

TINJAUAN TERHADAP PERANAN ENZIM FOSFATASE DALAM PENGELOLAAN FOSFOR ORGANIK UNTUK TANAMAN PERTANIAN

A. K. Salam, M. A. S. Arief, S. Djuniwati

Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung Indonesia

ABSTRACT

A REVIEW ON THE ROLE OF PHOSPHATASES IN MANAGEMENT OF ORGANIC PHOSPHORUS FOR CROP PLANTS. *Inorganic phosphorus comprises one of the biggest input fertilizers for tropical agriculture, particularly due to the high adsorption capacity of most tropical soils with respect to this element and the high amounts of P needed by plants. Meanwhile, organic P is a potential source of soil P, but its utilization is limited by its low decomposition rates that provide available forms of P. Soil phosphatases are suggested to fasten the transformation of organic P to inorganic P that is readily available to plants. Understanding the activities and their controlling factors such as pH, content of organic matter, water content, soil temperature, and nutrient status is of great necessary to better provide P for plant growth from potential organic-P sources.*

Key words: *soil enzymes, phosphatases, organic phosphorus, inorganic phosphorus, tropical agriculture*

PENDAHULUAN

Masukan fosfor (P) dari sumber pupuk ke dalam tanah pertanian adalah yang terbesar kedua setelah nitrogen (Tisdale dkk., 1985). Penambahan fosfor ke dalam tanah asam yang banyak terdapat di daerah tropika umumnya tinggi karena tanah ini memiliki kapasitas penyerapan yang relatif tinggi terhadap P. Fakta ini merangsang masukan P lebih besar di tanah asam daripada di tanah netral dan menyebabkan pengeluaran negara untuk pembelian pupuk P lebih besar untuk suatu tingkat produksi tertentu. Bagi Indonesia, yang kebanyakan tanahnya bersifat asam atau agak asam, kondisi di atas dapat memberikan akibat ekonomi yang besar dalam usaha pertanian. Oleh karena itu, alternatif lain, misalnya penggunaan sumber P yang bersifat alami, sangat diperlukan.

Bahan organik yang menumpuk dalam kegiatan pertanian adalah salah satu sumber P-

organik yang mungkin dapat digunakan untuk menyediakan P-nirorganik di dalam tanah untuk memenuhi paling tidak sebagian dari kebutuhan tanaman. Kecepatan pelepasan P nirorganik dari P organik ini mungkin rendah dan tidak memberikan tambahan P yang cukup untuk peningkatan produksi. Namun, perubahan P organik menjadi P nirorganik seperti ortofosfat yang tersedia bagi tanaman dapat dipercepat dengan melola beberapa sifat tanah. Beberapa peneliti (Tate III, 1987; Tabatabai, 1982) menyatakan bahwa proses transformasi tersebut merupakan reaksi yang dipengaruhi oleh enzim fosfatase dan aktivitas enzim ini sangat dipengaruhi oleh beberapa sifat tanah seperti pH, kandungan bahan organik, kadar air, dan temperatur tanah. Kecepatan perubahan P organik menjadi P nirorganik dapat dimodifikasi dengan memanipulasi satu atau beberapa dari faktor ini. Dengan demikian, melalui pengelolaan faktor tersebut, lebih banyak P dapat disediakan bagi

tanaman dari sumber organik. Ini tidak hanya akan mengurangi pengeluaran negara untuk pembelian pupuk P tetapi juga dapat menjaga kemampuan tanah dalam menyediakan P untuk pertumbuhan dan produksi tanaman melalui siklus P.

Artikel ini bertujuan untuk mengulas peranan fosfatase dalam menyediakan P yang diperlukan untuk pertumbuhan dan produksi tanaman dan beberapa faktor penting yang mempengaruhi aktivitasnya di dalam tanah. Teknik analisis untuk menentukan aktivitas enzim ini di dalam tanah juga diulas.

KETERSEDIAAN FOSFOR TANAH BAGI TANAMAN

Walaupun diperlukan dalam jumlah banyak, konsentrasi dan ketersediaan P di dalam tanah umumnya relatif rendah, kecuali dalam tanah yang berkembang dari bahan induk fosfatik. Ketersediaan P bagi tanaman diatur oleh banyak faktor, di antaranya pH tanah diyakini paling berpengaruh. Beberapa peneliti percaya bahwa ketersediaan P bagi tanaman dapat dilola dengan pengaturan pH tanah, misalnya dengan pengapuran (Tisdale dkk., 1985). Usaha ini dilaporkan dapat meningkatkan ketersediaan P bagi tanaman. Namun, beberapa peneliti juga menunjukkan bahwa peningkatan pH tidak selalu meningkatkan ketersediaan P bagi tanaman, tetapi dapat juga menurunkan ketersediaan P bagi tanaman tertentu.

Fosfor di dalam larutan tanah, bagian dari P tanah yang mudah tersedia bagi tanaman, berada dalam beberapa bentuk, yaitu: H_3PO_4^0 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} , dan berbagai bentuk kompleksnya dengan berbagai kation. Konsentrasi masing-masing bentuk ini sangat dipengaruhi oleh pH tanah. Dalam sistem larutan murni, H_3PO_4^0 dominan dalam rentang pH lebih rendah daripada pk_1 untuk asam tersebut, yaitu 2,15, H_2PO_4^- antara pH 2,15 (pk_1) dan pH 7,20 (pk_2), HPO_4^{2-} antara pH

7,20 (pk_2) dan pH 12,35 (pk_3), dan PO_4^{3-} pada rentang pH lebih besar daripada 12,35 (pk_3) (Lindsay, 1979). Berdasarkan pada teori ini dan pada fakta bahwa pH tanah pada umumnya berada pada rentang pH 4 sampai pH 7, diyakini bahwa H_2PO_4^- merupakan bentuk yang paling banyak dijumpai di dalam tanah dan tersedia bagi tanaman.

Konsentrasi H_2PO_4^- di dalam tanah berada dalam keseimbangan dengan padatan tanah, yaitu endapan P atau P-terjerap (Lindsay, 1979). Akibatnya, aktivitas ion ini diatur oleh proses *penjerapan / pelepasan* atau pengendapan/pelarutan bentuk P padatan tersebut. Karena kapasitas jerap tanah maupun kelarutan endapan P ditentukan oleh pH tanah, aktivitas P larut di dalam larutan tanah juga tergantung pada pH tanah. Akibatnya, aktivitas H_2PO_4^- diatur secara dinamik oleh padatan tanah dan keseimbangannya sangat tergantung pada pH tanah.

Fosfor organik adalah bagian dari padatan tanah yang juga mempengaruhi aktivitas ion H_2PO_4^- di dalam larutan tanah. Namun, kinetika pelepasan ion H_2PO_4^- dari P organik berjalan lebih lambat daripada pelepasan atau pelarutan ion tersebut dari padatan anorganik. Peranan P organik dalam menopang aktivitas ion P di dalam larutan tanah sangat tergantung pada reaksi biokimia yang berkaitan dengan aktivitas akar tanaman atau mikroorganisme.

PERANAN ENZIM FOSFATASE

Fosfatase umumnya dibedakan dalam 2 kelompok, yaitu fosfatase asam dan fosfatase alkalin. Perbedaan antara kedua jenis fosfatase tersebut berkaitan dengan teknik pengukuran aktivitasnya. Fosfatase asam ditentukan di dalam sistem penyangga dengan pH rendah. Frankenberger dan Johanson (1982) menggunakan pH 6,5 untuk menentukan aktivitas enzim ini. Pang dan Kolenko (1986) menggunakan nilai pH 7,0

Salam dkk.: Peranan enzim fosfatase dalam pengelolaan fosfor organik

untuk pengukuran aktivitas enzim tersebut. Fosfatase alkalin ditentukan pada pH di atas netral, umumnya nilai pH 11,0 digunakan untuk menentukan aktivitas enzim ini (Frankenberger dan Johanson, 1982; Tabatabai, 1982). Perbedaan nilai pH dalam penentuan aktivitas fosfatase akan membedakan besarnya aktivitas yang terukur; tergantung pada profil hubungan antara aktivitas versus pH untuk tanah yang bersangkutan.

Pemilihan nilai pH untuk pengukuran kedua enzim tersebut sebenarnya didasarkan pada kurva hubungan antara aktivitas fosfatase dengan pH dari sistem penyangga yang digunakan dalam pengukuran. Frankenberger dan Johanson (1982) menemukan bahwa fosfatase asam rata-rata memiliki pH optimum (pH dengan aktivitas fosfatase tertinggi) 6,5 untuk fosfatase asam dan 11,0 untuk fosfatase alkalin. Dalam kenyataan, nilai pH optimum untuk setiap jenis tanah beragam tergantung pada banyak faktor, di antaranya adalah vegetasi dominan yang tumbuh pada tanah yang bersangkutan. Salam dkk. (1997b) menemukan bahwa pH optimum untuk fosfatase asam pada tanah di Lampung Barat bergeser ke pH lebih tinggi akibat konversi hutan primer menjadi hutan sekunder dan tanah pertanian. Walaupun pH optimum berkorelasi dengan aktivitas maksimum, nilai pH optimum tidak selalu berkorelasi dengan pH tanah. Secara umum telah dilaporkan bahwa fosfatase asam dominan pada tanah asam dan fosfatase alkalin pada tanah alkalin (Garcia dkk., 1993; Trasar-Cepeda dan Gil-Sotres, 1988; 1987). Dengan demikian, tanah tropika di Indonesia diduga didominasi oleh fosfatase asam karena kebanyakan tanah di Indonesia bersifat asam.

Fosfatase diyakini berpartisipasi dalam siklus P di dalam tanah, yaitu dalam transformasi P organik menjadi ortofosfat (H_2PO_4^-), spesies P nirorganik yang tersedia bagi tanaman. Reaksi umum proses transformasi tersebut dapat

digambarkan sebagai berikut (Tabatabai, 1982):



Fosfor organik, yang umumnya menumpuk di dalam tanah, berada di dalam bahan organik yang dapat berasal dari sisa tanaman, hewan, atau makhluk hidup lainnya. Bahan organik tersebut dapat mengalami proses mineralisasi sehingga melepaskan ion fosfat ke dalam larutan tanah. Reaksi pembebasan yang dilakukan oleh mikroorganisme tersebut disertai dengan meningkatnya produksi CO_2 yang diduga akan meningkatkan kelarutan P-tanah di dalam larutan tanah, tetapi reaksi ini umumnya berjalan relatif lambat. Namun demikian, proses yang paling umum terjadi di dalam perombakan P-organik menjadi P-nirorganik adalah reaksi katalisasi yang melibatkan enzim fosfatase yang dapat mempercepat reaksi transformasi tersebut. Prinsip dari reaksi ini adalah hidrolisis oleh enzim fosfatase yang dihasilkan oleh akar tanaman (umumnya tanaman tingkat tinggi) dan sejumlah mikroorganisme yang berperan dalam proses mineralisasi P-organik tersebut. Dengan demikian, enzim ini berperanan penting dalam menyediakan P untuk tanaman dari sumber organik.

Ulasan di atas menunjukkan bahwa fosfatase memiliki peranan yang jelas dalam menyediakan P dari sumber organik. Namun demikian, ketersediaan P di dalam tanah ditentukan juga oleh banyak faktor lain. Ion H_2PO_4^- dan HPO_4^{2-} tidak hanya tersedia bagi tanaman tetapi juga rentan terhadap reaksi penjerapan dan/atau pengendapan. Bila faktor lingkungan merangsang terjadinya proses penjerapan dan/atau pengendapan, akar tanaman harus mengerahkan energi lebih besar dalam menyerap ion ini. Ini menunjukkan bahwa pengelolaan fosfatase harus juga mencakup usaha untuk menciptakan ketersediaan H_2PO_4^- dan HPO_4^{2-} yang dihasilkan oleh fosfatase bagi tanaman.

FAKTOR PENGATUR AKTIVITAS FOSFATASE

Fosfatase diproduksi oleh mikroorganisme, binatang tanah, dan akar tanaman (Joner dkk., 1995; Sakai dan Tadano, 1993; Park dkk., 1992; Satchell dan Martin, 1984; Satchell dkk., 1984; Frankenberger, Jr. dan Dick, 1983). Beberapa peneliti melaporkan bahwa aktivitas fosfatase di dalam tanah yang dihuni oleh cacing tanah lebih tinggi daripada di dalam tanah kontrol (Satchell dan Martin, 1984; Ross dan Cairns, 1982). Aktivitas fosfatase juga lebih tinggi di tanah hutan daripada di tanah pertanian (Salam dkk., 1997a; Salam dkk., 1997b). Ada beberapa bukti yang menunjukkan bahwa aktivitas fosfatase asam dan alkalin lebih tinggi di daerah perakaran tanaman dan menurun ke arah tanah yang tidak dihuni oleh akar tanaman (Joner dan Jakobsen, 1995). Dengan demikian, akar tanaman dan mikroorganisme serta binatang tanah yang berkembang di daerah perakaran dan faktor yang mempengaruhi perkembangannya berpengaruh terhadap aktivitas fosfatase di dalam tanah. Faktor tersebut mencakup pH tanah, kadar air dan temperatur, bahan organik dan sistem olah tanah, status unsur hara, dan lain-lain. Terlepas dari pengaruhnya yang tidak langsung, masing-masing faktor tersebut dapat berpengaruh secara langsung terhadap aktivitas fosfatase tanah.

Fosfatase di dalam tanah berada dalam beberapa bentuk. Sarkar dkk. (1989) menyimpulkan bahwa fosfatase berada dalam bentuk larut atau terjerap. Fosfatase larut berada dalam keseimbangan dengan fosfatase terjerap dan merupakan bagian yang aktif dalam transformasi P organik menjadi P nirorganik. Sedangkan fosfatase terjerap berada dalam keadaan tidak aktif (Huang dkk., 1995), namun beberapa peneliti (Dick dan Tabatabai, 1987) juga melaporkan bahwa sebagian fosfatase terjerap juga berpartisipasi dalam proses

transformasi tersebut. Tetapi, sebagian peneliti sepakat bahwa sebagian besar fosfatase aktif adalah yang berada dalam bentuk larut di dalam air tanah (Huang dkk., 1995). Aktivitas fosfatase di dalam tanah kemungkinan besar ditentukan oleh fosfatase larut ini. Perubahan faktor lingkungan menyangkut pH tanah, kadar air, dan lain-lain, kemungkinan besar secara langsung mempengaruhi bentuk fosfatase larut tersebut. Baligar dkk. (1988) juga melaporkan bahwa aktivitas enzim fosfatase di dalam tanah berfluktuasi tergantung pada perubahan faktor biotik dan abiotik, termasuk di antaranya adalah sifat fisika dan kimia tanah, variasi musim, dan jenis vegetasi.

Perubahan pH

Reaksi tanah (pH) dapat berubah karena perubahan sifat tanah lain yang secara langsung atau tidak langsung dapat mempengaruhi perubahan pH tanah. Penyerapan kation oleh tanaman selalu diimbangi dengan ekskresi ion H^+ untuk menjaga keseimbangan muatan di dalam sistem tanah. Proses ini dapat menurunkan pH tanah, terutama di daerah perakaran (Tisdale dkk., 1985). Penambahan bahan asing berupa pupuk buatan atau kapur dapat mengubah pH tanah secara drastik (Trasar-Cepeda dkk., 1991). Berbagai proses lain seperti hujan asam, pembuangan limbah asam ke dalam tanah, dekomposisi bahan organik, pencucian ion basa, dan lain-lain secara langsung atau tidak langsung dapat juga mengubah keasaman tanah (Reddy dkk., 1991). Karena aktivitas fosfatase di dalam tanah sangat tergantung pada pH tanah, reaksi di atas dapat berpengaruh terhadap transformasi P organik dalam membebaskan ortofosfat yang dikatalisir oleh enzim fosfatase.

Ketergantungan aktivitas fosfatase pada pH telah dilaporkan oleh beberapa peneliti dalam bentuk kurva hubungan antara aktivitas fosfatase dengan pH larutan penyangga (Garcia dkk., 1993; Frankenberger dan Johanson, 1982). Secara umum,

Salam dkk.: Peranan enzim fosfatase dalam pengelolaan fosfor organik

aktivitas fosfatase meningkat dengan meningkatnya pH tanah sampai pada suatu pH optimum saat aktivitasnya mencapai maksimum kemudian menurun dengan meningkatnya pH tanah (Huang dkk., 1995; Sakai dan Tadano, 1993; Trasar-Cepeda dan Carballas, 1991; Frankenberger dan Johanson, 1982). Bentuk kurva tersebut ditentukan oleh jenis fosfatase yang lebih dominan di dalam tanah, dan tergantung pada diversitas jenis akar tanaman, binatang tanah, atau mikroorganisme yang menghasilkannya (Frankenberger dan Johanson, 1982). Untuk tanah yang didominasi oleh fosfatase alkalin, pH optimum berkisar pada nilai lebih besar daripada 7, dan yang didominasi oleh fosfatase asam pH optimum berkisar pada pH lebih rendah daripada 7. Beberapa laporan (Garcia dkk., 1993; Trasar-Cepeda dan Gil-Sotres, 1988; 1987) menunjukkan bahwa untuk tanah asam pH optimum umumnya berkisar pada $\text{pH} < 7$ dan pada tanah alkalin pada $\text{pH} > 7$, menunjukkan bahwa tanah asam selalu didominasi oleh fosfatase asam, sedangkan tanah alkalin oleh fosfatase alkalin. Beberapa peneliti melaporkan bahwa pH optimum rata-rata untuk fosfatase asam dan alkalin masing-masing adalah 6,5 dan 11,0 (Frankenberger dan Johanson, 1982). Juma dan Tabatabai (1978) bahkan melaporkan bahwa pH optimum fosfatase asam (*orthophosphoric monoester phosphohydrolase*) berada pada kisaran pH 4-6.

Ketergantungan aktivitas fosfatase tanah paling sedikit bersumber dari dua sebab. Sebab pertama adalah akibat pengaruh ion H^+ terhadap aktivitas mikroorganisme, akar tanaman, atau binatang tanah yang menghasilkan fosfatase. Sebab kedua adalah karena terganggunya struktur fosfatase secara kimiawi akibat reaksinya dengan H^+ atau OH^- . Kurva hubungan antara aktivitas fosfatase dan pH yang dilaporkan oleh beberapa peneliti jelas merupakan akibat proses kedua walaupun mekanismenya tidak jelas. Sedangkan perubahan pH akibat pengapuran dan hujan asam di

lapang dalam jangka waktu lebih lama lebih memberikan pengaruh tidak langsung dengan mempengaruhi perkembangan mikroorganisme, akar tanaman, dan binatang tanah.

Beberapa amatan dalam kaitannya dengan fenomena ini telah dilaporkan. Perubahan pH akibat penambahan kapur dilaporkan berkaitan dengan perubahan aktivitas fosfatase (Trasar-Cepeda dkk., 1991). Salam dkk. (1997b) mencatat telah terjadinya pergeseran pH optimum ke arah nilai pH lebih besar karena konversi hutan primer menjadi hutan sekunder atau lahan pertanian. Walaupun aktivitas maksimum berkaitan dengan pH optimum, tidak terlihat adanya korelasi antara pH optimum dan pH tanah. Reddy dkk. (1991) juga melaporkan bahwa aktivitas fosfatase asam secara linear dihambat oleh peningkatan keasaman tanah. Amatan tersebut menggambarkan dengan jelas bahwa aktivitas fosfatase sangat dipengaruhi oleh pH tanah. Kenyataan ini sangat penting artinya bagi pengelolaan fosfatase pada tanah tropika, yang biasanya dilola dengan kapur, pupuk fosfat, dan bahan lain, yang dapat secara nyata mengubah pH tanah. Perubahan dalam aktivitas fosfatase akibat penggunaan bahan ini di dalam tanah harus juga menjadi bahan pertimbangan dalam pengelolaan tanah tropika.

Kadar Air dan Temperatur Tanah

Kadar air dan temperatur tanah sangat berkaitan karena air dapat berfungsi sebagai penyangga temperatur tanah. Kedua faktor ini telah dilaporkan sangat berpengaruh terhadap aktivitas fosfatase, baik di lapang maupun dalam teknik pengukuran aktivitas enzim tersebut di laboratorium. Beberapa data telah dilaporkan dalam kaitannya dengan fenomena tersebut (Salam, 1997c; Neal, 1990; Harrison, 1983).

Klein dan Koths (1980) melaporkan bahwa aktivitas fosfatase lebih tinggi di tanah tanpa olah daripada di tanah dengan olah tanah konvensional

(dengan pembajakan dan penggaruan) berkaitan dengan lebih tingginya kadar air di tanah tanpa olah. Baligar dkk. (1988) melaporkan bahwa aktivitas fosfatase tanah atas dan tanah bawah yang disimpan dalam kadar air kapasitas lapang adalah 1,7 sampai 1,9 kali lebih tinggi daripada di dalam tanah kering udara. Aktivitas fosfatase juga ditemukan lebih tinggi di dalam tanah lembab dengan kadar air sampai dengan 120% (v/w) daripada di dalam tanah kering udara (Salam, 1997c). Salam (1997c) menginkubasikan tanah kering udara yang dilembabi dengan air dari 0 sampai 120% pada beberapa tingkat waktu inkubasi dari 1 sampai dengan 3 minggu. Hasil percobaan menunjukkan bahwa aktivitas fosfatase lebih tinggi di dalam tanah yang diinkubasi dengan air. Waktu inkubasi dari 1 sampai dengan 3 minggu secara umum tidak menyebabkan perbedaan aktivitas fosfatase, menunjukkan bahwa air sangat berperan dalam menentukan aktivitas fosfatase di dalam tanah.

Peranan air berkaitan dengan fungsinya sebagai media reaksi bagi fosfatase. Pada tanah kering udara, konsentrasi fosfatase di dalam larutan tanah relatif lebih tinggi, menyebabkan sebagian fosfatase terjepit dalam keadaan tidak aktif. Dengan penambahan air, sebagian fosfatase yang terjepit dibebaskan untuk memenuhi keseimbangan kimia, sehingga meningkatkan aktivitas fosfatase. Kemungkinan lain berkaitan dengan aktivitas mikroorganisme yang sangat tergantung pada kadar air. Mikroorganisme merupakan salah satu penghasil utama fosfatase. Dengan demikian kadar air berpengaruh terhadap aktivitas fosfatase secara tidak langsung.

Selain berpengaruh secara langsung terhadap perkembangan mikroorganisme, kadar air tanah juga dapat berpengaruh secara tidak langsung terhadap mikroorganisme melalui pengaturan temperatur. Tanah dengan kadar air rendah dapat mengalami peningkatan temperatur lebih cepat

daripada tanah dengan kadar air tinggi. Tanah dengan kadar air lebih tinggi dapat menjaga fluktuasi temperatur karena masukan panas dari sumber luar. Karena mikroorganisme pada umumnya sensitif terhadap perubahan temperatur, maka produksi fosfatase pada tanah berkadar air tinggi akan lebih stabil.

Temperatur tanah berpengaruh terhadap aktivitas fosfatase paling sedikit melalui dua mekanisme. Pertama, melalui pengaruh langsung temperatur terhadap mikroorganisme penghasil fosfatase. Secara umum, mikroorganisme berkembang lebih baik pada temperatur lebih tinggi sampai temperatur optimum tercapai, dan menurun dengan peningkatan temperatur di atas temperatur optimum. Tanggapan mikroorganisme terhadap perubahan temperatur dapat mencerminkan perubahan aktivitas fosfatase akibat perubahan temperatur.

Kedua, temperatur dapat berpengaruh langsung terhadap aktivitas fosfatase. Secara teoritik, kecepatan reaksi meningkat secara eksponensial dengan peningkatan temperatur; peningkatan temperatur sebesar 10 °C dapat melipatduakan kecepatan reaksi. Walaupun tidak seperti dalam sistem yang bersifat murni, telah ditunjukkan bahwa aktivitas fosfatase tanah meningkat dengan peningkatan temperatur dari -25 °C sampai +5 °C (Neal, 1990). Neal (1990) juga melaporkan tidak ditemuinya aktivitas fosfatase pada temperatur -30 °C di tanah tundra.

Status Unsur Hara Dalam Tanah

Salah satu unsur kimia yang telah banyak dilaporkan adalah pengaruh unsur logam berat (Salam dkk., 1997d; Joshi dkk., 1993; Sakai dan Tadano, 1993; Stott dkk., 1985; Dick dan Tabatabai, 1983; Stroo dan Jencks, 1982; Mathur dkk., 1980; Mathur dan Sanderson, 1980). Peneliti umumnya melaporkan bahwa unsur logam berat menekan aktivitas fosfatase di dalam tanah. Stott

Salam dkk.: Peranan enzim fosfatase dalam pengelolaan fosfor organik

dkk. (1985) melaporkan bahwa Hg(II), As (V), Mo(VI), dan W(VI) adalah penghambat pirofosfatase yang paling efektif; Cd(II), Cu(II), Fe(III), B(III), dan V(V) sedang; dan As(I), Cu(I), Mn(II), Ni(II), Pb(II), Sn(II), Zn(II), Al(III), As(III), Cr(III), Fe(III), Se(IV), dan Te(IV) rendah. Salam dkk. (1997d) juga melaporkan bahwa Pb menekan aktivitas fosfatase asam sampai dengan 46,5% pada tingkat penambahan 40 mg kg⁻¹ dan Cd menekan aktivitas enzim tersebut sebesar 43,5% pada tingkat penambahan 40 mg kg⁻¹. Namun demikian, penambahan Cu dan Fe dengan derajat yang sama tidak mempengaruhi aktivitas fosfatase pada tanah tersebut.

Seperti halnya pH, kadar air dan temperatur, status unsur hara dapat mempengaruhi aktivitas fosfatase paling sedikit melalui dua mekanisme dasar. Pertama adalah melalui pengaruh langsung unsur hara terhadap aktivitas fosfatase di dalam tanah, sehingga mengakibatkan fosfatase tidak aktif dalam perombakan P organik. Senyawa fosfatase di dalam tanah diduga dapat mengompleks logam berat (Tate III, 1987). Asosiasi unsur hara dengan molekul fosfatase mengakibatkan kemampuan fosfatase dalam merombak P organik menurun. Namun demikian, belum ada laporan berkaitan dengan fenomena pengomplekan seperti ini.

Mekanisme kedua berkaitan dengan interaksi antara logam berat dengan mikroorganisme, termasuk di antaranya mikroorganisme penghasil fosfatase (Hiroki, 1994; Huysman, 1994; Baath, 1989). Pada tingkat tertentu, logam berat bersifat toksik terhadap makhluk hidup. Hubungan ini dapat menerangkan bahwa pada konsentrasi tinggi logam berat dapat mengubah aktivitas mikroorganisme, dan karenanya mempengaruhi produksi fosfatase. Landmeyer dkk. (1993) melaporkan bahwa biomassa mikroorganisme menurun drastik pada tanah yang diperlakukan dengan logam berat Pb.

Polusi tanah tropika, khususnya tanah

Indonesia, belum banyak dilaporkan. Namun, proses industrialisasi, pembuangan limbah industri, dan penggunaan bahan berlogam berat yang cenderung meningkat dewasa ini mengisyaratkan bahwa tanah pertanian di Indonesia dapat tercemari oleh beberapa jenis logam berat. Salah satu contoh yang paling jelas adalah emisi Pb dari kendaraan bermotor, yang dapat mengendap di tanah pertanian yang dilalui oleh ruas jalan yang berlalu lintas padat. Penggunaan beberapa jenis pupuk fosfor, yang mengandung kontaminan Cd, dapat pula meningkatkan kandungan Cd tanah. Demikian pula penggunaan beberapa jenis pestisida dengan bahan aktif logam berat seperti Cu. Akumulasi demikian bersifat merugikan ditinjau dari pemanfaatan siklus P untuk menyediakan P di dalam sistem tanah, terutama dalam kaitannya dengan peranan fosfatase.

Beberapa peneliti juga melaporkan pengaruh penambahan pupuk P terhadap aktivitas fosfatase di dalam tanah. Sebagian besar peneliti melaporkan bahwa penambahan fosfat ke dalam tanah menurunkan aktivitas fosfatase (Fox dan Comerford, 1992; Pang dan Kolenko, 1986; Juma dan Tabatabai, 1977). Juma dan Tabatabai (1977) melaporkan bahwa tidak seperti NO₂⁻, NO₃⁻, Cl⁻, dan SO₄²⁻, ion fosfat menghambat aktivitas fosfatase tanah. Hal ini dapat dimengerti berkaitan dengan hukum aksi massa, sebab meningkatnya kelarutan ortofosfat di dalam larutan tanah akibat pelarutan pupuk P dapat mengakibatkan terhambatnya transformasi P organik menjadi P nirorganik.

Kandungan Bahan Organik dan Sistem Olah Tanah

Hubungan langsung antara aktivitas fosfatase dan C-organik atau kandungan bahan organik (kandungan bahan organik adalah sekitar 1,5-2 kali kandungan C-organik) dan N-total telah banyak dilaporkan (Martens dkk., 1992; Bonmati

dkk., 1991; Tate III dkk., 1991; Trasar-Cepeda dan Gil-Sotres, 1987; Harisson, 1983; Nannipieri dkk., 1980). Salam dkk. (1997b) melaporkan bahwa aktivitas fosfatase di dalam tanah menurun dengan urutan hutan primer, hutan sekunder, dan tanah pertanian, sejalan dengan penurunan bahan organik pada tanah tersebut. Sebagai contoh, aktivitas fosfatase asam (pH 6,5) di dalam tanah dari hutan primer, hutan sekunder, dan tanah pertanian adalah 371, 269 dan 185 $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ j}^{-1}$, sedangkan kandungan bahan organik pada tanah tersebut masing-masing adalah 12,1; 8,28; dan 3,16%. Tate III (1991) juga melaporkan bahwa aktivitas mikroorganisme dan fosfatase di Horizon O tanah yang kaya bahan organik adalah 2 sampai 25 kali lebih besar daripada di Horizon A yang memiliki kandungan bahan organik lebih rendah. Hubungan ini diduga berkaitan dengan peranan bahan organik sebagai sumber energi bagi mikroorganisme.

Tingginya aktivitas fosfatase di tanah hutan juga disebabkan oleh produksi fosfatase oleh akar tanaman dan binatang tanah, yang juga menghasilkan fosfatase. Namun demikian, hubungan langsung antara kandungan bahan organik dan aktivitas fosfatase juga dilaporkan di tanah pertanian (Salam, 1996). Ini menunjukkan bahwa pemeliharaan kandungan bahan organik perlu dilakukan untuk mempertahankan aktivitas fosfatase di dalam tanah.

Kandungan bahan organik berkaitan sangat erat dengan sistem pengolahan tanah yang diterapkan. Sistem olah tanah konvensional (dengan pembajakan dan penggaruan) pada umumnya menurunkan kandungan bahan organik secara cepat karena sistem ini mempercepat proses dekomposisi bahan organik. Sebaliknya, pengolahan tanah secara konservasi dapat mempertahankan kandungan bahan organik karena proses dekomposisi bahan organik di dalam sistem ini berjalan lebih lambat (Klein dan Koths, 1980). Selain itu, pengembalian beberapa bagian tanaman

juga dapat meningkatkan kandungan bahan organik. Klein dan Koths (1980) memperlihatkan bahwa aktivitas fosfatase di tanah dengan sistem olah tanah minimum atau konservasi lebih besar daripada di tanah dengan sistem olah tanah konvensional. Aktivitas fosfatase tidak hanya berkaitan positif dengan kandungan bahan organik, tetapi juga berkaitan positif dengan kadar air tanah yang lebih tinggi di tanah tanpa olah.

Sampai saat ini, masih sedikit data berkaitan dengan fenomena ini di tanah tropika. Namun, mengingat kondisi kelembaban dan temperatur yang rata-rata relatif tinggi sepanjang tahun, dekomposisi bahan organik di tanah tropika berjalan relatif cepat dan dapat menurunkan kandungan bahan organik dan aktivitas fosfatase secara lebih drastik. Oleh karena itu, usaha untuk meningkatkan aktivitas fosfatase di tanah tropika akan lebih rumit.

Jenis Vegetasi

Beberapa peneliti melaporkan perbedaan aktivitas fosfatase di tanah dengan vegetasi berbeda (Salam dkk., 1997a; 1997b, Salam, 1996; Duxbury dan Tate III, 1981). Duxbury dan Tate III (1981) mencatat bahwa aktivitas fosfatase asam meningkat nyata di tanah bervegetasi rerumputan. Salam dkk. (1997b) juga melaporkan bahwa konversi hutan primer dan sekunder menjadi lahan pertanian secara drastik menurunkan aktivitas fosfatase tanah. Jha dkk. (1992) juga melaporkan bahwa aktivitas fosfatase lebih tinggi di tanah hutan yang belum terganggu daripada di tanah hutan yang telah mengalami perubahan.

Perbedaan di atas berkaitan dengan peranan tanaman dalam pengaturan status unsur hara, pH, C-organik, kadar air, dan temperatur di dalam tanah dan populasi mikroba tanah, terutama di daerah perakaran. Tanaman, tergantung pada jenisnya, menyerap berbagai unsur hara dari daerah perakaran. Sebaliknya, tanaman juga

Salam dkk.: Peranan enzim fosfatase dalam pengelolaan fosfor organik

membebaskan ion OH^- , H^+ , asam organik, dan panas melalui sistem perakaran. Karena faktor ini sangat berpengaruh terhadap aktivitas fosfatase tanah, jenis vegetasi yang tumbuh di atas tanah dapat berpengaruh nyata terhadap aktivitas enzim ini.

Data terakhir yang diperoleh dari tanah tropika di Lampung Barat menunjukkan kecenderungan di atas. Aktivitas fosfatase di petak percobaan kopi yang juga ditumbuhi vegetasi alami memiliki aktivitas fosfatase yang nyata lebih tinggi daripada di petak percobaan kontrol, yang hanya ditumbuhi oleh tanaman kopi. Aktivitas fosfatase di petak percobaan yang ditumbuhi hanya oleh tanaman kopi dan gulma *Paspalum conjugatum* juga lebih tinggi daripada di petak kontrol (Salam, 1996).

Pengamatan lain (Salam dkk., 1997a) menunjukkan bahwa tanah di Gunung Batin, Lampung Tengah, yang ditanami singkong secara temerus memiliki aktivitas fosfatase lebih rendah daripada tanah yang sama namun masih bervegetasi hutan, dan terdapat kecenderungan bahwa tanah yang telah ditanami singkong dalam rentang waktu yang lebih panjang memiliki aktivitas fosfatase yang lebih rendah. Sebaliknya, sebagian tanah tersebut yang ditanami kedelai atau jagung memiliki aktivitas fosfatase yang lebih tinggi. Ini menunjukkan bahwa jenis vegetasi, terutama sistem perakarannya, sangat mempengaruhi aktivitas fosfatase di dalam tanah.

ANALISIS FOSFATASE TANAH

Prinsip utama yang umumnya digunakan dalam pengukuran fosfatase tanah adalah dengan mengukur produk perombakan suatu bahan kimia dalam satuan berat tanah dan kurun waktu tertentu. Dalam kaitannya dengan pengukuran ini, metode yang pertama kali dikembangkan oleh Tabatabai dkk. (Tabatabai, 1982) banyak digunakan oleh

peneliti. Dalam metode ini, 1 gram contoh tanah kering diperlakukan dengan 1 mL substrat *p*-nitrofenol fosfat (*p*-NPP) berkonsentrasi 0,025 M setelah aktivitas mikroorganisme, yang mungkin masih memproduksi fosfatase, dihentikan dengan penambahan 200 μl toluen. Contoh tanah diinkubasi pada temperatur 37 °C selama 1 jam setelah ditambah 4 mL Larutan Penyangga Termodifikasi (LPM) dengan pH sama dengan yang digunakan untuk melarutkan *p*-NPP (pH untuk fosfatase asam adalah 6,5 dan untuk fosfatase alkalin adalah 11). Reaksi perombakan *p*-NPP oleh fosfatase dihentikan dengan penambahan 4 mL NaOH setelah waktu inkubasi selesai. Sekitar 1 mL 0,5 M CaCl_2 ditambahkan untuk mengekstrak *p*-nitrofenol yang terjerap oleh tanah selama inkubasi. Warna kuning, yang menunjukkan konsentrasi *p*-nitrofenol, ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer pada λ 400 nm setelah penyaringan. Aktivitas fosfatase ditentukan dengan kurva kalibrasi yang dipersiapkan dengan menggunakan berbagai konsentrasi *p*-nitrofenol baku dengan teknik di atas.

Aktivitas fosfatase yang terukur sangat tergantung pada reaksi fosfatase dalam merombak *p*-NPP yang membebaskan *p*-nitrofenol. Salah satu faktor penentu dalam reaksi ini adalah konsentrasi substrat dan temperatur inkubasi. Konsentrasi substrat yang digunakan harus sedemikian rupa sehingga reaksi perombakan berjalan dengan kinetika "zero order". Telah disebut bahwa temperatur sangat berpengaruh terhadap kecepatan reaksi, sehingga pemilihan temperatur untuk inkubasi menjadi sangat penting dalam pengukuran, sebab temperatur 37°C misalnya akan menghasilkan pengukuran yang lebih tinggi daripada temperatur 30 °C atau temperatur yang lebih rendah.

Dalam berbagai laporan, walaupun menggunakan prinsip yang sama, berbagai modifikasi terhadap metode di atas dilakukan.

Sebagian peneliti menggunakan temperatur 30 °C, bukan 37 °C (Salam dkk., 1997b; Salam, 1996). Temperatur 37 °C digunakan diduga untuk menyimulasi kondisi temperatur optimum pada tubuh hewan. Tanah pada umumnya memiliki temperatur lebih rendah daripada 37 °C. Oleh karena itu beberapa peneliti menggunakan temperatur 30 °C, bukan 37 °C. Hasil pengukuran yang didapat pada temperatur 30 °C tentunya lebih rendah, namun beberapa peneliti menganggap bahwa nilai ini lebih mewakili.

Selain temperatur, peneliti juga menggunakan berbagai angka pH. Sebagian menggunakan pH 6,5 untuk penetapan fosfatase asam (Frankenberger dan Johanson, 1982). Sebagian menggunakan pH lebih rendah atau lebih tinggi, sesuai dengan pH alami dari tanah yang diukur (Pang dan Kolenko, 1986). Perbedaan penggunaan angka pH dalam pengukuran aktivitas fosfatase ini dengan jelas akan menimbulkan perbedaan hasil dan penafsirannya. Penggunaan pH 6,5 merupakan nilai rata-rata pH optimum, yaitu pH saat aktivitas fosfatase maksimum. Sedangkan pH tanah merupakan indikator aktivitas fosfatase di dalam tanah dalam keadaan pH lapang, yang umumnya tidak berhimpit dengan aktivitas maksimum (Salam dkk., 1997b).

Pemilihan nilai pH untuk penentuan aktivitas fosfatase sangat ditentukan oleh tujuan pengukuran. Pengukuran terhadap potensi fosfatase tanah mestinya dilakukan pada pH optimum, sedangkan pengukuran terhadap keadaan lapang harus dilakukan pada pH tanah. Namun demikian, penafsiran data berdasarkan perbedaan ini perlu dilakukan.

PENUTUP

Fosfatase adalah salah satu enzim tanah yang cukup penting ditinjau dari sudut pertanian. Pengetahuan tentang enzim ini, terutama yang berkaitan dengan berbagai faktor yang

mempengaruhinya, telah berkembang. Metode untuk mendeteksi aktivitas fosfatase juga telah berkembang. Namun demikian, penelitian dan kemungkinan pemanfaatannya dalam pengelolaan fosfor untuk tanaman di tanah tropika, khususnya di Indonesia, belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian dan pemanfaatannya di bidang pertanian perlu segera dimulai.

DAFTAR PUSTAKA

- Baath, E. 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). *Water Air Soil Pollut.* 47:335-379.
- Baligar, V.C., R.J. Wright, dan M.D. Smedley. 1988. Acid phosphatase activity in soils of the appalachian region. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52:1612-1616.
- Bonmati, M., B. Ceccanti, dan P. Nannipieri. 1991. Spatial variability of phosphatase, urease, protease, organic carbon and total nitrogen in soil. *Soil Biol. Biochem.* 23:391-396.
- Dick, W.A. dan M.A. Tabatabai. 1983. Activation of soil pyrophosphatase by metal ions. *Soil Biol. Biochem.* 15:359-363.
- Dick, W.A. dan M.A. Tabatabai. 1987. Kinetics and activities of phosphatase-clay complexes. *Soil Sci.* 14: 5-15.
- Duxbury, J.-M. dan R.L. Tate III. 1981. The effect of soil depth and crop cover on enzymatic activities in Pahokee muck. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45:322-328.
- Garcia, C., T. Hernadez, F. Costa, B. Ceccanti, dan G. Masciandaro. 1993. Kinetics of phosphatase activity in organic wastes. *Soil Biol. Biochem.* 25:561-565.
- Hiroki, M. 1994. Populations of Cd-tolerant microorganisms in soils polluted with heavy metals. *Soil Sci. Plant Nutr.* 40:515-524.
- Huysman, F., W. Verstraete, dan P.C. Brookes. 1994. Effect of manuring practices and

- increased copper concentrations on soil microbial populations. *Soil Biol. Biochem.* 26:103-110.
- Fox, T.R. dan N.B. Comerford. 1992. Rhizosphere phosphatase activity and phosphatase hydrolyzable organic phosphorus in two forested spodosols. *Soil Biol. Biochem.* 24: 579-583.
- Frankenberger, Jr., W.T. dan J.B. Johanson. 1982. Effect of pH on enzyme stability in soils. *Soil Biol. Biochem.* 14:433-437.
- Frankenberger, Jr., W.T. dan W.A. Dick. 1983. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activities indices in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49:945-951.
- Harisson, A.F. 1983. Relationship between intensity of phosphatase activity and physico-chemical properties in woodland soils. *Soil Biol. Biochem.* 15:93-99.
- Huang, Q., H. Shindo, dan T.B. Goh. 1995. Adsorption, activities, and kinetics of acid phosphatase as influenced by monmorillonite with different interlayer material. *Soil Sci.* 159:271-278.
- Jha, D.K., G.D. Sharma, dan R.R. Mishra. 1992. Soil microbial population numbers and enzyme activities in relation to altitude and forest degradation. *Soil Biol. Biochem.* 24:761-767.
- Joner, E.J. dan I. Jakobsen. 1995. Growth and extracellular mycorrhizal hyphae as influenced by soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 27:1153-1159.
- Joner, E.J., J. Magid, T.S. Gahoonia, dan I. Jakobsen. 1995. P depletion and activity of phosphatases in the rhizospheres of mycorrhizal and non-mycorrhizal cucumber (*Cucumis sativus* [L.]). *Soil Biol. Biochem.* 27:1145-1151.
- Joshi, S.R., G.D. Sharma, dan R.R. Mishra. 1993. Microbial enzyme activities related to litter decomposition near a highway in a subtropical forest of north east India. *Soil Biol. Biochem.* 25:1763-1770.
- Juma, N.G. dan M.A. Tabatabai. 1977. Effect of trace elements on phosphatase activity in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41:343-346.
- Juma, N.G. dan M.A. Tabatabai. 1978. Distribution of phosphomonoesterases in soils. *Soil Sci.* 126:101-108.
- Klein, T.M. dan J.S. Koths. 1980. Urease, protease, and acid phosphatase in soil continuously cropped to corn by conventional or no-tillage methods. *Soil Biol. Biochem.* 12:293-294.
- Landmeyer, J.E., P.M. Bradley, dan F.H. Chapelle. 1993. Influence of Pb on microbial activity in Pb-contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.* 10:1465-1466.
- Lindsay, W.L. 1979. *Chemical Equilibria in Soils*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Martens, D.A., J.B. Johanson, dan W.T. Frankenberger, Jr. 1992. Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues. *Soil Sci.* 153:53-61.
- Mathur, S.P., J.I. MacDougall, dan M. McGarth. 1980. Levels of activities of some carbohydrases, protease, lipase, and phosphatase in organic soils of differing copper content. *Soil Sci.* 129:376-385.
- Mathur, S.P. dan R.B. Sanderson. 1980. The partial inactivation of degradative soil enzymes by residual fertilizer copper in Histosols. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44:750-755.
- Nannipieri, P., B. Ceccanti, S. Cervelli, dan E. Matarase. 1980. Extraction of phosphatase, urease, protease, organic carbon, and nitrogen from soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44:1101-1016.
- Neal, J.L. 1990. Phosphatase enzyme activity at subzero temperatures in arctic tundra soils.

- Soil Biol. Biochem. 22:883-884.
- Pang, P.C.K. dan H. Kolenko. 1986. Phosphomonoesterase activity in forest soils. Soil Biol. Biochem. 18:35-40.
- Park, S.C., T.J. Smith dan M.S. Bisesi. 1992. Activity of phosphomonoesterase and phosphodiesterase from *Lumbriscus terrestris*. Soil Biol. Biochem. 24: 873-876.
- Reddy, G.B., R.A. Reinert, dan G. Eason. 1991. Enzymatic changes in the rhizosphere of loblolly pine exposed to ozone and acid rain. Soil Biol. Biochem. 23:1115-1119.
- Ross, D.J. dan A. Cairns. 1982. Effect of earthworms and ryegrass on respiratory and enzyme activities of soil. Soil Biol. Biochem. 14:583-587.
- Sakai, H. dan T. Tadano. 1993. Characteristics of response of acid phosphatase secreted by roots of several crops to various conditions in the growth media. Soil Sci. Plant Nutr. 39:437-444.
- Salam, A.K. 1996. Aktivitas enzim fosfatase pada lahan kopi berlereng dengan beberapa teknik pengendalian gulma. Pros. Konf. HIGI XIII:77-84.
- Salam, A.K., S. Yusnaini, dan A. Niswati. 1997a. Status kesuburan tanah dalam pertanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) di Gunung Batin Lampung Utara: 2. Aktivitas enzim tanah. J. Agrotropika 2(1): 42-47.
- Salam, A.K., A. Katayama, dan M. Kimura. 1997b. Activities of some soil enzymes in different land use systems after deforestation in hilly areas of West Lampung, South Sumatra, Indonesia. Soil Sci. Plant. Nutr. (Dalam pencetakan).
- Salam, A.K. 1997c. Aktivitas enzim fosfatase di dalam tanah dengan beberapa tingkat kelembaban dan waktu inkubasi (Dalam penyajian).
- Salam, A.K., A. Katayama, dan M. Kimura. 1997d. The activity of soil acid-phosphatase at elevated concentrations of heavy metals. J. Teknik Lingk. 3(1): 7-12.
- Sarkar, J.M., A. Leonowicz, dan J-M. Bollag. 1989. Immobilization of enzymes on clays and soils. Soil Biol. Biochem. 21:223-230.
- Satchell, J.E. dan K. Martin. 1984. Phosphatase activity in earthworm faeces. Soil Biol. Biochem. 21:191-194.
- Satchell, J.E., K. Martin, dan R.V. Khrisnamoorthy. 1984. Stimulation of microbial phosphatase production by earthworm activity. Soil Biol. Biochem. 16:195.
- Stott, D.E., W.A. Dick, dan M.A. Tabatabai. 1985. Inhibition of pyrophosphatase activity in soils by trace elements. Soil Sci. 139:112-117.
- Stroo, H.F. dan E.M. Jencks. 1982. Enzyme activity and respiration in mine soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 46:548-553.
- Tabatabai, M.A. 1982. Soil enzymes. Hlm. 913-917. Dalam A.L. Page, R.H. Miller, dan D.R. Keeney (ed.). Methods of Soil Analysis Part 2 Chemical and Microbiological Properties. Ed ke-2. SSSA Inc., Madison.
- Tate III, R.L. 1987. Soil Organic Matter Biological and Ecological Effects. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Tate III, R.L., R.W. Parmelee, J.G. Ehrenfeld, dan L. O'Reilly. 1991. Enzymatic and microbial interactions in response to pitch pine root growth. Soil Sci. Soc. Am. J. 55:998-1004.
- Tisdale, S.L., W.L. Nelson, dan J.D. Beaton. 1985. Soil Fertility and Fertilizers. Ed. ke-4. Macmillan Publ. Co., New York.
- Trasar-Cepeda, M.C. dan F. Gil-Sotres. 1987. Phosphatase activity in acid high organic matter soils in Galicia (NW Spain). Soil Biol. Biochem. 29:218-287.
- Trasar-Cepeda, M.C. dan F. Gil-Sotres. 1988. Kinetics of acid phosphatase activity in various soils of Galicia (NW Spain). Soil Biol. Biochem. 20:275-280.
- Trasar-Cepeda, M.C., T. Carballas, F. Gil-Sotres, dan E. de Blass. 1991. Liming and the phosphatase activity and mineralization of phosphorus in an andic soil. Soil Biol. Biochem. 23:209-215.