

Review : Penggunaan Enzim Protease pada Pakan Ayam Broiler

Ririn Angriani¹, Anisa Ramadhani¹

¹Program Studi Nutrisi dan Teknologi Pakan Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung
Alamat Email: ririnangriani@fp.unila.ac.id

ABSTRAK

Review artikel ini bertujuan untuk mengetahui penggunaan enzim protease pada pakan ayam broiler. Protein diperlukan untuk pertumbuhan dan efisiensi pakan. Kualitas pakan tidak hanya dihitung dari jumlah nutrisi, tetapi nilai pencernaan pakan perlu diperhatikan. Salah satu upaya dalam meningkatkan pencernaan yaitu penggunaan enzim. Enzim protease adalah jenis enzim yang menghidrolisis protein kompleks menjadi sederhana. Enzim protease umumnya menggunakan organisme dari *Trichoderma longibrachiatum* rifar, *Fusarium equiseti*, *Trichoderma reesei*, dan *Bacillus licheniformis*. *Bacillus licheniformis* merupakan organisme yang paling banyak digunakan untuk produksi enzim protease. Penggunaan enzim protease pada pakan ayam broiler sudah banyak dilakukan. Suplementasi enzim protease tidak efektif pada pakan ayam broiler yang nutriennya sudah baik karena tidak adanya peningkatan performa. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya penurunan performa seiring dengan peningkatan dosis protease seperti penurunan bobot badan dan peningkatan feed conversion ratio (FCR). Namun, enzim protease dalam pakan rendah protein mampu meningkatkan konsumsi ransum, penambahan bobot badan dan efisiensi pakan ayam broiler. Selain itu, enzim protease juga mampu memperbaiki respon ukuran organ pencernaan dan pencernaan nutrisi. Kombinasi enzim protease dengan enzim Non-Starch Polysaccharide juga mampu secara signifikan menurunkan berat relatif ampela, usus kecil, pankreas, ileum, panjang relatif duodenum dan ileum serta meningkatkan berat relatif organ limfoid (timus, bursa Fabricius, limpa) dan energi yang dapat dimetabolisme (Energi Metabolisme Semu (EMS), Energi Metabolisme Murni (EMN), Energi Metabolis Semu Terkoreksi Nitrogen (EMSn), dan Energi Metabolis Murni Terkoreksi Nitrogen (EMMn).

Kata Kunci: enzim protease, pencernaan, performa, organ dalam, ransum unggas

ABSTRACT

*This article aims to examine the use of protease enzymes in broiler chicken feed. Protein is essential for growth and feed efficiency. Feed quality is not only measured by the amount of nutrients, but also by the digestibility of the feed. One way to improve digestibility is through the use of enzymes. Protease enzymes are a type of enzyme that hydrolyzes complex proteins into simpler ones. Protease enzymes are commonly produced using organisms such as *Trichoderma longibrachiatum* rifar, *Fusarium equiseti*, *Trichoderma reesei*, and *Bacillus licheniformis*. *Bacillus licheniformis* is the most widely used organism for protease enzyme production. The use of protease enzymes in broiler chicken feed has been widely practiced. Protease enzyme supplementation is ineffective in broiler chicken feeds that already contain good nutrition because there is no increase in performance. This is indicated by a decrease in performance with increasing protease dosage, such as decreased body weight and an increase in the feed conversion ratio. However, protease enzymes in low-protein feeds can increase feed consumption, body weight gain, and feed efficiency in broiler chickens. In addition, protease enzymes are also able to improve the response of digestive organ size and nutrient digestibility. The combination of protease enzymes with Non-Starch Polysaccharide enzymes is also able to significantly reduce the relative weight of the gizzard, small intestine, pancreas, ileum, the relative length of the duodenum and ileum and increase the relative weight of lymphoid organs (thymus, bursa of Fabricius, spleen) and metabolizable energy (Apparent Metabolizable Energy (AME), True Metabolizable Energy (TME), Apparent Metabolizable Energy Corrected to Nitrogen (AMEn), and True Metabolizable Energy Corrected to Nitrogen (TMEn).*

Keywords: protease enzymes, digestibility, performance, internal organs, poultry rations

PENDAHULUAN

Ayam broiler merupakan bahan pangan sumber protein hewani dengan harganya cukup ekonomis sehingga banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Daging ayam ras memiliki rata-rata konsumsi pada tahun 2023 mencapai 7,46 kg per kapita setiap tahun. Rosyidi et al. (2009) menyatakan bahwa daging ayam mengandung komponen kimia berupa kadar air 78,86%, protein 23,20%, lemak 1,65%, mineral 0,98%, serta energi 114 kkal/kg. Salah satu faktor keberhasilan dalam pemeliharaan yaitu pakan, dimana 60-70% dari biaya total produksi digunakan untuk pakan (Rasyaf 2008). Produktivitas ternak dapat meningkat apabila didukung oleh pemberian pakan dengan kandungan nutrisi yang baik (Nurwaidah et al. 2016). Oleh karena itu, kualitas pakan menjadi hal penting yang perlu diperhatikan dalam upaya meningkatkan produktivitas ternak. Pakan memiliki kandungan nutrisi yang berguna untuk mempertahankan kehidupan, memelihara keutuhan tubuh, dan berproduksi. Salah satu kandungan nutrisi yang paling penting pada ayam broiler yaitu protein.

Protein berguna untuk pertumbuhan dan efisiensi pakan. Ayam broiler membutuhkan protein untuk pembentukan karkas. Sumber protein pada pakan terbagi menjadi protein hewani dan protein nabati. Menurut Hossain et al. (2013) bahwa pemberian sumber protein hewani dan nabati jika dilakukan bersamaan kedua sumber protein itu melengkapi, sehingga terjadi keseimbangan nutrisi. Pakan dengan protein rendah dapat menyebabkan laju pakan cepat, sedangkan pada protein tinggi laju pakan akan lambat untuk mendapatkan waktu yang lebih banyak dalam denaturasi dan pelarutan protein (Wahju 2004). Kualitas pakan tidak hanya dihitung dari jumlah nutrisi, tetapi nilai pencernaan pakan perlu diperhatikan. Menurut Mahardika (2017) bahwa tingginya jumlah nutrisi yang tidak diimbangi dengan kualitas nilai pencernaan yang baik akan berakibat pada pemborosan pakan.

Salah satu upaya dalam meningkatkan pencernaan yaitu penggunaan enzim. Menurut Safaria et al. (2013), enzim merupakan protein yang berperan sebagai katalis dalam reaksi biokimia dan berfungsi menguraikan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana melalui proses hidrolisis. Pada sistem pemeliharaan ayam broiler, manajemen pemberian pakan dirancang agar ayam mengonsumsi dalam jumlah banyak, sehingga laju aliran pakan akan menjadi cepat dan pencernaan nutrisi menjadi rendah. Hal tersebut dikarenakan enzim yang diproduksi oleh tubuh tidak mampu mencerna semua. Oleh karena itu, penambahan enzim eksogen digunakan untuk meningkatkan nilai pencernaan nutrisi.

Pencernaan protein pada unggas oleh protease endogen melalui pencernaan lambung dalam lingkungan asam dan pencernaan pankreas di usus halus (Awad et al. 2014). Protein dicerna di dalam usus halus oleh enzim protease atau tripsin yang ada pada getah empedu. Selanjutnya, protein berubah menjadi polipeptida yang akan dicerna kembali oleh enzim peptidase menjadi asam amino yang diserap oleh usus halus. Enzim protease berfungsi menguraikan protein kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana. Penambahan enzim pada pakan dapat membantu proses hidrolisis senyawa kompleks sehingga nutrisi lebih mudah diserap oleh tubuh. Ding et al. (2016) menyatakan bahwa penggunaan enzim protease sampai 300mg/kg pakan mampu meningkatkan pencernaan protein kasar sebesar 4,2% dan aktivitas enzim tripsin sebesar 16%. Selain itu, enzim ini juga berperan dalam memperbaiki morfologi usus, seperti meningkatkan tinggi vili, kedalaman kriptas, serta rasio tinggi vili terhadap kedalaman kriptas. Penelitian Erdaw dan Beyene (2018) menemukan bahwa enzim protease dalam pakan mampu mendegradasi anti nutrisi pakan menjadi asam amino, sehingga dapat mudah diserap dan meningkatkan performa ternak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penggunaan enzim protease pada pakan ayam broiler sudah banyak dilakukan. Enzim protease umumnya menggunakan organisme dari *Trichoderma longibrachiatum* rifar, *Fusarium equiseti*, *Trichoderma reesei*, dan *Bacillus licheniformis*. *Bacillus licheniformis* merupakan organisme yang paling banyak digunakan untuk produksi enzim protease. Soeka et al. (2011) melaporkan bahwa bakteri *Bacillus licheniformis* mampu menghasilkan enzim protease dengan aktivitas optimum setelah inkubasi selama 2 hari, yaitu mencapai 150,52 U/mL. Aktivitas enzim tersebut meningkat pada kondisi pH 10 sebesar 193,14 U/mL serta pada suhu 50°C sebesar 123,34 U/mL. Selain itu, penggunaan enzim protease juga biasanya dikombinasikan dengan enzim lain seperti xylanase, fitase, dan Non-Starch Polysaccharide (NSP). Menurut Singh et al. (2019) dan Toghyani et al. (2017), kombinasi enzim NSP dan protease mampu mengoptimalkan pemanfaatan pakan berserat tinggi sehingga dapat meningkatkan nilai pencernaannya. Penggunaan enzim protease pada pakan ayam broiler dapat dilihat pada Tabel 1.

Penelitian Walk et al. (2019) menemukan bahwa suplementasi enzim protease tidak efektif pada pakan ayam broiler yang nutrisinya sudah baik karena tidak adanya peningkatan performa. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya penurunan performa seiring dengan peningkatan dosis protease seperti penurunan bobot badan dan peningkatan feed conversion ratio. Pakan yang diberi enzim protease *Fusarium equiseti* memiliki pencernaan nitrogen lebih tinggi dibandingkan pakan dengan protease *Trichoderma reesei*. Penambahan enzim protease dengan kombinasi enzim fitase juga memberikan hasil lebih baik pada daya cerna N dibandingkan pakan yang hanya diberi enzim protease. Pada penelitian Carneiro et al. (2021) juga ditemukan bahwa

suplementasi enzim protease dari *Bacillus licheniformis* pada pakan ayam broiler tidak mempengaruhi performa, namun adanya peningkatan signifikan sebesar 1,41% dalam keseimbangan nitrogen.

Anu et al. (2024) menyatakan bahwa suplementasi enzim protease pada pakan ayam broiler fase starter dengan kandungan protein rendah mampu meningkatkan konsumsi ransum, pertambahan bobot badan, serta efisiensi pakan. Hal tersebut sejalan dengan Mahardhika et al. (2021) bahwa suplementasi enzim protease mampu memperbaiki respon ukuran organ pencernaan pada pakan yang memiliki kadar protein rendah terbukti bahwa penambahan protease secara signifikan mengurangi berat ileum dan berat total usus halus dan menurunkan panjang jejunum. Wang et al. (2022) menyatakan bahwa kombinasi enzim NSP dan protease pada pakan ayam broiler umur 1-21 hari secara efektif meningkatkan bobot badan sebesar 3,89% dan pertambahan bobot badan sebesar 2,6%, serta menurunkan nilai konsumsi pakan sebesar 3,36% dan nilai rasio konversi pakan dari 2,28 menjadi 2,11. Berbeda dengan penelitian Choudhary et al., (2022) bahwa penambahan enzim protease tidak berbeda nyata terhadap pertambahan bobot badan, konsumsi pakan, dan rasio konversi pakan.

Penelitian Zavelinski et al. 2024 melaporkan bahwa pemberian jagung dengan suplementasi enzim protease *Bacillus licheniformis* pada ayam broiler mampu meningkatkan bobot badan sebesar 0,97% dengan Feed Conversion Ratio (FCR) sebesar 1,5. Selain itu, suplementasi enzim protease mampu meningkatkan pencernaan energi, namun tidak ada perbedaan untuk pencernaan protein kasar terbukti bahwa Ileal Digestible Energy (IDE) memiliki nilai lebih besar. Hal tersebut dikarenakan endosperma dan komposisi pati yang lebih lunak pada jagung kelompok B serta adanya suplementasi protease yang mampu mengurangi FCR dan meningkatkan IDE terlepas dari kelompok jagung. Song et al. (2023) menyatakan bahwa suplementasi protease dapat mengurangi 1% protein dalam pakan ayam broiler tanpa efek negatif yang signifikan terhadap pertumbuhan, pencernaan nutrisi, hasil karkas, perkembangan organ, dan metabolit darah. Kocher et al. (2015), penambahan enzim protease pada pakan ayam broiler mampu meningkatkan bobot badan dan memperbaiki feed conversion ratio. Suplementasi enzim protease mampu meningkatkan berat badan dan daya cerna bahan kering serta mempengaruhi fisiologis ayam broiler (Saleh et al. 2020).

Penambahan enzim protease dan NSP dapat secara signifikan menurunkan berat relatif ampela, usus kecil, pankreas, ileum, dan panjang relatif duodenum dan ileum (Angriani et al., 2022). Hal tersebut dikarenakan penambahan enzim protease dan NSP mampu mengurangi dampak negatif penggunaan tepung daun singkong dalam pakan. Selain itu, Ridla et al. (2023) menyatakan bahwa suplementasi kedua enzim tersebut secara nyata dapat meningkatkan bobot relatif organ limfoid, seperti timus, bursa Fabricius, dan limpa, serta meningkatkan nilai energi metabolisme, meliputi Energi Metabolisme Semu (EMS), Energi Metabolisme Murni (EMN), Energi Metabolisme Semu Terkoreksi Nitrogen (EMSn), dan Energi Metabolisme Murni Terkoreksi Nitrogen (EMMn). Hasil tersebut didukung oleh penelitian Silva et al. (2021) yang menunjukkan bahwa penambahan enzim protease dapat meningkatkan nilai EMS dan EMSn. Namun, berbeda dengan Radhi et al. (2023) bahwa penambahan enzim protease serta kombinasi enzim protease dan amilase tidak berbeda nyata terhadap berat jantung, hati, ampela, dan limpa.

Table 1. Penggunaan enzim protease pada pakan ayam broiler

Merek Enzim Protease	Organisme	Dosis Penggunaan (g/ton)	Kombinasi Enzim Lain	Sumber
Vegpro™	<i>Trichoderma longibrachiatum rifar</i>	5,000, 10,000, or 20,000 HUT/kg,	Xylanase	Kocher et al. 2015
Novel Protease 1	<i>Fusarium equiseti</i>	30, 90 dan 270		Walk et al. 2019
Novel Protease 2	<i>Trichoderma reesei</i>	60, 180, dan 540		Walk et al. 2019
Ronozyme	<i>Bacillus licheniformis</i>	100, 200, dan 300	-	Saleh et al. 2020
ProAct	<i>Bacillus licheniformis</i>			
Cibenza DP 100	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,05 %	-	Carneiro et al. 2021

Merek Enzim Protease	Organisme	Dosis Penggunaan (g/ton)	Kombinasi Enzim Lain	Sumber
Concentrase-P	<i>Bacillus lichenciformis</i>	250	-	Mahardhika <i>et al.</i> 2021
Ronozyme ProAct	<i>Bacillus licheniformis</i>	200	-	Silva <i>et al.</i> 2021
Protease enzyme	-	0,01%	-	Choudhary <i>et al.</i> , 2022
Protease enzyme	-	0,02%	-	Choudhary <i>et al.</i> , 2022
Protease enzyme	-	0,03%	-	Choudhary <i>et al.</i> , 2022
Protease enzyme	-	0,35%	-	Choudhary <i>et al.</i> , 2022
Concentrase-P	<i>Bacillus lichenciformis</i>	250	Non-Starch Polysaccharide	Angriani <i>et al.</i> 2022 ^a
Kemzyme	-	200 mg/ton	Non-Starch Polysaccharide	Wang <i>et al.</i> 2022
Protease enzyme	-	100	-	Radhi <i>et al.</i> , 2023
Protease enzyme	-	100	Amilase	Radhi <i>et al.</i> , 2023
Concentrase-P	<i>Bacillus lichenciformis</i>	250	Non-Starch Polysaccharide	Ridla <i>et al.</i> 2023
Sunpro	-	50, 100	-	Song <i>et al.</i> 2023
Axtra Phy 10000 TPT	-	200 - 250	Fitase	Anu <i>et al.</i> 2024
Ronozyme ProAct	<i>Bacillus licheniformis</i>	200	-	Zavelinski <i>et al.</i> 2024

PENUTUP

Kesimpulan

Penambahan enzim protease pada pakan ayam broiler memberikan respons yang bervariasi, dengan pengaruh yang lebih nyata pada pakan rendah protein dibandingkan pakan yang telah memenuhi kebutuhan nutrisi. *Bacillus licheniformis* merupakan bakteri yang paling banyak digunakan. Selain mengurangi dampak negatif komponen pakan tertentu, kombinasi protease dengan enzim lain berpotensi meningkatkan performa broiler secara lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Angriani, R., Hermana, W. & Ridla, M. (2022). The Effectiveness of Cassava Leaf Meal (*Manihot esculenta* Crantz) in Feed with Enzymes Supplementation on Broiler Digestive Organs. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 32(2), 264 – 273.
- Anu, Y., Nalle, C. L., & Sabuna, C. (2024). Performa pertumbuhan ayam broiler fase starter yang diberi ransum basal dengan kandungan nutrisi berbeda dan ditambahkan enzim. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 12(2), 172–183. <https://doi.org/10.23960/jipt.v12i2.p172-183>
- Awad E. A. F., Zulkifli, M. I., Farjam, A. S., & Chwen, L. T. (2014). Amino Acids Fortification of Low-Protein Diet for Broilers under Tropical Climate : Ideal Essential Amino Acids Profile. *Ital J Anim Sci*, 13, 270–74.
- Carneiro, A. L. M., Café, M. B., Carvalho, F. B., de Oliveira, H. F., Carvalho, D. P., de Carvalho, G. B., Gomides, L. P. S., & Stringhini, J. H. (2023). Effects of a monocomponent protease from *Bacillus*

licheniformis on broiler performance, digestibility, and carcass yield. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 45, e58499, 1-11. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v45i1.58499>

- Choudhary, B., Kumar, N., Yadav, R. K., Frisch, M. & Kumbet, U. (2022). Effect of different concentration of commercial protease enzyme on broiler production. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 11(4), 110–120.
- Ding, X. M., Li, D. D., Li, R., Wang, J. P., Zeng, Q. F., Bai, S. P., Su, Z. W., & Zhang, K. Y. (2016). Effects of Dietary Crude Protein Levels and Exogenous Protease on Performance, Nutrient Digestibility, Trypsin Activity and Intestinal Morphology in Broilers. *Livestock Sci*, 193, 26–31. [doi:10.1016/j.livsci.2016.09.002](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.09.002)
- Erdaw, M. & Beyene, W. T. (2018). Anti-nutrients Reduce Poultry Productivity: Influence of Trypsin Inhibitors on Pancreas. *Asian J Poult Sci*, 12(1), 14-24.
- Hossain, M. A., Islam, A. F. & Iji, P. A. (2013). Growth Responses, Excreta Quality, Nutrient Digestibility, Bone Development and Meat Yield Traits of Broiler Chickens Fed Vegetable or Animal Protein Diets. *South African J. Anim. Sci*, 43(2), 208-218.
- Kocher, A., Hower, J. M., & Moran, C. A. (2015). A dual-enzyme product containing protease in broiler diet: Efficacy and tolerance. *Journal of Applied Animal Nutrition*, 3, e6, 1–14. <https://doi.org/10.1017/jan.2015.4>
- Mahardhika, B. P. (2017). Energi Metabolis, Organ Pencernaan Ayam broiler diberi Pakan Taraf Protein Berbeda dengan Perlakuan Enzim Protease. Skripsi. Fakultas Peternakan. Insitut Pertanian Bogor.
- Mahardhika, B. P., Ridla, M., Mutia, R., & Naja, M. (2021). Response size of digestive organs of broiler that are fed containing jack bean (*Canavalia ensiformis*) different levels of protein with protease enzyme supplementation. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 31(2), 133–139. <https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2021.031.02.06>
- Nurwaidah, J., Toleng, A. L., & Hidayat, M. N. (2016). Pengaruh Pemberian Pakan Konsentrat dan Urea Molases Blok terhadap Pertambahan Berat Badan Sapi Potong. *Jiip*, 2(2), 111-121.
- Radhi, K. S., Arif, M., Youssef, I. M., Rehman, A. U., Swelum, A. A., Faizan, M., Suliman, G. M., Almohmadi, N. H., Tharwat, M., Ebrahim, A., Abd El-Hack, M. E. & Mahrose, K. M. (2023). Growth performance of broiler chickens fed diets supplemented with amylase and protease enzymes individually or combined. *Open Veterinary Journal*, 13(11), 1425–1435.
- Rasyaf, M. (2008). *Panduan Beternak Ayam Pedaging*. Jakarta (ID): Penebar Swadaya.
- Ridla, M., Angriani, R., & Hermana, W. (2023). Impact of Cassava Leaf Meal as a Rice Bran Substitute and Enzyme Supplementation on Lymphoid Organ Weight and Digestibility in Broiler Chickens. *Buletin Peternakan*, 47(3), 184-189.
- Rosyidi, D., Susilo, A., & Muhbianto, R. (2009). Pengaruh Penambahan Udang Terfermentasi *Aspergillus niger* Pada Pakan Terhadap Kualitas Fisik Daging Ayam. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, 4(1), 1-10.
- Safaria, S., Idiawati, N., & Zaharah, T. N. (2013). Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trihoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*, 2(1), 46-51.
- Saleh, A. A., Dawooda, M. M., Badawia, N. A., Ebeida, T. A., Ambera, K. A., & Azzam, M. M. (2020). Effect of supplemental serine-protease from *Bacillus licheniformis* on growth performance and physiological change of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 48(1), 86–92. <https://doi.org/10.1080/09712119.2020.1732986>
- Silva, J. M. S., de Oliveira, N. R., Gouveia, A. B. V. S., Vieira, R. A., dos Santos, R. O. F., Minafra, C. S., & dos Santos, F. R. (2021). Effect of protease supplementation on the digestibility of amino acids in animal-origin meals for broiler diets. *Czech Journal of Animal Science*, 66(1), 29–37.
- Singh AK, Berrocoso, JFD, Dersjant-Li Y, Awati A, Jha R. 2019. Effects of a combination of xylanase, amylase and protease, and probiotics on major nutrients including amino acids and non-starch polysaccharides utilization in broilers fed different level of fibers. *Poult Sci*. 98: 5571–5581. [doi:10.3382/ps/pez310](https://doi.org/10.3382/ps/pez310).

- Soeka, Y. S., Rahayu, S. H., Setianingrum, N., & Naiola, E. (2011). Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam memproduksi enzim protease yang bersifat alkalin dan termofilik. *Media Litbang Kesehatan*, 21(2), 89–95.
- Song, X., Al Anas, M., Kurniawati, A., Hanim, C., Muhlisin, Aprianto, M. A., Madani, A. M. A., Wang, Q., & Chen, H. (2023). Effects of reduced-protein diets with protease supplementation on growth, carcass yield, intestinal morphology, organ development, nutrient digestibility, and blood biochemical of broiler chickens. *Translational Animal Science*, 7, txad098. <https://doi.org/10.1093/tas/txad098>
- Toghyani M, Wu SB, P´erez-Maldonado RA, Iji PA, Swick RA. 2017. Performance, nutrient utilization, and energy partitioning in broiler chickens offered high canola meal diets supplemented with multicomponent carbohydrase and mono-component protease. *Poult Sci.* 96 :3960–3972. doi:10.3382/ps/pex212.
- Wahju, J. (2004). *Ilmu Nutrisi Unggas*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Walk, C. L., Juntunen, K., Paloheimo, M., & Ledoux, D. R. (2019). Evaluation of novel protease enzymes on growth performance and nutrient digestibility of poultry: Enzyme dose response. *Poultry Science*, 98(11), 5525–5532. <https://doi.org/10.3382/ps/pez299>
- Wang, C., Yuan, T., Yang, J., Zheng, W., Wu, Q., Zhu, K., Mou, X., Wang, L., Nie, K., Li, X., & Zhu, Y. (2022). Responses of combined non-starch polysaccharide enzymes and protease on growth performance, meat quality, and nutrient digestibility of yellow-feathered broilers fed with diets with different crude protein levels. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 946204. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.946204>
- Zavelinski, V. A. B., Vieira, V. I., Bassi, L. S., de Almeida, L. M., Schramm, V. G., Maiorka, A., & de Oliveira, S. G. (2024). The effect of protease supplementation in broiler chicken diets containing maize from different batches on growth performance and nutrient digestibility. *Animal*, 18, 101363. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2024.101363>