PERANAN KADAR AIR DAN WAKTU INKUBASI DALAM PENETAPAN AKTIVITAS ENZIM FOSFATASE DALAM TANAH

Abdul Kadir Salam[1]

ABSTRACT

Role of Water Content and Incubation Time in Measuring Phosphatase Activity in Soils (A.K. Salam): Activities of enzymes in soils are affected by soil moisture contents, thus water content of soil samples is very important in determination of soil enzymatic activities. This research was to evaluate the effects of water content and incubation time in measurement of phosphatase activity in soils. Soil samples were an Ultisol from Aichi Prefecture, Japan, and 4 different soils (Ultisol, Oxisol, Andisol, and Alfisol) from Lampung, Indonesia. The japanese soil sample was treated in laboratory with water at 0 to 120% (water-to-soil ratios 0 to 1.2) and incubated for the time ranging from 0 to 15 days before enzyme analysis while the indonesian soil samples were incubated at a water-to-soil ratio of 0.4 for 0 to 12 weeks. Activity of phosphatase in the japanese soil increased significantly with water-content and reached a maximum value at water-to-soil ratio of 0.4 and decreased at higher water contents. Incubation time increased the phosphatase activity showing the first order of kinetics.

Keywords: Incubation Time, Phosphatase Measurement, Soil Enzyme, Tropical Soils, Water Content

PENDAHULUAN

Enzim tanah memiliki peran penting dalam penyediaan unsur hara tanaman karena beberapa jenis enzim terlibat dalam berbagai siklus biologis unsur hara di dalam sistem tanah-tanaman (Tate III, 1987; Tabatabai, 1982). Misalnya, fosfatase berperanan penting dalam mempercepat produksi ortofosfat ($H_2PO_4^-$ dan HPO_4^{2-}) dari P-organik. Karena tanaman menyerap P tanah dalam bentuk ortofosfat maka keberadaan fosfatase di dalam tanah memiliki peranan penting dalam memasok unsur hara P asal bahan organik bagi tanaman. Oleh karena itu, penetapan aktivitas enzim ini harus dilakukan sedemikian rupa sehingga potensi yang terdapat di dalam tanah dapat diketahui dengan seksama.

Salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam penetapan aktivitas enzim adalah kadar air contoh tanah. Beberapa pakar tanah menggunakan contoh tanah kering dalam penetapan aktivitas enzim tanah (Tabatabai, 1982). Penggunaan contoh tanah kering memberikan keuntungan berupa lebih mudah dan lebih praktisnya penimbangan contoh tanah yang diperlukan. Selain itu, penyebaran substrat di dalam contoh tanah akan lebih mudah tercapai sehingga fosfatase akan menyebar lebih merata dalam substrat.

Namun demikian, pengeringan contoh tanah dapat mengakibatkan beberapa perubahan di dalam contoh tanah berkaitan dengan aktivitas enzim tanah. Beberapa peneliti memperlihatkan bahwa aktivitas enzim tanah lebih tinggi dalam tanah basah daripada dalam tanah kering (Baligar dkk., 1988; Klein dan Koths, 1980). Baligar dkk. (1988) memperlihatkan 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. Klein dan Koths (1980) juga menunjukkan bahwa aktivitas fosfatase lebih tinggi dalam tanah

[1] Staf pengajar Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Lampung Jl. Prof. Sumantri Brojonegororo No. 1 Bandar Lampung email salam@maiser.unila.ac.id

J. Tanah Trop. 6:129-134

tanpa olah daripada dalam tanah dengan olah konvensional (dengan pembajakan dan penggaruan), berkaitan erat dengan lebih tingginya kadar air tanah di dalam tanah tanpa olah. Dengan demikian, pengeringan contoh tanah dapat menurunkan aktivitas fosfatase yang terukur dalam analisis.

Dengan alasan tersebut di atas, beberapa peneliti menggunakan contoh tanah lembab untuk menetapkan aktivitas enzim (Salam dkk., 1998) dengan harapan aktivitas yang terukur akan mendekati keadaan di lapang. Namun demikian, pola pengaruh kadar air dan waktu inkubasinya sebelum penetapan enzim belum banyak dipelajari dan belum pernah dilakukan untuk tanah tropika Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh kadar air tanah dan waktu inkubasi terhadap aktivitas fosfatase di dalam contoh tanah kering.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan 5 jenis contoh tanah. Contoh tanah pertama adalah Ultisol dari Prefekture Aichi, Jepang, dan keempat tanah lainnya (Ultisol Tanjungan, Oxisol Gedongmeneng, Andisol Gisting, dan Alfisol Banjaragung) berasal dari Lampung, Indonesia. Setelah pengambilan (0~20 cm), contoh tanah dikeringudarakan seperlunya, dihaluskan, diayak tembus diameter 2 mm, dan diaduk rata. Beberapa sifat kimia dan fisika tanah tersebut disajikan pada Tabel 1.

Penelitian dilakukan dalam 3 tahap. Penelitian tahap pertama adalah untuk mengetahui pengaruh kadar air terhadap aktivitas fosfatase. Untuk melakukan penelitian ini sejumlah tabung berisi 1 g contoh tanah kering udara dipersiapkan. Masing-masing contoh tanah tersebut dibasahi dengan air suling sehingga tersusun perlakuan tanah dengan kadar air: 0, 20, 40, 60, 80, 100, dan 120% (dari berat kering contoh tanah) atau dengan nisbah air-tanah 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, dan 1.2. Setelah tabung ditutup untuk mengurangi evaporasi, seluruh contoh tanah diinkubasi selama 7 hari. Percobaan serupa dengan perlakuan yang sama juga dilakukan dengan waktu inkubasi 14 hari. Seluruh perlakuan dilakukan dengan tanah jepang dan diulang sebanyak 2 kali.

Penelitian tahap kedua ditujukan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim fosfatase di dalam contoh tanah kering udara yang telah dibasahi dengan air. Dalam percobaan ini, sejumlah tabung berisi 1 g contoh tanah kering udara dipersiapkan dan dibasahi dengan air sebanyak 40% (v/w). Setelah tabung ditutup

Tabel 1. Beberapa sifat kimia dan fisika tanah pecobaan.

Sifat Tanah	Jpn	Tjn	Gmg	Gsg	Bjg
pH (Air 1:2)	5.95	6.02	5.25	4.50	5.13
C-Organik (%)	1.29	1.44	2.06	1.54	1.84
N-Total (%)	0.12	0.12	0.13	0.24	0.17
Nisbah C/N	10.7	12.0	15.8	6.50	10.8
Pasir (%)	-	23.6	45.6	35.6	22.0
Debu (%)	-	29.6	19.6	22.2	21.2
Liat (%)	-	46.8	34.8	42.2	56.8

Keterangan: Jpn=Jepang, Tjn=Tanjungan, Gmg=Gedongmeneng, Gsg=Gisting, dan Bjg=Banjaragung; data diadaptasi dari Salam dkk. (1997a; 1997b; 1998)

rapat, setiap contoh tanah diinkubasi dengan rentang waktu 0~15 hari sebelum analisis enzim fosfatase dilakukan. Percobaan ini dilakukan dengan tanah jepang dan diulang sebanyak 2 kali.

Penelitian tahap ketiga menggunakan 4 jenis tanah dari Lampung. Sebanyak 100 g contoh tanah yang telah dibasahi dengan air sebanyak 40% (v/w) ditempatkan dalam kantong plastik tertutup dan diinkubasi selama 1, 2, 4, 8, dan 12 minggu. Analisis enzim dilakukan pada setiap akhir masa inkubasi. Percobaan diulang sebanyak 2 kali.

Analisis enzim fosfatase dilakukan dengan cara Tabatabai (Tabatabai, 1982), namun dengan temperatur penetapan berbeda, yaitu 30 °C. Ke dalam masing-masing tabung berisi 1 g contoh tanah yang telah diperlakukan dengan air suling tersebut di atas ditambahkan 200 µL toluen, 1 mL 0.025 M larutan *p*-nitrofenol fosfat (*p*-NPP) dan larutan penyangga termodifikasi dengan pH 6.5. Setelah diaduk rata, sistem tanah berisi substrat tersebut diinkubasi selama 1 jam pada T 30 °C. Pada akhir masa inkubasi, 4 mL 0.5 M NaOH dan 1 mL 0.5 M $CaCl_2$ ditambahkan. Setelah isi tabung diaduk dan dibiarkan beberapa saat, fase cairnya dipisahkan dengan kertas Whatman dan aktivitas enzim fosfatase di dalam tanah ditetapkan secara spektrofotometrik pada λ 400 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh kadar air terhadap aktivitas enzim fosfatase di dalam tanah jepang diperlihatkan pada Gambar 1. Aktivitas fosfatase dalam kedua jenis tanah tersebut meningkat dengan penambahan air sampai dengan sekitar 40% dan kembali menurun dengan meningkatnya kadar air tanah di atas 40%. Waktu inkubasi 14 hari mengakibatkan aktivitas fosfatase lebih tinggi daripada 7 hari, khususnya pada kadar air < 40% (Gambar 1-a).

Amatan ini menunjukkan bahwa tambahan air diperlukan untuk mengondisikan tanah kering udara agar enzim tanah yang berada dalam keadaan tidak aktif menjadi aktif kembali. Fenomena ini berkaitan dengan fungsi air sebagai medium untuk reaksi enzim tanah. Selain itu, hadirnya air juga memungkinkan terbebasnya sebagian enzim yang tejerap sehingga dapat kembali berpartisipasi dalam reaksi enzimatik yang dikatalisasi oleh enzim tersebut. Peningkatan populasi dan aktivitas mikroorganisme tanah penghasil fosfatase akibat meningkatnya kadar air tanah juga dimungkinkan dengan meningkatnya kadar air tanah.

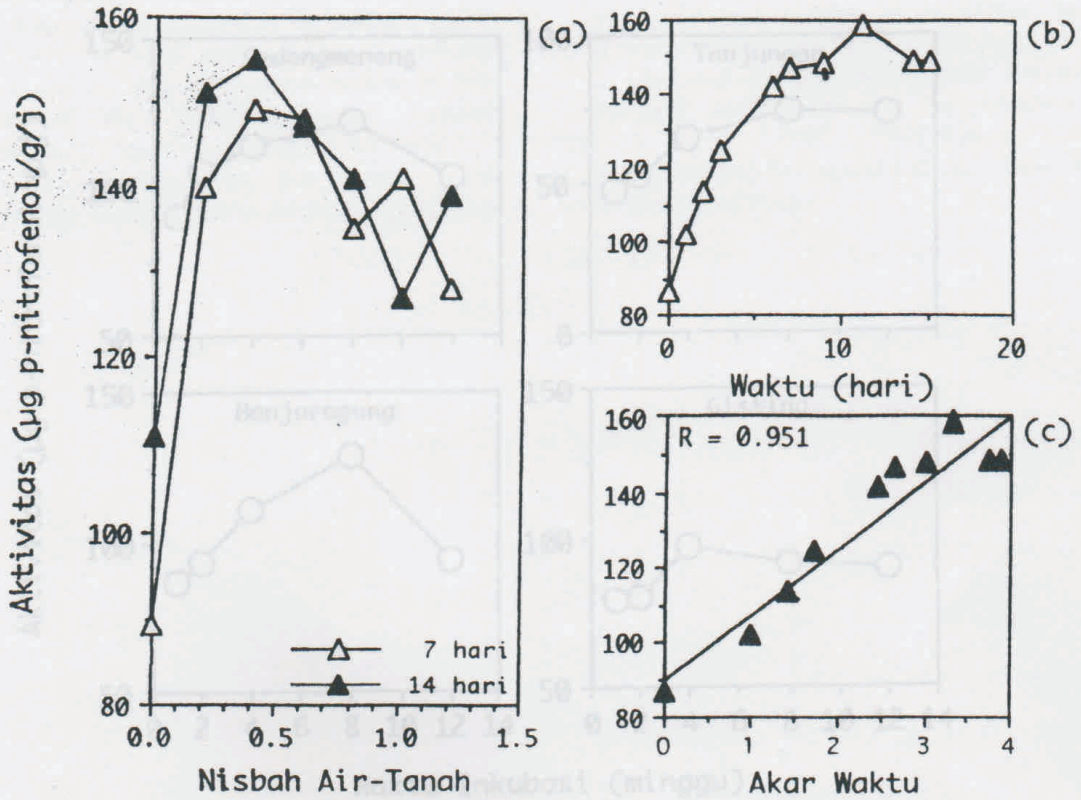
Lebih tingginya aktivitas fosfatase setelah 14 hari daripada setelah 7 hari inkubasi menunjukkan bahwa pengembalian aktivitas fosfatase memerlukan waktu cukup lama untuk mencapai kesetimbangan. Ini menunjukkan bahwa faktor air dan waktu inkubasi perlu diperhatikan dalam pengukuran aktivitas fosfatase. Perlunya memperhatikan waktu inkubasi dalam penentuan aktivitas fosfatase juga terlihat jelas pada Gambar 1-b dan 1-c, yang memperlihatkan ketergantungan aktivitas fosfatase di dalam tanah kering udara terhadap waktu setelah penambahan air dengan persamaan umum sebagai berikut:

$$A = c + (k)\,(t)^{1/2}$$

dengan A adalah aktivitas enzim fosfatase, c adalah tetapan, dan k adalah tetapan kecepatan. Pencapaian aktivitas fosfatase maksimum secara umum mengikuti kinetik derajat pertama (*first order kinetics*) dengan persamaan umum, yang merupakan turunan dari persamaan di atas, sebagai berikut:

$$\frac{\delta A}{\delta \tau} = 1/2\,(k)\,(t)^{-1/2}$$

Gambar 1-b juga menunjukkan bahwa aktivitas fosfatase secara umum terus meningkat dengan waktu inkubasi sampai 15 hari walau pun derajat peningkatannya mulai menurun pada minggu ke-2. Peningkatan aktivitas fosfatase di dalam tanah dengan berjalannya waktu inkubasi juga diperlihatkan



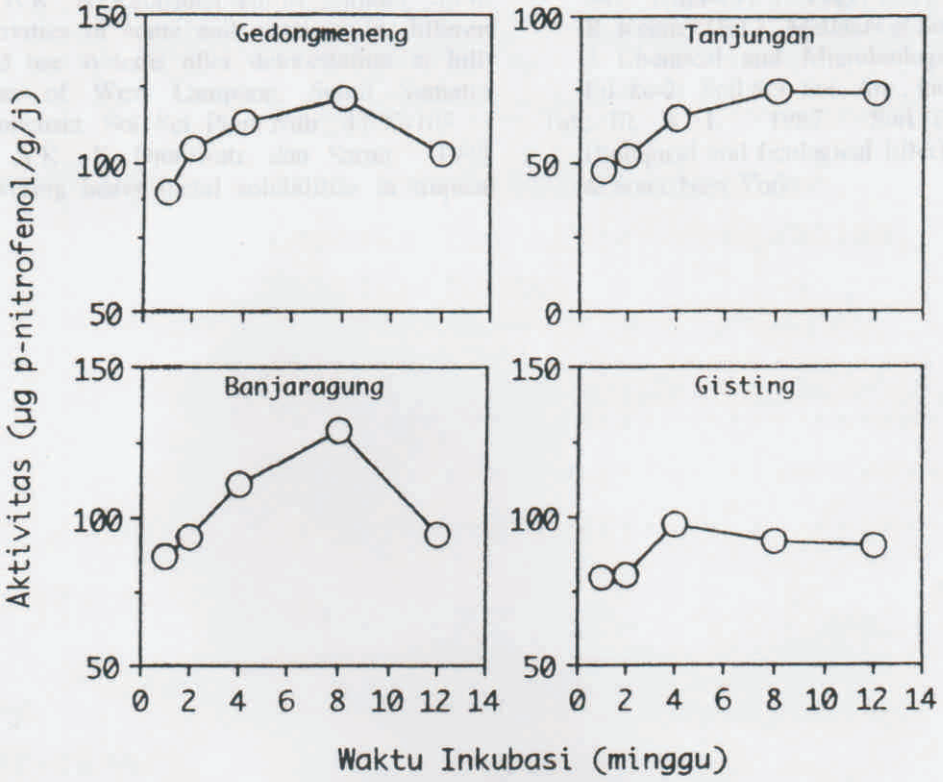
Gambar 1. Perubahan aktivitas fosfatase dalam contoh tanah kering udara dari Jepang akibat penambahan air (a = pengaruh nisbah air-tanah; b, c = pengaruh waktu inkubasi).

oleh keempat tanah dari Lampung (Gambar 2). Secara umum, aktivitas fosfatase mencapai nilai maksimum pada minggu ke-8.

Penurunan aktivitas fosfatase dengan meningkatnya kadar air tanah di atas 40% (Gambar 1-a) diduga disebabkan oleh faktor pengenceran; sehingga dengan tingginya kadar air tanah, diperlukan waktu lebih lama untuk mencapai kesetimbangan. Selain itu, kadar air yang tinggi dapat juga mengakibatkan difusi oksigen ke dalam tanah terhambat sehingga aktivitas mikroorganisme tanah dan produksi fosfatasenya menurun.

SIMPULAN

Pengukuran aktivitas fosfatase di dalam tanah kering akan mendekati nilai maksimum bila tanah telah diinkubasi pada kadar air sekitar 40% dengan waktu inkubasi 2 minggu atau lebih. Pengukuran aktivitas fosfatase sebaiknya dilakukan dengan contoh tanah lembab.



Gambar 2. Perubahan aktivitas fosfatase dalam contoh tanah kering udara dari Lampung selama 12 minggu.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih sebesarnya diucapkan kepada Sdri. Rachmalia dan Santi Fitria Sari yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan sebagian dari pekerjaan laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

Baligar, V.C., R.J. Wright, dan M.D. Smedley. 1988. Acid phosphatase activitty in soils of the appalachian region. Soil Sci. Soc. Am. J., 52:1612-1616.

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.

Salam, A.K., S. Djuniwati, Sarno, dan J.T. Harahap. 1997a. Kompos daun singkong meningkatkan kelarutan tembaga dan seng asal limbah industri di tanah Andisol dari Gisting Lampung. J. Tanah Trop., 4:123-131.

Salam, A.K., C. Marintias, Rusdianto, Sunarto, S. Djuniwati, H. Novpriansyah, dan J.T. Harahap.

1997b. Perubahan fraksi labil tembaga asal limbah industri dalam beberapa jenis tanah tropika akibat perlakuan kapur dan kompos daun singkong. J. Tanah Trop., 5:11-20.

Salam, A.K., A. Katayama dan M. Kimura. 1998. Activities of some soil enzymes in different land use systems after deforestation in hilly areas of West Lampung, South Sumatra, Indonensia. Soil Sci. Plant Nutr., 44:93-103.

Salam, A.K., S. Djuniwati, dan Sarno. 1998. Lowering heavy metal solubilities in tropical soils by lime and cassava-leaf compost additions. Proc. Environ. Technol. Manag. Sem., (Dalam Percetakan).

Tabaitabai, M. A. 1982. Soil enzymes. Hlm.903-947. *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. Soil Sci. Soc. Am., Inc., Madison.

Tate III, R. L. 1987. Soil Organic Matter Biological and Ecological Effects. John Wiley & Sons, New York.