

ABSTRAK

EFEKTIFITAS ASAM ASETAT DALAM EKSTRAKSI ASAM FITAT POLLARD

Iman Hernaman, Fakultas Peternakan, UNPAD
Toto Toharmat, Departemen Nutrisi dan Teknologi Pakan, IPB
Wasmen Manalu, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB
Putut Irwan Pudjiono, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

Fitat banyak ditemukan dalam biji-bijian. Senyawa dapat diekstraksi dengan pelarut asam. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstrak asam fitat dari pollard dengan menggunakan asam asetat pada konsentrasi 0,1, 0,5, 1, dan 5%. Pollard difraksinasi dengan vibrator ball mill untuk menentukan distribusi asam fitat. Larutan asam asetat pada konsentrasi 1% digunakan untuk menghasilkan asam fitat dari pollard dengan rasio 1:1; 1:1,5; 1:2; dan 1:3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksinasi pollard menghasilkan kandungan asam fitat yang berbeda. Fraksi 16, 30, dan 50 mesh memiliki kadar asam fitat yang hampir sama, namun masih lebih tinggi dibandingkan dengan saringan nomor 100 dan 400 mesh. Kadar asam fitat pollard lebih tinggi dari fraksinya. Asam fitat dapat terlepas dari pollard dengan menggunakan asam asetat. Penggunaan asam asetat 1% pada perbandingan 1:3 menghasilkan asam fitat tertinggi sebesar 23,83 g/kg.

Kata kunci : ekstraksi, asam fitat, pollard, asam asetat

EFFECTIVENESS OF ACETIC ACID IN EXTRACTION OF PHYTIC ACID FROM POLLARD

Phytate is commonly found high in cereals grain. This compound can be extracted with acid solution. The purpose of this study is to extract phytic acid from pollard using acetic acids at concentration of 0.1, 0.5, 1, and 5%. Pollard was fractionated using vibrator ball mill to evaluate the distribution of phytic acid in the particle of pollard. One percent of acetic acid was used to produce phytic acid from pollard at ratio of 1:1; 1:1.5; 1:2; and 1:3. The fraction having particle size of 16, 30 and 50 mesh had similar phytic acid content. The results indicated that phytic acid content of these fractions was higher than that of 100 and 400 mesh fractions. Whole pollard had higher phytic acid content than its fractions. Phytic acid in pollard can be extracted by 1% acetic acid solution. Extraction of phytic acid contained in pollard using 1% acetic acid solution at ratio of 1:3 produced 23.83 g/kg.

Keywords : extraction, phytic acid, pollard, acetic acids

PENDAHULUAN

Biji-bijian umumnya mengandung 60-90% total fosfor (P) dalam bentuk fitat atau garam fitat. Asam fitat ($C_6H_{18}O_{24}P_6$ atau IP6) secara struktural adalah suatu cincin *myo-inositol* yang mengikat penuh 6 fosfat disekeliling cincin (Cosgrove, 1980). Asam fitat ditemukan pada bagian biji, daun, batang, maupun akar. Bagian terbesar terdapat pada bagian butir dan lapisan luarnya dengan jumlah mencapai 23 kali lipat lebih banyak daripada kandungan fitat pada bagian biji (Maga, 1982). Senyawa alami ini didistribusikan dalam tanaman dikotiledon seperti *oilseeds* dan legume sebagai *globoid* dan ditemukan di dalam struktur protein (Ravindran, *et al.* 1995). Pada tanaman berbiji monokotiledon seperti barley, gandum dan padi, *endosperm* hampir tidak mengandung fitat, tetapi senyawa ini lebih banyak terdapat pada lapisan *aleurone* (Hidvegi dan Lasztity, 2002). *Aleurone* mengandung 2 tipe fitat yaitu 1) *globoid* yang mengandung jumlah asam fitat tinggi dan 2) badan protein-karbohidrat (Hidvegi dan Lasztity, 2002). Jagung berbeda dari bijibijian lainnya karena hampir 0% fitat dikonsentrasikan di dalam *germ* (O'Dell, *et al.* 1972). Asam fitat di dalam kacang kedelai diasosiasikan dengan *globoid*, namun tidak memiliki lokasi yang spesifik (Ravindran, *et al.* 1995).

Sumiati (2006) melaporkan bahwa dedak padi mengandung asam fitat 6,9%. Kandungan asam fitat pada pollard mencapai 4,46-5,56%, barley 1,08-1,16%, jagung 0,76%, oats 0,8-1,02% (Cosgrove, 1980). Ravindran, *et al.* (1995) melaporkan kandungan asam fitat pada kacang kedele, *repeseed meal*, *cottonseed meal* dan *sunflower meal* berturut-turut sebesar 0,39%, 0,70%, 0,84%, dan 0,89% dari bahan kering.

Asam fitat memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, Graf *et al.* (1987) menyatakan bahwa asam fitat memiliki fungsi penting sebagai antioksidan, sehingga dapat menghambat terjadinya radikal bebas dan kanker. Dua puluh persen P dari bentuk asam fitat telah digunakan sebagai antioksidan dan dapat menjadi agen protektif dalam diet manusia (Lima-Filho, *et al.* 2004). Selain itu, asam fitat juga dapat meningkatkan metabolisme tubuh dan ketahanan tubuh. Untuk ternak ruminansia, asam fitat dapat dimanfaatkan sebagai sumber P (Park, *et al.* 1999). Namun demikian, asam fitat juga merugikan bagi hewan monogastrik karena dapat mengikat mineral esensial dan protein (Cheryan, 1980; Umehara, *et al.* 1983).

Isolasi fitat secara industri dapat dilakukan dengan dua cara bergantung pada medium ekstraksi yang digunakan. Paling umum dilakukan adalah melarutkannya dengan menggunakan beberapa pelarut asam organik, seperti asam format, asetat, laktat, okasalat, sitrat, trikloroasetat atau dilarutkan dengan asam anorganik, seperti asam hidroklorik, dan asam nitrat (Anonim, 2004).

MATERI DAN METODE

Fraksinasi Pollard

Pollard sebanyak 100 g difraksinasi dengan menggunakan *vibrator ball mill* (Henderson dan Perry, 1976) yang memiliki saringan dengan nomor mesh 4, 8, 16, 30, 50, 100, dan 400 dengan ukuran lubang berdiameter 4,750, 2,360,

1,180, 0,600, 0,300, 1,150, dan 0,038 mm dan satu buah penampung. Kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan listrik berdaya 300 Watt, 250 volt. Bagian-bagian yang tersaring dihitung proporsinya dan disiapkan untuk analisis asam fitat.

Efektivitas Kelarutan Asam Fitat dengan Asam Asetat

Efektivitas kelarutan asam fitat dengan asam asetat ditetapkan dengan memasukkan 1 g pollard ke dalam Erlenmeyer yang telah mengandung larutan asam asetat 50 ml dengan konsentrasi 0,1, 0,5, 1, dan 5%. Larutan asam asetat dan pollard diaduk menggunakan penggoyang elektrik selama 3 jam. Campuran disaring dengan kertas saring Whatman No. 41. Nilai pH filtrat diukur dengan pH meter merk Horiba serta dilakukan pengukuran kadar asam fitat. Pollard dan bagian yang telah difraksinasi diukur kadar asam fitat.

Tingkat Pelepasan Asam Fitat oleh Asam Asetat

Tingkat pelepasan asam fitat oleh asam asetat dilakukan dengan merendam pollard sebanyak 2 kg dalam larutan asam asetat 1%. Perbandingan pollard dengan larutan asam asetat adalah 1:1; 1:1,5; 1:2; dan 1:3. Rendaman tersebut diaduk secara manual selama 3 jam. Hasil rendaman kemudian dimasukkan ke dalam kantong yang terbuat dari kain dan dimasukkan ke dalam bagian pengering mesin cuci. Filtrat yang keluar diukur volume, nilai pH, dan kandungan asam fitat.

Pengukuran pH

Larutan diukur nilai pH dengan menggunakan pH meter yang telah distandarisasi dengan larutan buffer pada pH 7 selama ± 10 menit, kemudian pada larutan buffer pH 4 juga selama ± 10 menit. Bagian katoda dicelupkan ke dalam larutan tersebut selama ± 10 menit sampai angka dalam pH-meter tidak bergerak, kemudian dicatat nilai pH.

Pengukuran Asam Fitat

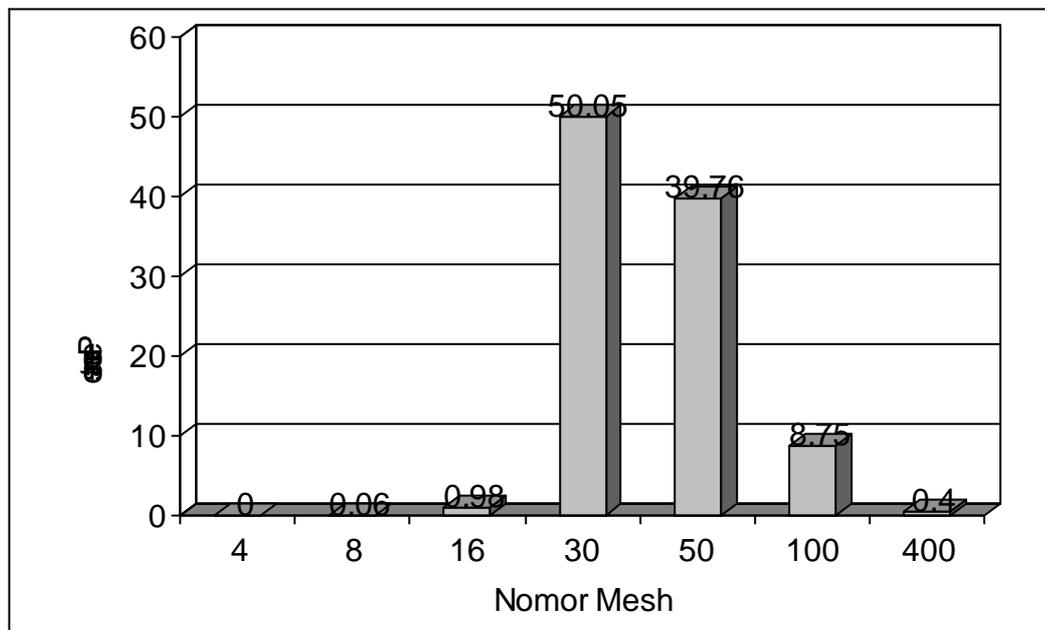
Untuk keperluan pengukuran konsentrasi asam fitat secara spektrofotometri dibuat kurva standar dengan cara asam fitat standar 1,1 mM dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi berturut-turut sebanyak 0,1, 0,2, dan 0,3 mL. Kemudian ditambahkan aquades sampai volume menjadi 0,5 mL, selanjutnya prosedur yang dilakukan sama dengan analisis asam fitat dari bahan yang diuji setelah mengalami ekstraksi dengan HNO₃. Sampel sebanyak 1 g disuspensikan dalam 50 mL larutan HNO₃ 0,5 M dan diaduk di atas penggoyang elektrik selama 3 jam dalam suhu ruang, kemudian disaring dengan kertas Whatman No. 41 (Davies dan Reid, 1979). Filtrat yang dihasilkan dianalisis fitatnya dengan cara mengambil 0,05 mL untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan aquadest sampai volume menjadi 0,5 mL, kemudian ditambahkan 0,9 mL larutan HNO₃ 0,5 M serta 1 mL larutan FeCl₃ (50 µg). Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan direbus dalam aquades mendidih (100°C) selama 20 menit. Setelah itu didinginkan sampai mencapai suhu ruangan dan ditambahkan 5 mL amil alkohol serta 0,1 mL larutan ammonium thiosianat dan diaduk perlahan-

lahan. Sekitar 15 menit setelah penambahan ammonium thiosianat larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 465 nm. Kadar asam fitat dalam bahan (mg/g bahan) dihitung dengan cara membandingkan hasil dengan kurva standar yang telah dilihat sebelumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

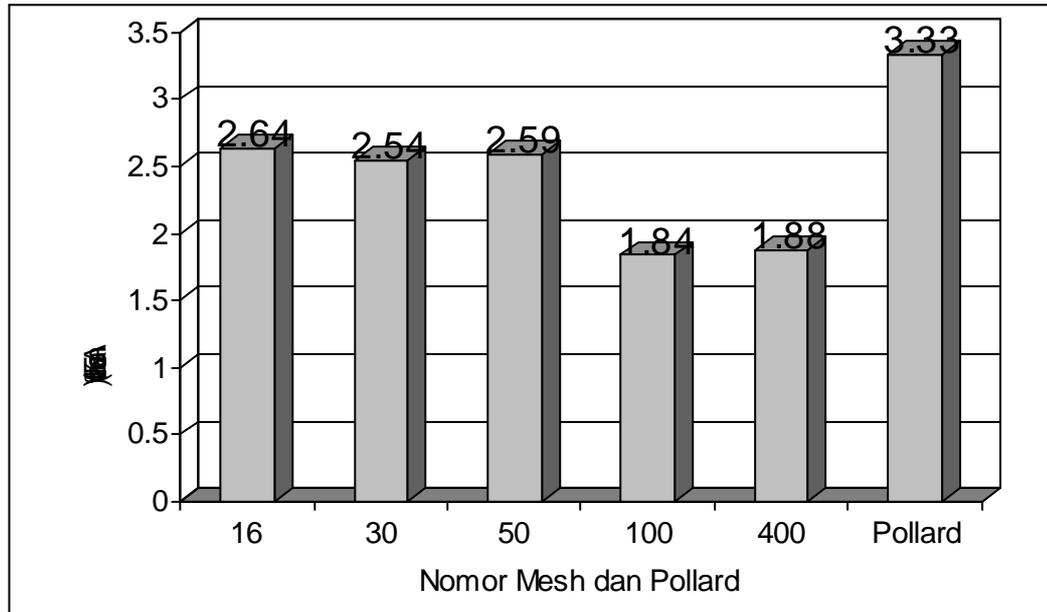
Fraksinasi Pollard dan Kadar Asam Fitat

Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa saringan nomor 30, 50, dan 100 mesh menghasilkan persentase fraksi lebih tinggi dari fraksi lainnya, yaitu berturut-turut sebesar 50,05 dan 39,75, dan 8,75%, namun pada mesh 400 jumlahnya lebih sedikit, yaitu 0,40% (Gambar 1). Pada saringan 4 mesh tidak dihasilkan fraksi, namun pada saringan 8 dan 16 mesh dihasilkan berturut-turut sebesar 0,06 dan 0,98% dan fraksi tersebut sebagian besar berupa bagian kulit luar yang liat terutama pada mesh 8. Pada mesh 100 dan 400 teksturnya lebih halus dan lebih banyak ditemukan tepung terigu (*endosperm*).



Gambar 1 Persentase Fraksinasi Pollard

Dominasi mesh 30 dan 50 yang mencapai 80,80 % menunjukkan bahwa pollard secara fisik memiliki tekstur yang halus dan ukurannya sama dengan diameter <1,00 mm dan tergolong partikel dengan ukuran halus (<1,00 dan $\geq 0,125$ mm) (Kovacs, *et al.* 1998). Pollard diperoleh setelah beberapa tahap perlakuan, mulai proses penggilingan biji gandum dan beberapa kali penyaringan yang disertai penggilingan. Proses yang melibatkan penggilingan dan penyaringan menyebabkan sebagian besar fraksi pollard memiliki tekstur yang halus dan homogen, sehingga pollard dikenal sebagai dedak gandum halus (Bintang, 1989).



Gambar 2 Kandungan Asam Fitat dalam Fraksi Pollard

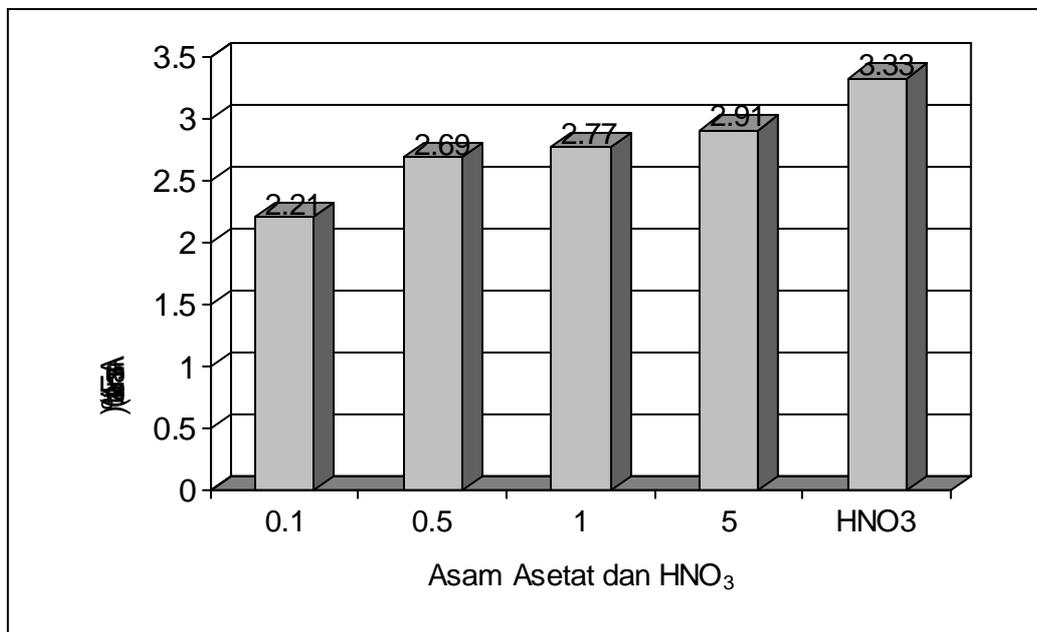
Kadar asam fitat masing-masing fraksi menunjukkan adanya variasi (Gambar 2). Fraksi dari saringan 16, 30, dan 50 mesh hampir sama, namun lebih tinggi dibandingkan dengan saringan 100 dan 400 mesh. Perbedaan kadar asam fitat dapat diakibatkan oleh perbedaan komponen yang terkandung dalam fraksi yang berbeda. Fraksi dari saringan 100 dan 400 mesh diduga banyak mengandung *endosperm* yang kaya pati, sedangkan mesh 16, 30, dan 50 lebih banyak mengandung kulit biji terutama bagian *aleurone* yang memiliki kandungan asam fitat tinggi.

Menurut Ravindran, *et al.* (1995), bagian *aleurone* gandum banyak mengandung asam fitat, sedangkan fitat hampir tidak ditemukan pada bagian *endosperm*. Akan tetapi, bila dibandingkan dengan pollard secara utuh ternyata fraksi-fraksi pollard terutama pada 30 dan 50 mesh yang mencapai 80% memiliki kadar asam fitat yang relatif sama. Homogenisasi yang terjadi pada pollard akan menyebarkan asam fitat secara merata ke seluruh fraksi.

Ukuran partikel pakan pada ternak ruminansia berpengaruh pada kecepatan dan perluasan dalam proses pencernaan. Semakin kecil ukuran partikel pakan menyebabkan laju aliran pakan meningkat dan waktu yang tersedia bagi mikroba rumen untuk memfermentasinya menurun (Kerley, *et al.* 1985). Pollard atau biji-bijian lain dengan ukuran halus yang diberikan dalam jumlah besar memungkinkan sebagian pakan tersebut cepat dialirkan menuju pascarumen dan asam fitat yang dikandungnya berinteraksi dengan beberapa mineral esensial. Hal ini berakibat ternak ruminansia berpotensi mengalami defisiensi mineral, karena asam fitat dapat mengikat kandungan Zn, Cu, Ni, Co, Mn, Ca, dan Fe (Cheryan, 1980).

Efektivitas Kelarutan Asam Fitat dengan Asam Asetat

Kadar asam fitat dalam filtrat hasil ekstraksi pollard dengan asam asetat disajikan pada Gambar 3. Kadar asam fitat filtrat mengalami penurunan seiring dengan menurunnya konsentrasi asam asetat. Kadar asam fitat tertinggi dicapai pada perlakuan 5% kemudian berturut-turut menurun pada konsentrasi asam asetat 1, 0,5 dan 0,1%. Penurunan kadar asam fitat terjadi karena asam asetat sebagai media pengekstrak semakin rendah konsentrasinya (Gambar 4). Seiring dengan penurunan konsentrasi asam asetat menyebabkan pH filtrat menjadi meningkat yang pada gilirannya akan berpengaruh kuat pada efektivitas ekstraksi. Turk (1999) melaporkan bahwa kelarutan asam fitat bergantung pada suasana pH.

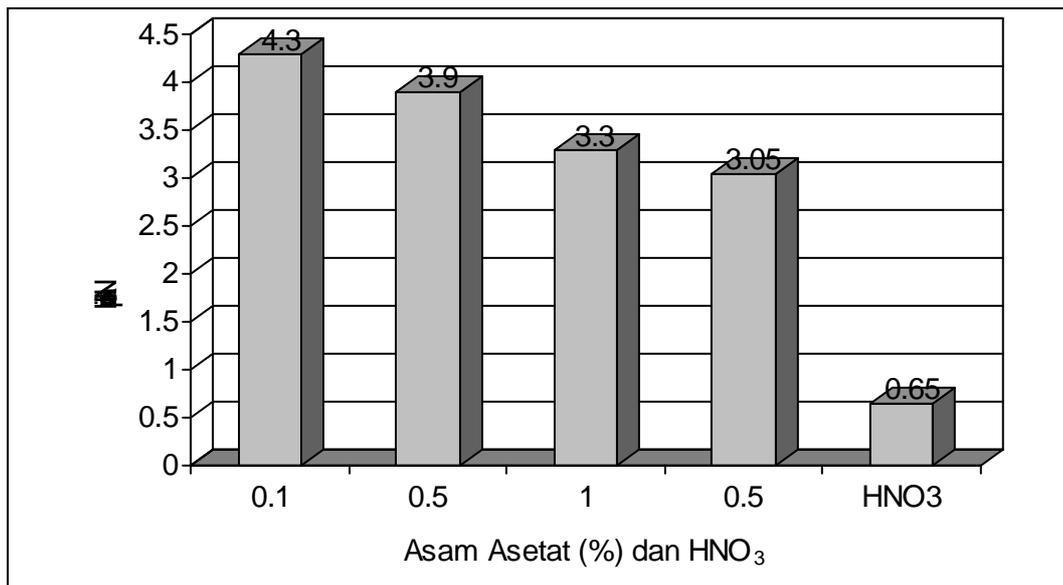


Gambar 3 Kandungan Asam Fitat Pollard Hasil Ekstraksi Asam Asetat dan HNO₃ 0,5 M

Asam asetat dengan konsentrasi 1% efektif mengekstrak asam fitat karena kadar asam fitat yang diekstrak tidak jauh berbeda dengan perlakuan 5% yang membutuhkan asam asetat 5 kali lebih banyak. Pada penggunaan larutan asam asetat 0,5 dan 0,1%, asam fitat yang dihasilkan lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan tersebut. Sementara itu, bila dibandingkan dengan asam nitrat 0,5 M, kadar asam fitat hasil ekstraksi dengan asam asetat lebih tinggi dibandingkan dengan asam asetat. Asam nitrat tergolong sebagai asam kuat, sehingga kekuatan asam nitrat dalam melarutkan asam fitat lebih baik dibandingkan dengan asam asetat. Hal ini terkait dengan suasana asam yang meningkatkan kelarutan asam fitat, dimana penggunaan asam nitrat 0,5 M menghasilkan pH filtrat jauh lebih rendah dibandingkan filtrat hasil ekstraksi dengan asam asetat.

Meskipun asam nitrat menghasilkan asam fitat yang lebih banyak, larutan tersebut bersifat toksik dan dapat mencemari lingkungan dan dikhawatirkan akan merusak ekologi rumen. Asam asetat tidak berdampak negatif pada lingkungan dan lebih menguntungkan bila hasil ekstraksi dimanfaatkan untuk ternak

ruminansia, sebab asam asetat merupakan produk utama fermentasi pada rumen yang digunakan sebagai sumber energi (Arora, 1995). Asam asetat diharapkan dapat digunakan dalam mengekstraks asam fitat dalam skala besar untuk proses industri.



Gambar 4 Nilai pH Filtrat Hasil Ekstraksi Asam Asetat dan HNO₃ 0,5 M

Asam fitat dalam ransum diduga tidak mudah terlarut dalam cairan rumen walaupun asam asetat diproduksi oleh mikroba rumen. Hal ini disebabkan sistem penyangga di cairan rumen yang mempertahankan nilai pH dalam keadaan tetap berkisar 6-7. Kondisi ini terjadi pada ternak yang konsumsi konsentrasinya kurang, namun bila konsumsi konsentrasinya tinggi seperti pada sapi perah produksi tinggi dan penggemukan sapi potong kemungkinan menghasilkan VFA lebih tinggi, sehingga pH cairan rumen menjadi lebih rendah dan asam fitat akan terlarutkan. Asam fitat yang terlarut lebih mudah lolos dari degradasi mikroba rumen dan teralirkan bersama cairan dan digesta menuju pascarumen. Asam fitat yang terlarut bergantung pada pH pelarut, konsentrasi asam asetat yang tinggi akan selaras dengan penurunan pH larutan dan menghasilkan asam fitat yang terlarut lebih banyak.

Tingkat Pelepasan Asam Fitat oleh Asam Asetat

Tingkat pelepasan asam fitat dari berbagai kombinasi pollard dengan pengeksrak asam asetat 1% disajikan pada Tabel 1. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa perbandingan pollard dengan larutan asam asetat 1:1 dan 1:1,5 tidak dapat menghasilkan filtrat dan asam fitat. Hal ini menunjukkan bahwa polard mempunyai daya ikat air yang tinggi, sehingga menyebabkan pelarut yang digunakan masih kurang, pollard tidak terendam seluruhnya dan mengalami kesukaran dalam proses pengadukan. Akan tetapi, pada perlakuan 1:2 dan 1:3

diperoleh filtrat dan asam fitat yang menunjukkan sudah terjadi kejenuhan pelarut asam asetat dalam bahan, sehingga ekstraksi asam fitat dapat dilakukan. Kombinasi 1:3 ternyata diperoleh asam fitat lebih tinggi dibandingkan dengan kombinasi 1:2 dan juga menghasilkan derajat keasaman filtrat yang lebih rendah. Tingginya perolehan asam fitat pada perlakuan 1:3 disebabkan jumlah filtrat yang dihasilkan lebih banyak sebagai akibat dari jumlah pelarut yang digunakannya juga lebih banyak. Rasio dengan pelarut yang banyak digunakan akan memberikan kesempatan lebih besar dalam mengekstrak asam fitat.

Proses pelarutan asam fitat dalam pollard oleh asam asetat diduga selain melepaskan asam fitat tetapi juga ion-ion lain seperti mineral yang juga ikut terlarutkan. Ion-ion terutama mineral memberikan suasana lebih basa dalam filtrat. Hal ini tampak dengan pH filtrat untuk semua perlakuan lebih tinggi daripada pH asam asetat sebagai pelarut. Sementara itu, dengan jumlah asam asetat dan filtrat yang mengandung asam fitat yang dihasilkan lebih rendah, menyebabkan perlakuan 1:2 menghasilkan nilai pH filtrat yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan 1:3.

Asam asetat sebagai pengeksrak pada perbandingan 1:3, dapat melarutkan asam fitat sebanyak 23,83 g/kg, padahal potensi asam fitat pollard sebesar 33,00 g/kg. Hal tersebut berarti bahwa asam fitat yang dilepaskan dalam proses ekstraksi dengan rasio pollard dan pelarut yang digunakan dalam penelitian ini belum maksimal. Pemisahan filtrat dengan menggunakan pengering mesin cuci masih meninggalkan larutan sekitar 263 L atau 4383%, sedangkan filtrat yang dihasilkan 3,36 L atau 56,17%, asam fitat masih banyak yang tertinggal dalam partikel substrat bersama pelarut yang digunakan. Daya absorpsi pollard terhadap air yang tinggi dapat menyebabkan komponen pelarut banyak terserap dan fitat tetap terikat dalam partikel. Hal ini menggambarkan asam fitat dalam pollard yang dikonsumsi ternak ruminansia kemungkinan akan terdegradasi dalam partikel tersebut.

Tabel 1. Tingkat Pelepasan Asam Fitat dari Berbagai Rasio Pollard dan Asam Asetat 1%

Peubah	Bahan per Pelarut (kg/L)			
	1:1	1:1,5	1:2	1:3
pH Asam Asetat 1%	2,26	2,26	2,26	2,26
pH Filtrat	TD	TD	4,45	4,42
Produksi Filtrat (L)	TD	TD	1,82	3,36
Produksi Asam Fitat (g/kg)	TD	TD	12,79	23,83
Potensi (g/kg)	33,00	33,00	33,00	33,00

Keterangan : TD = tidak didapat

Asam fitat yang terekstrak dapat menghasilkan berbagai metabolit yang dibutuhkan tubuh. Asam fitat atau metabolitnya berfungsi sebagai antioksidan, sehingga dapat menghambat pembentukan terjadinya radikal bebas dan penyakit kanker. Asam fitat juga dapat meningkatkan metabolisme tubuh dan ketahanan tubuh. Senyawa ini dipercaya mengurangi *blood clots*, kadar kolesterol, dan trigliserida darah. Lebih lanjut asam fitat dapat bermanfaat dalam menghambat produksi amonia melalui pengikatan dengan molekul Fe. Fungsi lainnya, asam fitat dapat memperluas pembentukan limfosit untuk membunuh sel tumor, mencegah pembentukan batu ginjal dan dapat beraksi sebagai agen *hypocalcemic*

(Chemical Land, 2006). Kemampuan asam fitat mengikat mineral memungkinkan untuk mengurangi akumulasi logam berat yang bersifat racun bagi tubuh (Pallauf dan Rimbach, 1999).

Konfigurasi utama asam fitat terdiri atas fosfat dan inositol. Bagi ternak, asam fitat dimanfaatkan sebagai sumber P potensial, sedangkan inositol termasuk vitamin B dan bersama-sama dengan vitamin B lainnya tergolong sebagai vitamin B kompleks yang banyak digunakan untuk kesehatan. Substansi ini juga merupakan bagian esensial bagi setiap sel dan berfungsi sebagai konstituen dari membran fosfolipid berupa fosfatidilinositol (Berdainer, 1998).

Keuntungan lain dari terlepasnya asam fitat dari substrat (pollard), yaitu kualitas substrat dapat meningkat dengan penurunan asam fitat dalam substrat tersebut. Hal ini karena asam fitat selain memberikan keuntungan, juga merugikan bagi ternak terutama bagi hewan monogastrik. Senyawa ini bermuatan negatif yang sangat reaktif dengan banyak grup bermuatan positif seperti mineral dan protein, sehingga ketersediaan mineral dan protein berkurang (Cheryan, 1980; Umehara, *et al.* 1983).

KESIMPULAN

Fraksinasi tidak efektif dalam memisahkan komponen pollard yang berkadar fitat tinggi. Penggunaan asam asetat 1% pada perbandingan 1:3 menghasilkan asam fitat sebesar 23,83 g/kg.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2004. Phytin. www.bulgarianpharmaceuticalgroup.com. [15 Juli 2004].
- Arora, S.P. 1995. Pencernaan Mikroba pada Ternak Ruminansia. Cetakan ke-2. Gadjah Mada University Press.
- Berdainer, C.D. 1998. Advanced Nutrition Micronutrients. CRC Press, Boca Raton London New York Washington, D.C.
- Bintang, I.A.K. 1989. Respons ayam petelur tipe medium terhadap ransum dari konsentrat yang dicampur dengan jagung dan pollard Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Chemical Land. 2006. Phytic Acid. <http://www.chemicalland21.com/arokarhi/lifescience/foco/PHYTIC%20ACID.htm>. [24 Maret 2006].
- Cheryan, M. 1980. Phytic acid interactions in food system. *CRC Critical reviews in Food Science and Nutrition* 13, 297-335.
- Cosgrove, D.J. 1980. Inositol Phosphate: Their Chemistry, Biochemistry and Physiology. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam.
- Davies, N.T. & H. Reid. 1979. An evaluation of phytate, zinc, copper, iron and manganese contents of, and Zn availability from, soy-based textured-vegetable-protein meat-substitutes or meat-extendere. *British J. Nutr.* 41:579-589.

- Graf, E., K.L. Empson, and J.W. Eaton. 1987. Phytic Acid; A natural Antioxidant. *The Journal of Biological Chemistry* 267 (24):11647-11650.
- Henderson, S.M. & R.L. Perry. 1976. *Agricultural Process Engineering* 3rd Ed. The Avi Publishing Company Inc. Westport. Connecticut.
- Hidvegi, M. & R. Laszity. 2002. Phytic acid content of cereals and legumes and interaction with protein. *Periodica polytechnica Ser. Chem. Eng.* 46 (1-2): 59-64.
- Kerley, M.S., J.L. Firkins, G.C. Fahey, and L.L. Berger. 1985. Roughage content and particle size: their effects on size reduction and fiber composition of particle passing through the gastrointestinal tract of sheep fed corn-cob-concentrate diets. *J. Dairy Sci.* 68 :1363-1375.
- Kovacs, P.L., K.H. Sudekum, and M. Stangassinger. 1998. Effects of intake of a mixed diet and time postfeeding on amount and fibre composition of ruminal and faecal particles and on digesta passage from reticulo-rumen of steer. *Anim. Feed Sci. Technol.* 71:323-340
- Lima-Filho, G.L., U.C. Aroujo, G.M.T. Lima, L.C.M. Aleixo, S.R.F. Moreno, S.D. Santos-Filho, R.S. Freitas, M.V. Castro-Faria, and M. Bernardo-Filho. 2004. A new in vitro enzymatic method to evaluate the protective effect of phytic acid against copper ions. *Pakistan J. Nutr.* 3: 118-121.
- Maga, J.A. 1982. Phytate : Its Chemistry, Occurrence, Food Interactions, Nutritional Significance, and Method of Analysis. *J. Agric. and Food Chem.* 30 (1) : 1-8.
- O'Dell, B.L., A.R. De Boland, and S.R. Korthyohann 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among morphological components of cereal grains. *J. Agric. Food Chem.* 20:718-721.
- Pallauf, J. & G. Rimbach. 1999. Effect of supplemental phytase on mineral and trace element bioavailability and heavy metal accumulation in pigs with different type of diets. Di dalam : Coelho MB, Kornegay ET, editor. *Phytase in Animal Nutrition and waste Management. A BASF Reference Manual.* Ed ke-2. BASF Corporation. Hlm. 481-495.
- Park, W.Y., T. Matsui, C. Konishi, S.W. Kim, F. Yano, and H. Yano. 1999. Formaldehyde treatment suppresses ruminal degradation of phytate in soyabean meal and rapeseed meal. *Br. J. Nutr.* 81(6): 467-71.
- Ravindran, V., W.L. Bryden, and E.T. Kornegay. 1995. Phytases: Occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poultry and Avian Biology Reviews* 6, 125-143 (5.1.9).
- Sumiati. 2005. Rasio Molar asam fitat : Zn untuk menentukan suplementasi Zn dan enzim phytase dalam ransum berkadar asam fitat tinggi. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Turk, M. 1999. Cereal and Microbial Phytase. Phytase Degradation, Mineral Binding and Absorption. Doctoral. Thesis. Departement of Food Science, Chalmers University of Technology. Chalmers Reproservice, Gotenborg, Sweden.
- Umehara, Y., K. Kuruma, and S. Takamori. 1983. Protease inhibitor from brown rice. *J. of the Soc. Brewing, Japan.* 78:457-460.