuk memperoleh metode baru yang mampu memperoleh hasil maksimal. Metode baru tersebut diharapkan mampu menurunkan kandungan fitat tetapi tidak menyebabkan penurunan nilai nutrisi yang lain yang terkandung di dalamnya.

FITASE

Fitase adalah mio-inositol heksafosfat fosfohidrolase yang memiliki kemampuan menghidrolisis fitat. Fitase mengkatalisis pengambilan ortofosfat anorganik secara bertahap dari asam fitat melalui inositol-pentafosfat untuk menjadi monofosfat dan produk antara lainnya (Oluyinka, 2012). Fitase aktif asal mikroba banyak ditemukan pada spesies fungi dan aspergillus. Shieh dan Ware (1968), menyatakan bahwa hasil penyaringan pada isolat tanahterdapat lebih dari dua ribu (2000) mikroorganisme yang mampu menghasilkan fitase. Secara umum, fitase berasal dari empat sumber yaitu : fitase tanaman, fitase mikroba (jamur dan fitase bakteri), fitase yang dihasilkan oleh mukosa

usus kecil dan usus yang terkait fitase mikroflora (Kumar *et al.*, 2010).

Pada berbagai bahan makanan aktivitas fitase dapat menurunkan level asam fitat. Rye, gandum dan dedak gandum mengandung paling banyak fitase aktif dibandingkan semua jenis biji-bijianereal (Harland and Harland, 1980; Ravindran *et al.*, 1995). Sebaliknya jagung, sorgum, kedelai dan oilseeds memiliki aktivitas fitase endogen yang rendah. Dengan demikian, sebaiknya bahan pakan utama pada monogastrik berupa rye dan dedak gandum karena memiliki fitase dengan aktivitas yang tinggi. Namun demikian, hal tersebut masih memerlukan pertimbangan yang masak karena harga bahan pakan tersebut relatif mahal. Rendahnya aktivitas fitase endogen dalam biji tanamanereal, legum, dan oilseed plant, dedak padi dan bungkil kedelai menyebabkan munculnya penggunaan fitase eksogen yang memanfaatkan mikroorganisme sebagai sumbernya.

Ternak monogastrik tidak menghasilkan fitase dalam jumlah yang cukup sehingga perlu penambahan secara rutin fitase eksogen ke dalam pakan sehingga dapat dimanfaatkan untuk memecah ikatan fitat-P (Kornegay, 2001). Beberapa dekade terakhir, penggunaan fitase asal mikroorganisme dalam diet unggas telah meningkat secara nyata, penambahan fitase asal mikroorganisme (*Aspergillus niger*, *Peniophora lycii*, dan *Escherichia coli*) yang telah mengalami rekayasa genetika (*Genetically Modified Organisms*) ke dalam pakan ternak semakin banyak dilakukan oleh pabrik pakan. Hal tersebut terutama bertujuan untuk meningkatkan produksi dan menanggapi kekhawatiran munculnya pencemaran lingkungan fosfor asal kotoran industri peternakan unggas

maupun babi. Penggunaan fitase asal mikroorganisme tersebut juga mampu menekan biaya pakan dengan mengurangi komponen P yang mahal (Khan *et al.*, 2013). Fitase telah banyak diisolasi dari berbagai mikroba seperti jamur, bakteri, dan protozoa. Sebagian besar enzim ini berasal dari kelompok asam histidin fosfatase atau dari alkalin fitase. Beberapa diantara enzim tersebut telah digunakan sebagai suplemen pakan ternak (Wysset *et al.*, 1999; Poliana and MacCabe, 2007).

Pakan ternak yang diberi tambahan fitase asal mikroorganisme tidak memerlukan penambahan fosfat ke dalam ransum. Dengan demikian ternak juga akan mengekskresikan fosfat dalam jumlah sedikit sehingga diharapkan akan menurunkan pencemaran lingkungan. Dampak menguntungkan yang lain adalah fitase asal mikroorganisme dalam ransum unggas memiliki dampak hidrolisis langsung pada asam fitat dan selanjutnya akan meningkatkan ketersediaan mineral, asam amino, dan energi (Selle and Ravindran, 2007). Ravindran *et al.* (2000) melaporkan bahwa penambahan fitase sebesar 750 FTU/kg menghasilkan keceranaan fosfor yang tinggi dibandingkan penambahan dibawah 500 FTU/kg ransum. Hasil penelitian tersebut juga didukung oleh Juanpere *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa pada broiler umur 7 sampai 21 hari menunjukkan bahwa penambahan fitase asal mikroorganisme (500 FTU Kg⁻¹) dalam pakan yang mengandung 2,7 g Kg⁻¹ P akan meningkatkan berat badan 35g /ekor /hari dibandingkan dengan kontrol 34g /ekor/ hari. Nilai rasio konversi pakan (FCR) perlakuan adalah 1,4 dibandingkan dengan kontrol 1,5. Olukosi *et al.* (2007) menambahkan bahwa ada peningkatan pertumbuhan broiler yang diberi pakan defisiensi P dengan penambahan fitase. Penelitian

Shirley and Edwards (2003) juga menyatakan bahwa broiler dengan pemberian pakan campuran jagung dan kedelai yang kemudian ditambahkan fitase dari 0 FTU/kg sampai dengan 12.000 FTU/kg akan meningkatkan total degradasi fitat dalam saluran pencernaan dari 40,3% menjadi 94,8%.

Namun demikian, yang perlu di perhatikan adalah penambahan Ca dalam pakan broiler. Menurut Wise (1983) meningkatnya kandungan Ca dalam pakan dapat mengakibatkan terbentuknya kompleks Ca-fitat yang tidak larut. Hal tersebut kemungkinan disebabkan meningkatnya kandungan P untuk mengatur penurunan aktivitas fitase endogen mukosa, sedangkan fitase endogen mukosa memiliki potensi untuk menurunkan fitat pada unggas (Maenz dan Classen, 1998). Hasil penelitian Tamim *et al.* (2004) menunjukkan bahwa peningkatan kandungan Ca dalam pakan dari 2,0-7,0 g /kg akan mengakibatkan penurunan pembongkaran asam fitat oleh fitase endogen dalam ileum.

Hasil hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan fitase asal mikroorganisme dalam pakan babi mampu melepaskan ikatan fitat-P sehingga meningkatkan P yang dapat dicerna dan mengurangi ekskresi P dari babi (Cromwell *et al.*, 1995; Almeida dan Stein, 2012; Kerr *et al.*, 2010). Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa penambahan fitase efektif dalam meningkatkan performa, retensi P, peningkatan aktivitas plasma alkali fosfatase dan mineralisasi tulang melalui peningkatan hidrolisis fitat P pada babi (Coelho dan Kornegay, 1996). Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan fitase ke dalam campuran jagung dan kedelai pada pakan babi muda akan meningkatkan retensi P sekitar 10 sampai 20% (Jongbloed dan Kemme, 1990; Wenk *et al.*, 1993). Pemberian pakan dengan

kandungan Ca yang tinggi pada babi akan menimbulkan efek penurunan kinerja fitase asal mikroorganisme dan mempengaruhi kecernaan P (Lei *et al.*, 1994; Lantzsch *et al.*, 1995). Efek penurunan kinerja fitase akibat penambahan Ca dalam pakan tersebut kemungkinan dapat disebabkan melalui beberapa mekanisme. Mekanisme tersebut kemungkinan adalah terbentuknya kompleks Ca-fitat yang tidak terlarut dalam usus halus atau (Selleet *et al.*, 2009). Kemungkinan lain menurut Sandberg *et al.* (1993) karena konsentrasi Ca yang tinggi akan meningkatkan pH dalam usus sehingga mengakibatkan turunnya aktivitas fitase.

Secara umum penambahan fitase memberikan manfaat yang besar dibidang industri peternakan terutama ternak monogastrik seperti babi dan unggas. Namun karena fitase berasal dari beberapa sumber seperti tanaman, mikroba (jamur dan bakteri) dan fitase terkait mikroflora maka perlu diperhatikan pemilihan fitase dalam pakan yang paling efisien dalam peningkatan produksi ternak. Seperti yang dikatakan oleh Shimizu, (1992) bahwa ada kendala dalam menentukan asal fitase untuk menentukan pilihan terbaik dalam kemampuannya membebaskan ikatan fosfor fitat sehingga meningkatkan kecernaan fosfor dan penyerapan mikro mineral lainnya pada sumber pakan. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena perbedaan kondisi percobaan dan kemurnian dari preparasi enzim.

KESIMPULAN

Meskipun fitat merupakan anti-nutrisi yang dapat mengganggu produktivitas ternak namun demikian melalui berbagai pemrosesan kandungannya dapat diturunkan. Metode perendaman dan perkecambahan tampaknya menjadi metode yang paling mudah dan murah

untuk dilakukan, terutama untuk peternak unggas dengan skala kecil. Pemrosesan bahan pakan yang mengandung fitat terutama lebih ditujukan pada pakan ternak non ruminansia. Selain pemrosesan bahan pakan, penggunaan fitase merupakan pilihan yang tepat untuk industri peternakan terutama ternak monogastrik seperti babi dan unggas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Moneim, M. R. A., El-Beltagi, H. S. Abd El-Salam, S. M. Omran, A. A. 2012. Effect of Soaking, Cooking, Germination and Fermentation Processing on Proximate Analysis and Mineral Content of Three White Sorghum Varieties (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Not Bot Horti Agro-bio*, 40(2), 92-98: <http://dx.doi.org/10.15835/nbha4027930>
- Abdel-Gawad, A.S. 1993. Effects of domestic processing on oligosaccharide content of some dry legume seeds. *Food Chem*, 46 (1), 25-31./doi/pdf/10.1094/CC-83-0428
- Akande, K. E., Doma, U. D., Agu, H. O. and Adamu, H. M. 2010. Major antinutrients found in plant protein sources: their effect on nutrition. *Pakistan J. Nutr*, 9(8), 827-832. doi: 10.3923/pjn.2010.827.832
- Akindahunsi, A. A. 2004. Physicochemical studies on African oil bean (*Pentaclethra macrophylla* Benth.) seed. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 2, 4-17. Accesion: 004269993
- Almasyhuri, A., Yuniati, H.D., and Slamet, S. 1990. Kandungan Asam Fitat Dan Tanin Dalam

- Kacang-Kacangan Yang Dibuat Tempe. *PGM*, 13, 65-72.
- Almeida, F. N., and Stein,H. H. 2012. Effects of graded levels of microbial phytase on the standardized total tract digestibility of phosphorus in corn and corn coproducts fed to pigs. *J. Anim. Sci*, 90,1262-1269.
doi:10.2527/jas.2011-4144
- Angel, R., Tamim, N. M.,Applegate, T. J.,Dhandu, A. S.,and Ellestad, L. E. 2002. Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. *The Journal of Applied Poultry Research*, 11, 471-480.doi:<https://doi.org/10.1093/japr/11.4.471>
- Anggorodi, R. 1995. Ilmu Makanan Ternak Unggas Kemajuan Mutakhir Fakultas Peternakan IPB, Bogor.
- Baldwin, P.M. 2001. Starch granule-associated proteins and polypeptides: a review. *Starch/Starke*,53,475-503.doi.org/10.1002/1521-379X(200110)53:10<475::AID-STAR475>3.0.CO;2-E
- Bebot-Brigand, A., Dange, C., Fauconnier, N.,and Gérard,C. 1999. ^{31}P NMR, potentiometric and spectrophotometric studies of phytic acid ionization and complexation towards Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , and Cd^{2+} . *J Inorg Biochem*,75, 71-78.doi: 10.1016/S0162-0134(99)00041-0
- Bilyeu, K.D., Zeng, P.,Coello, P.,Zhang, Z.J.,KrishnanBailey,H.B., Beuselinck, P.R.,and Polacco,J.C. 2008. Quantitative conversion of phytate to inorganic phosphorus in soybean seeds ex- pressing a bacterial phytase. *Plant Physiol*, 146, 468-477. doi: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.107.113480>
- Bohn, L., Meyer, A.S. and Rasmussen. S.K. 2008. Phytate : Impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. *J. Zhejiang Univ. Sci.B*, 9, 165-191. doi: 10.1631/jzus.B0710640
- Cheryan, M. 1980. Phytic acid interactions in food systems. *CRC Crit Rev Food Sci*,13, 297-335.doi:10.1080/10408398009527293
- Coelho, M. B., and Kornegay,E. T. 1996. Kornegay, E. T (Ed.) :*Phytase in Animal Nutrition and Waste Management* (M. B.), BASF Corporation, Mount Olive, NJ.
- Conrad, B., Savchenko, R.S.,Breves, R., and Hofeweister,J.1996. A T7 promoterspecific, inducible protein expression system for *Bacillus subtilis*. *Mol Gen Genet*, 5, 250(2),230-236.doi: 10.1007/BF02174183
- Cromwell, G. L., Coffey, R. D.,Parker, G. R.,Monegue, H. J.,and Randolph,J. H.1995. Efficacy of a recombinant-derived phytase in improving the bioavailability of phosphorus in corn-soybean meal diets for pigs. *J. Anim. Sci*, 73, 2000-2008.doi: 10.2527/1995.7372000x
- Deshpande, S. S., and Damodaran,S.1989. Effect of phytate on solubility, activity and conformation of trypsin and chymotrypsin. *Journal of Food Science*, 54, 695-699.doi: 10.1111/j.1365-2621.1989.tb04684.x

- Dhankher, N., and Chauhan,B. M.1987.Effect of Temperature and Fermentation Time on Phytic Acid and Polyphenol Content of Rabadi— A Fermented Pearl Millet Food. *Journal of Food Science*,52(3), 828– 829.DOI: 10.1111/j.13652621. 1987.tb06739.x
- Duhan, A., Khetarpaul, N., and Bishnoi,S.1999. Effect Of Various Domestic Processing And Cooking Methods On Phytic Acid And Hci-Extractability Of Calcium, Phosphorus And Iron Of Pigeon pea.*Nutrition And Health*, 13, 161-169. doi/pdf/10.1177/026010609901 300304
- Egounlety, M., and Arowh,O. C. 2003.Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata L.* Walp) and ground-bean (*Macrotyloma geocarpa* Harms).*Journal of Food Engineering*, 56,249– 254.doi: 10.1016/S0260- 8774(02)00262-5
- El-Adawy, T. A. 2002.Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination.*Plant Foods for Human Nutrition*, 57, 83– 97.doi:10.1023/A:1013189620 528
- Glencross, B., and Carter.,C. 2007. Field peas and aquafeeds.*Proceedings of the Fourth Workshop Harvesting the benefits of grain in aquaculture feeds*. 13 February 2007. 42-49, Publ. Department of Fisheries Fremantle, ISSN 1447-2068, Western Australia.
- Grafs, E., Empson, K.L.,and Eaton, J.W.1987. Phytic acid. A natural antioxidant.*The Journal of Biological Chemistry*, 262, 11647–11650.
- Greiner, R., and Konietzny,U. 2011. Phytase: biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. In: M.R. Bedford and G.G. Partridge (eds.). *Enzymes in Farm Animal Nutrition 2nd Ed.* USA: CABI Pub.,96-128.
- Gupta, R. K., Gangoliya, S. S.,and Singh,N. K. 2013.Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains.*J. Food Sci. Technol*, 52(2), 676-684DOI 10.1007/s13197-013-0978.
- Harland, B. F., and Harland,J. 1980. Fermentative Reduction of Phytate in Rye, White, and Whole Wheat Breads.*Cereal Chem*, 57,226 - 229.
- Harland, B. F., and Prosky,L.1979. Development of dietary fiber values for foods. *Cereal Foods World*, 24:387-394.
- Hernaman, I., Toharmat, T., Manalu, W., dan Pudjiono.P.I.2007.Studi pembuatan Zn-fitat dan degradasinya di dalam cairan rumen secara in vitro.*Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*, 32 (3),139- 145
- Humer, E., Schwarz, C.,and Schedle,K.2015. Review Article Phytate in pig and poultry nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutri-*

- tion, 99, 605–625.doi: 10.1111/jpn.12258.
- Jarrett, J.P., Wilson, J.W., Ray, P.P., and Knowlton, K.F. 2014. The effects of forage particle length and exogenous phytase inclusion on phosphorus digestion and absorption in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 97, 411-418.doi: 10.3168/jds.2013-712
- Jongbloed, A. W., Mroz, Z., and Kemme, P. A. 1992. The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. *J. Anim. Sci.*, 70(4), 1159-1168.doi:10.2527/1992.7041159x
- Juanpere, J., Perez-Vendrell, A.M., and Brufau, J. 2004. Effect of microbial phytase on broilers fed barley-based diets in the presence or not of endogenous phytase. *Animal Feed Science and Technology*, 115,(3-4) 265-279.DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.02.002>
- Kasim, A.B., and Edwards Jr., H. 1998. The analysis for inositol phosphate forms in feed ingredients. *J. of Food Sci. and Agric.*, 76(1),1-9.DOI:10.1002/(SICI)1097-0010(199801)76:1<1
- Kaushik, G., Satya, S., and Naik, S.N. 2010. Effect of domestic processing techniques on the nutritional quality of the soybean. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(1), 39-46. DOI: 10.1007/s12349-009-0079-7
- Kerovuo, J., Lappalainen, I., and Reiniainen, T. 2000. The metal dependence of *Bacillus subtilis* phytase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 268:365-369. DOI:10.1006/bbrc.2000.2131
- Kerr, B. J., Weber, T. E., Miller, P. S., and Southern, L. L. 2010. Effect of phytase on apparent total tract digestibility of phosphorus in corn-soybean meal diets fed to finishing pigs. *J. Anim. Sci.*, 88(1), 238-247. DOI:10.2527/jas.2009-2146
- Khan, A.J., Ali, A., Farooq-i-A., and Zeb, A. 2007. Identification and isolation of low phytic acid wheat (*Triticum aestivum* L.) inbred lines / mutants. *Pak. J. Bot.*, 39(6), 2051-2058.pjbot/PDFs/39(6)/PJB39(6)2051
- Khan, S.A., Chaudhry, H.R., Butt, Y.S., Jameel, T., and Ahmad, F. 2013. The Effect of Phytase Enzyme on the Performance of Broiler Flock (A-Review). *Poultry Science Journal*. 1 (2), 117-125.doi: 10.22069/PSJ.2016.10564.1174.
- Kiers, J.L., Van Laeken, A.E., Rombouts, F.M., and Nout, M.J. 2000. In vitro digestibility of bacillus fermented soya bean. *International Journal of Food Microbiology*, 60(2-3), 163-169. doi.org/10.1016/S01681605(00)00308-1
- Kornegay, E. T. 2001. *Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity*. In: *Enzymes in farm animal nutrition*. Pp 237-271. CABI Publishing Wallingford.

- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P. S., and Becker, K. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry*, 120(4), 945–959.doi:10.1016/j.foodchem.2009.11.052
- Laboue, A. M., Gagnon, J., and Lescure, A. M. 1993. Purification and characterization of a phytase (myo-inositolhexakisphosphatephosphohydrolase) accumulated in maize (*Zea mays*) seedlings during germination. *Biochemical Journal*, 295(2), 413–419.doi: 10.1042/bj2950413.
- Lantzsch, H. J. S., and Drochner, W. 1995. The effect of dietary calcium on the efficacy of microbial phytase in rations for growing pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 73(1), 19–26. doi: 10.1111/j.1439-0396.1995.tb00399.x
- Larson, S. R., Young, K. A., Cook, A., Blake, T. K., and Raboy, V. 1998. Linkage mapping of two mutations that reduce phytic acid content of barley grain. *Theor. Appl. Genet.*, 97(1), 141–146.doi:10.1007/s001220050508
- Lei, X. G., Ku, P. K., Miller, E. R., Yokoyama, M. T., and Ullrey, D. E. 1994. Calcium level affects the efficacy of supplemental microbial phytase in corn-soybean meal diets of weanling pigs. *J. Anim. Sci.*, 72(1), 139–143.doi:10.2527/1994.721139x
- Li, Y. C., Ledoux, D. R., and Veum, T. L. 2001. Bioavailability of phosphorus in low phytic acid barley. *J. Appl. Poultry Res.*, 10(1), 86–91.doi:https://doi.org/10.1093/japr/10.1.86
- Liang, J., Han, B.Z., Nout, M.J.R., and Hamer, R.J. 2008. Effects of soaking, germination and fermentation on phytic acid, total and in vitro soluble zinc in brown rice. *Food Chem. Vol.*, 110(4), 841–848.doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.064
- Lim, S.J., Kim, S.S., Pham, M.A., Song, J.W., Cha, J.H., Kim, J.D., Kim, J.U., and Lee, K.J. 2010. Effects of fermented cottonseed and soybean meal with phytase supplementation on gossypol degradation, phosphorus availability, and growth performance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(4), 284–293.doi: 10.5657/fas.2010.13.4.284
- Lolas, G. M., Palamidis, N., and Marakakis, P. 1976. The phytic acid total phosphorus relationships in barley, oats, soybeans and wheat. *Cereal Chem.*, 53, 867–871.
- Maenz, D.D., and Classen, H.L. 1998. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. *Poultry Science*, 77(4), 557–563.doi:https://doi.org/10.1093/ps/77.4.557
- Mahajan, S., and Chauhan, B. 1987. Phytic acid and extractable phosphorus of pearl millet flour as affected by natural lactic acid fermentation. *J. Sci. Food Agric.*, 41(4), 381–386. doi: 10.1002/jsfa.274041040
- Mahesh, S., Pavithra, G.J., Parvathi, M.S., Rajashekara, R., and Shankar, A. G. 2015. Effect of

- processing on phytic acid content and nutrient availability in food grains. *Int. J. Agric. Sci.*, 5(5), 771-777.
- Mahmod, M. H., Abu-Salem, F. M., El-Kalyoubi, M. H., and Gibriel, A. Y. 2007. Effect Of Legume Processing And Fermentation Treatments On Their Phytic Acid. id.iufost.org.br/sites/iufost.org.br/files/anais/01073.pdf
- Morris, E.R. 1986. *Phytate and dietary mineral bioavailability*. In: Phytic acid chemistry and applications. E. Graf, Ed. Pilatus Press, Minneapolis, USA
- Morse, D., Head, H. H., and Wilcox, C. J. 1992. Disappearance of phosphorus in phytate from concentrates in vitro and from rations fed to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 75(7), 1979-1986. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(92)77957-0
- National Research Council. 2012. *Nutrient requirements of swine*. 11th Ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Nunes, A.C.S., Viana, G.R., Cuneo, F., Amaya-Farfán, J., Capdeville, G.D., Rech, E.L., and Aragão, F.J.L. 2005. RNAi-mediated silencing of the myo-inositol-1-phosphate synthase gene (GmMIPS1) in transgenic soybean inhibited seed development and reduced phytate content. *Planta*, 224(1), 125-132. doi:10.1007/s00425-005-0201-0
- O'Dell, B.L., de Boland, A.R., and Kortyohann, S.T. 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J. Agric. Food Chem.*, 20(3), 718-723. doi: 10.1021/jf60181a021
- Ologhobo, D. A., and Fetuga, B. L. 1982. Polyphenols, phytic acid and other phosphorus compounds of lima bean (*Phaseolus lunatus*). *Nutrition Reports International*, 26, 605-611.
- Olukosi, O. A., Cowieson, A. J., and Adeola, O. 2007. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. *Poultry Science*, 86(1), 77-86. doi:<https://doi.org/10.1093/ps/86.1.77>
- Olukosi, O.A. 2012. Review Article: Biochemistry of phytate and phytases: Applications in monogastric nutrition. *Biokemistri*, 24(2) 58-63
- Osman, A.M. 2007. Effect of different processing methods on nutrient composition, antinutrient factors and invitro protein digestibility on Dolichos lablab bean (*Lablab purpureus* L sweet). *Pak. J. Nutr.*, 6(4), 299-303.
- Pallauf, J., and Rimbach, G. 1996. Nutritional Significance of Phytic Acid and Phytase. *Arch. Anim. Nutr.*, 50(4), 301-319. doi:<https://doi.org/10.1080/17450399709386141>
- Panhwar F. 2005. Anti-Nutritional Factors in Oil Seeds as Aflatoxin in Groundnut. Digitalverlag GmbH, Germany, Edn Chemlin.
- Park, W.Y., Matsui, T., and Yano, H. 2002. Post-ruminal phytate degradation in sheep. *Animal Feed Science and Technolo-*

- gy, 101(1-4), 55-60.
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401\(02\)00181-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401(02)00181-5)
- Piliang,W. G., Sastradipradja, D., dan Manula,W. 1982. Pengaruh penambahan berbagai tingkat kadar Zn dalam ransum yang mengandung dedak padi terhadap penampilan serta metabolism Zn pada ayam-ayam petelur. Laporan Penelitian. Direktorat Pembinaan penelitian dan pengabdian pada masyarakat.Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Poliana, J., and MacCabe,A.P. 2007. Industrial Enzymes; Structure, Function, and Applications. Dordrecht: Springer: 505-508. ISBN 978-1-4020-5376-4
- Raboy, V., and Dickinson,D. B.1993. Phytic Acid Levels in Seeds of *Glycine max* and *G. soja* as Influenced by Phosphorus Status. *Crop Science*,33(6), 1300-1305.doi: 10.2135/cropscl1993.00111183 X003300060036x
- Ravindran, V., Cabahug,S., Ravindran, G.,Selle, P.H.,and Bryden, W.L. 2000. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. *British PoultryScience*,41(2),193-200.doi:10.1080/00071660050 022263
- Ravindran, V., Bryden, W.L.,and Kornegay, E.T. 1995. Phytases: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutriti-
- tion. *Poultry Avian Biological Review*,6(2) 125–143.
- Reddy, N. R., Pierson, M. D.,Sathe, S. K.,and Salunkhe,D. K. 1989. *Occurrence, distribution, content and dietary intake of phytate*. In: N. R. Reddy, M. D. Pierson, S. K. Sathe, D. K. Salunkhe (eds) Phytates in Cereals and Legumes. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 47.
- Reddy, N. R., Sathe, S. K., and Salunkhe,D. K. 1982. Phytates in legumes and cereals. *Adv. Food Res.*, 28,1–92. PMID:6299067
- Reinhold, J. G. 1975. Phytate destruction by yeast fermentation in whole wheat meals. Study of high-extraction rate meals. *Journal of the American Dietetic Association*, 66 (1), 32-41.
- Rickard, S.E., and Thompson,L.U. 1997. *Interactions and biological effects of phytic acid*. In: Antinutrients and phytochemicals in food. Shaidi, F. (ed). American Chemical Society, Washington, DC. pp: 294-312.
- Sandberg, A. S., Larsen, T., and Sandstrom,B. 1993. High dietary calcium level decreases colonic phytate degradation in pigs fed a rapeseed diet. *J. Nutr.*, 123(3), 559–566.
- Sangronis, E., Rodriguez, M., Cava, R., and Torres,A.2006. Protein quality of germinated *Phaseolus Vulgaris*. *European Food Research and Technology*, 222(1), 144-148.doi:10.1007/s00217-005-0137-4
- Schlemmer, U., Frolich, W., Prieto, R. M.,and Grases,F.2009. Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability,

- protective role and analysis. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(52), S330–S375. doi:10.1002/mnfr.20090099
- Schlemmer, U., Jany, K. D., Berk, A., Schulz, E.,and Rechkemmer, G.2001. Degradation of phytate in the gut of pigs – pathway of gastrointestinal inositol phosphatase hydrolysis and enzymes involved. *Archives of Animal Nutrition*, 55(4), 255–280. dx.doi.org/10.1080/17450390109386197
- Selle, P. H., Cowieson, A. J.,and Ravindran,V. 2009. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Livestock Science*, 124(1-3), 126–141.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2009.01.006>
- Selle, P. H., V. Ravindran, R. A. Caldwell, and W. L. Bryden. 2000. Phytate and phytase: Consequences for protein utilization. *Nutr. Res. Rev.*,13(2), 255–278. doi:10.1079/095442200108729098
- Selle, P.H., and Ravindran,V.2007.Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 135(1-2), 1-41.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.010>
- Selle, P.H., and Ravindran,V.2008. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. *Livestock Science*, 113(2-3), 99–122.doi: 10.1016/j.livsci.2007.05.014
- Shimelis, E. A., and Rakshit, S. K. 2007. Effect of processing on antinutrients and in vitro protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) varieties grown in East Africa. *Food Chemistry*, 103(1), 161-172.doi: 10.1016/j.foodchem.2006.08.005
- Shimizu, M. 1992. Purification and Characterization of Phytase from *Bacillus suutilis(natto)N-77.Biosci.Biotech. Biochem.*, 56(8), 1260-1269. doi.org/10.1271/bbb.56.1266
- Shirley, R. B., and Edwards,H. M. 2003.Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. *Poultry Science*,82(4), 671-680.doi:<https://doi.org/10.1093/ps/82.4.671>
- Siddhuraju, P., and Becker,K. 2001. Preliminary nutritional evaluation of Mucuna seed meal (*Mucuna pruriens var utilis*) in common carp (*Cyprinus carpio L.*): An assessment by growth performance and feed utilization. *Aquaculture*,196(1-2),105–123.doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00577-9.
- Singh, U., Singh, B., and. Smith,O. D. 1991. Effect of varieties and processing methods on phytic acid and protein digestibility of groundnut (*Arachis hypogaea*). *Journal of Food Science and Technology*,28(6),345-347.
- Soares Jr., J. H. 1995. *Phosphorus bioavailability*. In: Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids, Mineral and Vitamin. B. A Clarence, D. H. Baker, A. J. Lewis (eds.). Academic Press, California.
- Sokrab, A.M., Mohamed, A. I.A.,and Babiker,E.E. 2012. Effect of germination on antinutritional factors, total, and extractable minerals of high and low phytate corn (*Zea mays L.*) geno-

- types.*Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11(2), 123–128. doi.org/10.1016/j.jssas.2012.02.002
- Steiner, T., Mosenthin, R., Zimmermann, B., Greiner, R., and Roth, S. 2007. Distribution of phytase activity, total phosphorus and phytate phosphorus in legume seeds, cereals and cereal by-products as influenced by harvest year and cultivar. *Anim Feed Sci Technol.*, 133(3-4), 320-334. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.04.007
- Tamim, N.M., Angel, R., and Christman, M. 2004. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. *Poultry Science*, 83(8), 1358–1367. DOI: 10.1093/ps/83.8.1358
- Tyagi, P. K., and Verma, S. V. S. 1998. Phytate phosphorus content of some common poultry feed stuffs. *Indian Journal of Poultry Science*, 33(1), 86–88.
- Urbano, G., Lopez-Jurado, M., Aranda, P., Vidal-Valverde, C., Tenorio, E., and Porres, J. 2000. The role of phytic acid in legumes: antinutrient or beneficial function. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 56(3), 283-294. DOI: 10.1007/BF03179796
- Veum, T. L., Ledoux, D. R., Bollinger, D. W., Raboy, V., and Cook, A. 2002. Low-phytic acid barley improves calcium and phosphorus utilization and growth performance in growing pigs. *J. Anim. Sci.*, 80(10), 2663-2670. doi:10.2527/2002.80102663x
- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Sotomayor, C., and Diaz-Pollan, C., Fernandez, M., and Urbano, G. 1998. Nutrients and anti nutritional factors in faba beans as affected by processing. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung-und-Forschung*, 207(2), 140-145. doi:10.1007/s002170050308
- Weaver, C.M., and Kannan, S. 2002. *Phytate and mineral bioavailability*. In: Reddy NR, Sathe SK (eds). Food Phytates. CRC Press: Boca Raton, FL.
- Wenk, C., Weiss, E., Bee, G., and Mesikommer, R. 1993. *Interactions between a phytase and a carbohydrase in a pig diet*. Enzymes in Anim. Nutr. Proc. 1st Symp-Kartause Ittingen, Switzerland : 160-164.
- Wise, A. 1983. Dietary factors determining the biological activity of phytates. *Nutrition Abstracts and Reviews in Clinical Nutrition*, 53, 791-806.
- Woyengo, T. A., A. J. Cowieson, O. Adeola, and C. M. Nyachoti. 2009. Ileal digestibility and endogenous flow of minerals and amino acids: responses to dietary phytic acid in piglets. *Br. J. Nutr.*, 102(3), 428-433. DOI: 10.1017/S0007114508184719
- Woyengo, T. A., and Nyachoti, C. M. 2013. Review: Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry current knowledge and directions for future research. *Can. J. Anim. Sci.*, 93(1), 9-21. doi: http://dx.doi.org/10.1139/CJAS2012-017
- Wyss, M., Brugger, R., Kronenberger, A., Rémy, R., Fimbel, R., Oesterhelt, G., Lehmann, M., and van Loon, A.P.G.M. 1999. Biochemical characteri-

zation of fungal phytases
(myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases):
Catalytic properties. *Appl. En-*

viron. Microbiol., 65(2),367-
373.PMCID: PMC91034