

## Kecernaan pakan dan pertumbuhan udang putih *Litopenaeus vannamei* diberi pakan mengandung enzim fitase berbeda

### The effect of phytase levels in the diet on the digestibility and growth performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*

Muhammad Agus Suprayudi\*, Dini Harianto, Dedi Jusadi

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor  
Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

\*email: agus\_kikit@yahoo.com

#### ABSTRACT

This experiment was conducted to evaluate the effect of phytase levels in the diet on the digestibility and growth performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. White shrimp were used in the trial with initial body weight of  $3.8 \pm 0.01$  g were reared in aquarium ( $60 \times 40 \times 50$  cm<sup>3</sup>) and filled with 60 L treated sea water at a density of ten individu. Experimental diet were formulated in isonitrogenous (36% protein) and isocaloric (3960 kcal/kg) to contain four levels of phytase: 0 iu/kg (diet A), 500 iu/kg (diet B), 750 iu/kg (diet C), and 1000 iu/kg (diet D). All diets were supplied with 0.5% of Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> as an indicator for digestibility measurement shrimp fed three times daily at satiation level for how many days of rearing. A factorial completely randomized experimental design was selected consisted of four treatments and triplicates. The result showed that the phytase addition improved the digestibility of protein, calcium, and phosphor as well as improve growth performance of white shrimp. Based on evaluation of those parameters, it is concluded that phytase level of 500 IU support the best growth performance of juvenile white shrimp.

Keywords: phytase, feed digestibility, growth, *Litopenaeus vannamei*

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan enzim fitase dalam pakan terhadap kecernaan pakan dan pertumbuhan udang putih (*Litopenaeus vannamei*). Udang putih dengan bobot rerata  $3,8 \pm 0,01$  g/ekor ditebar sebanyak sepuluh ekor per akuarium berukuran  $60 \times 40 \times 50$  cm<sup>3</sup>. Pakan yang digunakan berbentuk pelet kering dengan kandungan protein 35,65% dan energi 3933,92 kkal/kg. Enzim fitase (Natuphos-5000) ditambahkan dalam pakan dengan kadar 0 (A), 500 (B), 750 (C), dan 1000 unit/kg pakan (D). Pakan diberikan tiga kali sehari sampai kenyang. Untuk mengukur kecernaan digunakan indikator Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dalam pakan sebanyak 0,5%. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Parameter yang dievaluasi dalam penelitian ini adalah konsumsi pakan, pertumbuhan relatif, kelangsungan hidup, konversi pakan, retensi protein, retensi lemak, kecernaan protein, kecernaan fosfor, kecernaan energi dan kecernaan total. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa perlakuan B, C, dan D menghasilkan nilai kecernaan total, kecernaan protein, kecernaan fosfor dan kecernaan energi pakan yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan A. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kadar optimum enzim fitase yang perlu ditambahkan pada pakan udang putih (*Litopenaeus vannamei*) adalah sebesar 500 unit/kg pakan.

Kata kunci: fitase, kecernaan pakan, pertumbuhan, *Litopenaeus vannamei*

#### PENDAHULUAN

Sistem budidaya yang semakin intensif menyebabkan ketergantungan yang tinggi terhadap penggunaan pakan buatan. Tepung ikan merupakan salah satu komponen utama dalam pakan, karena mempunyai kandungan yang baik akan protein, asam amino esensial, asam lemak esensial, energi, mineral, dan

vitamin (El-Sayed, 1999). Di sisi lain, produksi tepung ikan semakin menurun dari 4,03 juta ton pada tahun 2005 menjadi 3,55 juta ton pada tahun 2006 atau turun sekitar 11,9% (FAO, 2005). Hal itu menyebabkan semakin tingginya harga tepung ikan dunia, sehingga diperlukan bahan alternatif yang dapat menggantikan atau mengurangi penggunaannya. Bahan-bahan nabati seperti

tepung bungkil kedelai telah banyak digunakan sebagai pengganti tepung ikan (Suprayudi *et al.*, 1999; Halver, 2002). Namun demikian, yang membatasi penggunaan berbagai bahan nabati adalah adanya faktor antinutrisi, salah satunya adalah asam fitat. Asam fitat dapat mengurangi pencernaan nutrisi seperti mineral (K, Mg, Ca, Zn, Fe, dan Cu) dan protein (Baruah *et al.*, 2004; Galtin III *et al.*, 2007). Untuk mengurangi kandungan asam fitat dapat dilakukan secara enzimatik, yaitu dengan penambahan enzim fitase (Jobling, 2002; NRC, 1993).

Vielma *et al.* (2004) mengemukakan bahwa penambahan enzim fitase dalam pakan yang mengandung 50% tepung kedelai berpengaruh terhadap naiknya nilai pencernaan protein dan fosfor pada ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Pada *channel catfish* (*Ictalurus punctatus*), penambahan enzim fitase dapat meningkatkan pertumbuhan relatif dan efisiensi pakan (Baruah *et al.*, 2004). Pada udang informasi mengenai pengaruh penambahan enzim fitase dalam pakan praktis belum ada. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan enzim fitase terhadap kecernaan pakan dan pertumbuhan udang putih.

## BAHAN DAN METODE

### Pakan uji

Empat macam pakan uji dibuat dalam bentuk pelet kering dengan kandungan protein dan energi yang sama yakni 36% dan 4000 kkal DE/kg. Adapun komposisi pakan dan hasil proksimat pakan disajikan oleh Tabel 1. Perbedaan keempat macam pakan adalah dengan penambahan kadar enzim fitase yang berbeda sebagai perlakuan. Enzim fitase (Natuphos-5000) ditambahkan ke dalam pakan dengan dosis 500 unit/kg pakan (B), 750 unit/kg pakan (C), dan 1000 unit/kg pakan (D). Sebagai kontrol digunakan pakan tanpa penambahan fitase (A). Enzim fitase ditambahkan dengan cara dilarutkan terlebih dahulu dengan air, kemudian dicampurkan dengan bahan pakan.

Tabel 1. Komposisi dan hasil analisis proksimat seluruh pakan uji

Bahan pakan	Pakan perlakuan (g/kg)
Tepung bungkil kedelai	31%
Tepung polard	23%
Tapioka	3%
Tepung ikan	25%
Tepung kepala udang	5%
Minyak (ikan, jagung, lesitin)	3%
Vitamin dan mineral	6%
Aditif	14%
Hasil analisa proksimat (%)	
Air (%)	10,16±0,54
Nutrient pakan (% bobot kering)	
Abu	13,19±0,26
Protein	35,65±1,67
Lemak	4,8±0,8
Serat kasar	5,44±0,4
BETN	40,9±1,5
Fosfor	3,5±0,3
Energi (kkal GE/kg)	3933,9±59,3

### Pemeliharaan udang

Hewan uji yang digunakan adalah juvenil udang putih *Litopenaeus vannamei* dengan bobot rerata 3,8 g, berasal dari tambak di Desa Hanura, Kecamatan Padangcermin, Lampung Selatan. Wadah yang digunakan adalah akuarium berukuran 60×40×50 cm<sup>3</sup> berjumlah 12 buah dan dua buah bak untuk filter. Keseluruhan akuarium dirangkai membentuk suatu sistem resirkulasi. Akuarium diisi dengan air sebanyak 80% dari volume total dan diarerasi. Untuk menjaga kestabilan suhu pada kisaran 28–32 °C, digunakan pemanas air yang diletakkan pada bak filter. Sebagai *shelter* digunakan kain strimin berukuran 25×25 cm<sup>2</sup> yang diikat dengan batu kecil di bagian tengah dan diletakkan di sudut akuarium. Udang putih dipelihara dengan kepadatan sepuluh ekor/akuarium dan diberi pakan lima kali sehari, yaitu pukul 07.00, 11.00, 15.00, 19.00, dan 23.00 WIB, sampai kenyang.

Pemberian pakan dilakukan sebanyak lima kali dan udang diberi makan sampai kenyang selama 60 hari. Untuk menjaga kualitas air tetap baik, feses disifon sekitar 10% dan diganti dengan air baru sebanyak volume air yang terbuang. Penyifonan dilakukan sebanyak dua kali sehari, yaitu pukul 06.00 dan 17.00 WIB.

Pengukuran kecernaan dilakukan dengan metode tidak langsung, yaitu dengan

penambahan indikator  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  dalam pakan sebanyak 0,5%. Pada hari ketiga setelah udang diberi pakan yang mengandung  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , feses udang mulai dikumpulkan dengan cara disifon menggunakan selang kecil. Kemudian feses dimasukkan ke dalam tabung film dan disimpan dalam *freezer*. Setelah terkumpul cukup banyak, feses dikeringkan dalam oven bersuhu 110 °C selama empat sampai enam jam. Selanjutnya dilakukan analisis kandungan protein, fosfor dan  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  terhadap feses kering.

### Analisis kimia

Analisis kimia yang dilakukan dalam penelitian ini adalah analisis proksimat dan analisis kromium oksida ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) yang bertujuan untuk mengetahui kualitas pakan dan feses ikan secara kimia. Analisis proksimat meliputi analisis protein kasar, lemak kasar, serat kasar, abu, dan kadar air. Semua analisis dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, menggunakan metode Takeuchi (1998).

### Parameter uji dan analisis data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Konsumsi pakan (KP), pertumbuhan relatif (PR), efisiensi pakan (EP), retensi protein (RP), retensi lemak (RL), kelangsungan hidup (KH), pencernaan fosfor, pencernaan protein, dan pencernaan energi digunakan sebagai parameter yang

dievaluasi. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji ragam dengan tingkat kepercayaan 95%. Untuk melihat perbedaan pada setiap perlakuan digunakan uji lanjut wilayah berganda Duncan menggunakan software SPSS versi 11.5.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### HASIL

Hasil yang diperoleh setelah perlakuan selama 60 hari menunjukkan bahwa penambahan enzim fitase dalam pakan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap jumlah konsumsi pakan, pertumbuhan relatif, retensi protein, konversi pakan, pencernaan protein dan pencernaan total ( $p < 0,05$ ). Sementara itu tingkat kelangsungan hidup, retensi lemak, dan pencernaan fosfor tidak berbeda pada perlakuan dengan atau tanpa penambahan fitase. Hasil yang lebih rinci dapat dilihat pada Tabel 2. Dari Tabel 2 terlihat bahwa jumlah pakan tertinggi yang dikonsumsi udang selama penelitian terdapat pada pakan A ( $p < 0,05$ ), sedangkan perlakuan B, C, dan D menunjukkan jumlah konsumsi yang tidak berbeda ( $p > 0,05$ ).

Selama pemeliharaan tingkat kelangsungan hidup udang putih berkisar antara 86,67–96,67 ( $p > 0,05$ ). Pertumbuhan relatif yang dihasilkan udang pada perlakuan B, C, dan D menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan A ( $p < 0,05$ ). Nilai konversi pakan tertinggi terdapat pada perlakuan A ( $p < 0,05$ ), sedangkan nilai konversi pakan B, C, dan D

Tabel 2. Konsumsi pakan (KP), pertumbuhan relatif (PR), kelangsungan hidup (SR), konversi pakan (FCR), retensi lemak (RL), retensi protein (RP), pencernaan protein, pencernaan fosfor, pencernaan energi, dan pencernaan total

Parameter	Perlakuan (iu/kg pakan)			
	A	B	C	D
KP (g)	196,34±1,56 <sup>b</sup>	181,49±5,30 <sup>a</sup>	174,87±6,56 <sup>a</sup>	176,17±3,36 <sup>a</sup>
PR (%)	170,12±12,89 <sup>a</sup>	193,49±9,78 <sup>b</sup>	196,92±8,98 <sup>b</sup>	196,08±11,35 <sup>b</sup>
SR (%)	96,67±5,77 <sup>a</sup>	86,67±5,77 <sup>a</sup>	90,00±17,32 <sup>a</sup>	93,33±5,77 <sup>a</sup>
FCR	2,97±0,20 <sup>b</sup>	2,54±0,10 <sup>a</sup>	2,40±0,15 <sup>a</sup>	2,55±0,10 <sup>a</sup>
RL (%)	44,40±3,86 <sup>a</sup>	42,19±1,34 <sup>a</sup>	41,85±1,96 <sup>a</sup>	46,11±4,61 <sup>a</sup>
RP (%)	64,94±3,29 <sup>a</sup>	79,55±2,85 <sup>b</sup>	74,16±0,71 <sup>b</sup>	79,08±3,38 <sup>b</sup>
Kecernaan protein (%)	66,78±4,66 <sup>a</sup>	72,04±2,52 <sup>ab</sup>	73,06±4,59 <sup>bc</sup>	78,43±2,32 <sup>c</sup>
Kecernaan fosfor (%)	85,04±0,68 <sup>a</sup>	88,53±1,65 <sup>b</sup>	89,24±1,77 <sup>b</sup>	88,60±1,64 <sup>b</sup>
Kecernaan energi (%)	68,12±2,19 <sup>a</sup>	75,36±1,59 <sup>b</sup>	75,98±1,96 <sup>b</sup>	76,31±1,21 <sup>b</sup>
Kecernaan total (%)	47,41±3,98 <sup>a</sup>	51,86±1,40 <sup>ab</sup>	55,92±5,04 <sup>bc</sup>	57,89±2,10 <sup>c</sup>

Keterangan: huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Nilai yang tertera merupakan nilai rata-rata±standar deviasi dari tiga ulangan.

adalah sama ( $p > 0,05$ ).

Nilai retensi protein yang dihasilkan perlakuan A menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan perlakuan B, C, dan D ( $p < 0,05$ ), sedangkan penambahan enzim fitase tidak berpengaruh terhadap nilai retensi lemak yang dihasilkan ( $p > 0,05$ ).

Kecernaan fosfor yang dihasilkan pakan A lebih rendah dibandingkan perlakuan B, C, dan D ( $p < 0,05$ ). Kecernaan protein menunjukkan peningkatan dengan penambahan enzim fitase, dengan nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C dan D ( $p < 0,1$ ). Kecernaan energi pada perlakuan B, C, dan D lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan A ( $p < 0,05$ ). Kecernaan total pakan tertinggi terdapat pada perlakuan D dan berbeda dengan perlakuan A dan B ( $p < 0,1$ ).

### Pembahasan

Penambahan enzim fitase dari kadar 500–1000 unit/kg pakan menyebabkan peningkatan nilai kecernaan fosfor. Peningkatan nilai kecernaan ini disebabkan enzim fitase dapat menghidrolisis asam fitat dalam bahan baku pakan sehingga udang lebih mudah untuk mencerna fosfor dalam pakan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Debnath *et al.* (2005) bahwa penambahan 1000 dan 2000 unit fitase/kg pakan dapat meningkatkan kecernaan fosfor pada pakan ikan *Pangasius pangasius*. Asam fitat merupakan senyawa antinutrisi yang biasa terdapat pada bahan-bahan nabati seperti tepung kedelai. Oliva-Teles *et al.* (1997) menyatakan bahwa sekitar 60–75% fosfor dalam tepung kedelai berbentuk asam fitat dan tidak dapat dicerna oleh ikan. Selanjutnya Galtin III *et al.* (2007) menyatakan bahwa kecernaan fosfor dari sumber protein nabati sangat rendah, yakni berkisar antara 0 hingga 20%. Penambahan 1000 unit enzim fitase/kg pakan dapat meningkatkan kecernaan fosfor pada ikan *rainbow trout* (*O. mykiss*) (Lanari *et al.*, 1998). Yoo *et al.* (2005) menyatakan bahwa penambahan 1000 dan 2000 unit fitase/kg pakan dapat meningkatkan kecernaan fosfor pada juvenil *Korean rockfish* (*Sebastes schlegeli*). Pada juvenil ikan *seabass* (*Dicentrarchus labrax*), penambahan 1000–2000 unit fitase/kg pakan

menghasilkan kecernaan fosfor yang lebih tinggi dibandingkan pakan tanpa penambahan enzim fitase (Oliva-Teles *et al.*, 1997).

Nilai kecernaan protein dan kecernaan total pakan juga meningkat dengan penambahan enzim fitase. Hal ini disebabkan asam fitat yang terdapat dalam pakan sudah dipecah oleh enzim fitase sehingga protein dalam senyawa kompleks fitat dibebaskan. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Storebakken *et al.* (1998) bahwa penambahan 2000 unit fitase/kg pakan dapat meningkatkan nilai kecernaan protein pada ikan salmon Atlantik (*Salmo solar*). Applegate & Angel (2004) dan Galtin III *et al.* (2007) menyatakan bahwa asam fitat dapat bereaksi membentuk senyawa kompleks dengan kalsium, magnesium, tembaga, seng, karbohidrat, dan protein sehingga dapat mengurangi nilai kecernaan nutrien-nutrien tersebut. Pada ikan *P. pangasius*, penambahan 500–2000 unit fitase/kg pakan pada pakan dengan kandungan tepung kedelai 45% dapat meningkatkan kecernaan protein dan kecernaan total pakan (Debnath *et al.*, 2005). Vielma *et al.* (2004) mengemukakan bahwa penambahan fitase 500–4000 unit/kg pakan ikan *rainbow trout* (*O. mykiss*) yang mengandung 50% tepung kedelai dapat meningkatkan kecernaan protein. Peningkatan nilai kecernaan total pakan menunjukkan bahwa dengan penambahan enzim fitase, kecernaan nutrien-nutrien sebagai sumber energi (lemak dan karbohidrat) juga meningkat. Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya kecernaan energi pakan dengan penambahan fitase.

Setelah pakan dicerna dalam saluran pencernaan, kemudian pakan akan diserap oleh saluran pencernaan. Kecernaan fosfor dan protein yang semakin meningkat menunjukkan semakin banyak fosfor dan protein yang dapat diserap oleh saluran pencernaan udang. Fosfor berperan dalam metabolisme protein, karbohidrat, lemak, dan energi. Tersedianya fosfor dan protein yang lebih banyak karena kecernaan fosfor dan protein yang naik tersebut menghasilkan nilai retensi protein yang lebih tinggi pada perlakuan dengan penambahan fitase (B, C,

dan D) dibandingkan dengan perlakuan A. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Debnath *et al.* (2005) bahwa penambahan 250 unit fitase/kg pakan dapat meningkatkan retensi protein pada ikan *P. pangasius*. Retensi lemak pada setiap perlakuan adalah sama. Ini menunjukkan bahwa pemanfaatan energi dari lemak pakan adalah sama pada setiap perlakuan.

Pertumbuhan erat kaitannya dengan nilai retensi protein. Semakin tinggi retensi protein menyebabkan peningkatan pertumbuhan juga semakin tinggi. Pada penelitian ini, penambahan 500–1000 unit enzim fitase/kg pakan dapat meningkatkan pertumbuhan relatif udang putih. Peningkatan nilai pertumbuhan ini sejalan dengan meningkatnya nilai retensi protein pada perlakuan dengan penambahan enzim fitase. Debnath *et al.* (2005) menyatakan bahwa penambahan fitase dalam pakan dapat meningkatkan laju pertumbuhan pada ikan *P. pangasius*, dengan nilai tertinggi pada dosis 500 dan 1000 unit/kg pakan. Peningkatan pertumbuhan juga dilaporkan pada *channel catfish* yang diberi pakan dengan penambahan fitase (Baruah *et al.*, 2004).

Jumlah konsumsi pakan udang pada perlakuan A lebih tinggi dibandingkan perlakuan dengan penambahan fitase. Jumlah konsumsi pakan ini erat kaitannya dengan pencernaan energi pakan karena pada dasarnya udang mengkonsumsi pakan untuk memenuhi kebutuhannya. Pencernaan yang lebih rendah pada pakan tanpa penambahan enzim fitase menunjukkan semakin kecil energi yang dapat dimanfaatkan oleh udang. Akibatnya udang pada perlakuan A harus mengkonsumsi pakan lebih banyak untuk memenuhi kebutuhannya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Storebakken *et al.* (1998) bahwa jumlah konsumsi pakan dari ikan salmon Atlantik menurun dengan penambahan fitase.

Konversi pakan merupakan indikator untuk menentukan efektivitas pakan. Makin kecil nilai konversi pakan yang dihasilkan menunjukkan penggunaan pakan tersebut makin efisien. Nilai konversi pakan pada pakan dengan penambahan fitase (B, C, dan D) menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pakan tanpa

penambahan fitase (A). Perbedaan nilai konversi pakan ini erat kaitannya dengan pertumbuhan dan jumlah konsumsi pakan. Zonneveld *et al.* (1991) mengemukakan bahwa konversi pakan menunjukkan seberapa banyak pakan yang dibutuhkan untuk membentuk daging (pertumbuhan). Pertumbuhan yang lebih tinggi dan konsumsi pakan yang lebih rendah pada pakan B, C, dan D menghasilkan nilai konversi pakan yang lebih baik. Storebakken *et al.* (1998) menyatakan bahwa ikan salmon Atlantik yang diberi pakan dengan konsentrat protein kedelai yang diberi perlakuan fitase menghasilkan konversi pakan yang lebih baik.

Selama penelitian, kelangsungan hidup udang putih relatif tinggi dan tidak berbeda pada setiap perlakuan. Tingginya kelangsungan hidup ini menunjukkan kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan sudah cukup untuk memenuhi kebutuhan pokok udang bahkan dapat meningkatkan pertumbuhan. Selain itu kelangsungan hidup yang tinggi juga menunjukkan bahwa kualitas air media pemeliharaan sudah mendukung untuk kelangsungan hidup udang putih.

## KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan 500 unit enzim fitase/kg pakan (B) cukup untuk meningkatkan pencernaan pakan dan pertumbuhan udang putih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Applegate TJ, Angel R. 2004. Phytase: Basics of enzyme function. [www.ces.purdue.edu/extramedia/AS/AS-560-W.pdf](http://www.ces.purdue.edu/extramedia/AS/AS-560-W.pdf). [20 Juli 2006].
- Baruah K, Sahu NP, Pal AK, Debnath D. 2004. Dietary phytase: An ideal approach for a cost effective and low-polluting aquafeed. *NAGA, World Fish Center Quarterly* 27: 15–19.
- Debnath D, Pal AK, Sahu NP, Jain KK, Yengkokpam S, Mukherje SC. 2005. Effect of dietary microbial phytase on growth and nutrient digestibility of

- Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Research* 36: 180–187.
- El-Sayed A-FM. 1999. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis spp.* *Aquaculture* 179: 149–168.
- FAO. 2005. Globefish seafood highlights. Roma, Italia: Fisheries Industri Division.
- Gatlin III DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW, Herman E, Hu G, Krogdad S, Nelson R, Overturf K, Rust M, Sealey W, Skonberg D, Souza EJ, Stone D, Wilson R, Wurtele E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant product in aquafeed. *Aquaculture Research* 38: 551–579
- Halver JE. 2002. *Fish Nutrition*. New York, USA: Academic Press.
- Jobling M, Gomez E, Diaz J. 2002. Feed types manufacture and ingredients. *In: Houlihan D, Boujard T, Jobling M (eds). Food Intake in Fish*. Oxford, UK: Blackwell Science. pp 25–48.
- Lanari D, D'Agaro E, Turri C. 1998. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 161: 345–356.
- [NRC] National Research Council. 1993. *Nutrient Requirement of Fish*. Washington DC, USA: National Academic Press.
- Oliva-Teles A, Pereira JP, Gouvca A, Gomes E. 1997. Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquatic Living Resources* 11: 255–259.
- Storebakken T, Shearer KD, Roem AJ. 1998. Availability of protein, phosphorus and other element in fishmeal, soy protein-concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate based diets to Atlantik salmon (*Salmo solar*). *Aquaculture* 161: 365–379.
- Suprayudi MA, Bintang M, Takeuchi T, Mokoginta I, Sutardi T. 1999. Deffated soybean meal as an alternative source to substitute fish meal in the feed of giant gouramy (*Osphronemus gouramy*). *Aquaculture Science* 47: 551–557.
- Takeuchi T. 1988. Laboratory work chemical evaluation of dietary nutrients. *In: Watanabe T (ed). Fish Nutrition and Mariculture*. Japan: Kanagawa International Fisheries Training Centre. Japan International Cooperation Agency. pp 173–233.
- Vielma J, Ruohonen K, Gabaudan J, Vogel K. 2004. Top-spraying soybean meal-based diets with phytase improves protein and mineral digestibilities but not lysine utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 35: 955–964.
- Yoo GY, Wang X, Choi S, Han K, Kang J, Bai SC. 2005. Dietary microbial phytase incresed the phosphorus digestibility in juveniles Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) feed diet containing soybean meal. *Aquaculture* 243: 315–322.
- Zonneveld N, Huisman EA, Boon JH. 1991. *Prinsip-prinsip budidaya ikan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.