



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS MULAWARMAN**



**PENUNTUN PRAKTIKUM  
BIOLOGI DAN  
KESEHATAN TANAH**

KODE MK. 220301653P023

**DISUSUN OLEH :**

Dr. Rabiatul Jannah, S.P., M.P

Ir. H. Arham, M.P

Roro Kesumaningwati, S.P., M.Sc

Dr. Nurul Puspita Palupi, S.P.,M.Si

Titin Eka Setianingsih, S.P.,M.P

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

## LEMBAR PENGESAHAN

Telah disetujui dan disahkan sebagai panduan praktikum dalam

Mata Kuliah **Biologi dan Kesehatan Tanah**

Panduan praktikum ini telah melalui proses verifikasi dan dinyatakan layak digunakan dalam pelaksanaan kegiatan praktikum pada Program Studi Agoekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman.

Samarinda, 24 September 2025

Menyetujui

Koordinator Program Studi

Koordinator Praktikum

Kadis Mujiono, SP., M.Sc., Ph.D.  
NIP. 19810323 200604 1 002

Dr. Rabiatul Jannah, S.P., M,P  
NIP. 197406092002122001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Pertanian

Dr. Ir. H. Fahrunsyah, M.P.  
NIP. 19671108 199203 1 002

## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga Modul Praktikum Biologi Tanah & Kesehatan Tanah ini dapat diselesaikan. Modul ini disusun sebagai panduan bagi mahasiswa Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman dalam melaksanakan praktikum yang bertujuan untuk memahami peran organisme tanah dan indikator kesehatan tanah, serta keterkaitannya dengan pengelolaan lahan berkelanjutan.

Praktikum ini memuat sepuluh ACARA yang meliputi pengambilan sampel tanah, analisis respirasi tanah, pengukuran aktivitas enzim, identifikasi fauna tanah, hingga penilaian kesehatan tanah secara komposit. Setiap ACARA dilengkapi dengan Standar Operasional Prosedur (SOP) dan blanko data untuk memudahkan pencatatan hasil.

Penyusunan modul ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak, baik dari dosen, laboran, maupun mahasiswa yang telah memberikan masukan dan bantuan selama proses penyusunan. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya.

Penulis menyadari bahwa modul ini masih memiliki keterbatasan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi penyempurnaan di masa mendatang.

Semoga modul ini dapat bermanfaat bagi mahasiswa, dosen, serta pihak-pihak yang berkepentingan dalam upaya peningkatan pengetahuan dan keterampilan di bidang biologi tanah dan kesehatan tanah.

Samarinda, September 2025

Tim Penyusun

## DAFTAR ISI

|  |     |
|--|-----|
| LEMBAR PENGESAHAN .....                                      | ii  |
| KATA PENGANTAR.....  | iii |
| DAFTAR ISI .....   | iv  |
| TATA TERTIB PRAKTIKUM.....                                   | vi  |
| ACARA 1. PENGAMBILAN SAMPEL TANAH .....                      | 1   |
| 1.1.    Landasan Teori.....                                  | 1   |
| 1.2.    Tujuan Praktikum.....                                | 4   |
| 1.3.    Alat dan Bahan.....                                  | 4   |
| 1.4.    Prosedur Praktikum .....                             | 4   |
| 1.5.    Referensi .....                                      | 6   |
| ACARA 2. ANALISIS C-ORGANIK DAN N-TOTAL.....                 | 7   |
| 2.1.    Landasan Teori.....                                  | 7   |
| 2.2.    Tujuan Praktikum.....                                | 9   |
| 2.3.    Bahan dan Alat.....                                  | 9   |
| 2.4.    Prosedur Praktikum .....                             | 9   |
| 2.5.    Referensi .....                                      | 10  |
| ACARA 3. PENGAMATAN RHIZOBIUM PADA TANAMAN LEGUMINOSA .....  | 11  |
| 3.1.    Landasan Teori.....                                  | 11  |
| 3.2.    Tujuan Praktikum.....                                | 11  |
| 3.3.    Alat dan bahan.....                                  | 11  |
| 3.4.    Prosedur Praktikum .....                             | 12  |
| 3.5.    Referensi .....                                      | 12  |
| ACARA 4. PERHITUNGAN TOTAL SPORA MIKORIZA.....               | 13  |
| 4.1.    Landasan Teori.....                                  | 13  |
| 4.2.    Tujuan Praktikum.....                                | 17  |
| 4.3.    Alat dan Bahan.....                                  | 17  |
| 4.4.    Prosedur Kerja.....                                  | 19  |
| 4.5.    Referensi .....                                      | 20  |
| ACARA 5. PERHITUNGAN PERSEN INFEKSI MIKRORIZA PADA AKAR..... | 21  |
| 5.1.    Pendahuluan.....                                     | 21  |
| 5.2.    Tujuan .....   | 22  |

|  |                          |    |
|--|--------------------------|----|
| 5.3.   | Alat dan Bahan.....      | 23 |
| 5.4.   | Prosedur Praktikum ..... | 23 |
| 5.5.   | Referensi .....          | 24 |
| ACARA 6. ISOLASI BAKTERI DARI TANAH MENGGUNAKAN MEDIA NA ..... |                          | 25 |
| 6.1.   | Landasan Teori.....      | 25 |
| 6.2.   | Tujuan .....             | 26 |
| 6.3.   | Alat dan Bahan.....      | 26 |
| 6.4.   | Prosedur Praktikum ..... | 26 |
| 6.5.   | Referensi .....          | 29 |
| ACARA 7. AKTIVITAS ENZIM.....                                  |                          | 30 |
| 7.1.   | Pendahuluan.....         | 30 |
| 7.2.   | Tujuan .....             | 32 |
| 7.3.   | Alat dan Bahan.....      | 32 |
| 7.4.   | Prosedur Praktikum ..... | 32 |
| 7.5.   | Referensi .....          | 34 |

## **TATA TERTIB PRAKTIKUM**

Tata tertib Praktikum disesuaikan dengan tata tertib yang berlaku di setiap laboratorium ataupun tata tertib yang ditetapkan bersama oleh tim pengampu praktikum untuk kegiatan praktikum mata kuliah. Berikut adalah contoh tata tertib praktikum pada mata kuliah Biologi dan Kesehatan Tanah , dan telah disesuaikan dengan tata tertib yang berlaku pada Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman.

### **1. Praktikum**

- a) Praktikum Biologi dan Kesehatan Tanah wajib diikuti oleh semua mahasiswa yang mengambil mata kuliah Biologi dan Kesehatan Tanah .
- b) Kelengkapan praktikum seperti:
  - Praktikan wajib mengenakan jas praktikum selama mengikuti praktikum
  - Praktikan wajib membawa buku penuntun praktikum
  - Praktikan hanya diperbolehkan menggunakan alat komunikasi atas seizin asisten lab.
  - Praktikan dihimbau tidak membawa barang berharga. Setiap kehilangan dan kerusakan barang pribadi sepenuhnya menjadi tanggung jawab pemilik barang.
- c) Penilaian praktikum terdiri atas penilaian mingguan, serta penilaian laporan akhir.
- d) Pelaksanaan praktikum terdiri dari keaktifan praktikan dalam melaksanakan praktikum (keterampilan, kerjasama, dan kecekatan).

### **2. Presensi**

- a) Praktikan wajib hadir pada semua percobaan yang dilaksanakan dalam rangkaian praktikum, jika praktikan tidak mengikuti salah satu dari percobaan praktikum maka praktikan dianggap tidak lulus praktikum.
- b) Praktikan wajib datang 5 menit sebelum praktikum dimulai, sehingga praktikum bisa terlaksana tepat waktu.
- c) Keterlambatan praktikan lebih dari 15 menit dari jadwal praktikum tanpa alasan yang jelas mengakibatkan mahasiswa yang bersangkutan tidak diperkenankan mengikuti seluruh rangkaian praktikum hari itu.

### **3. Izin**

- a) Praktikan diperbolehkan meninggalkan ruang praktikum atas seizin asisten instruktur dalam keadaan tertentu (darurat) dapat tidak diberlakukan dengan konfirmasi asisten praktikum.

- b) Izin ketidakhadiran praktikum akan diterima bila praktikan mencantumkan surat izin formal dari kaprodi/dekan/rektor atau surat keterangan sakit dari dokter.
- c) Setiap izin ketidakhadiran wajib diinformasikan kepada asisten praktikum paling lambat 1 hari (24 jam) sebelum praktikum untuk yang mendapat ijin formal, sedangkan untuk Surat keterangan sakit diinformasikan paling lambat 1 hari (24 jam) setelah praktikum.
- d) Keterlambatan pemberian surat izin atau surat keterangan sakit dikenakan sanksi praktikan dianggap tidak mengikuti praktikum.
- e) Jumlah kehadiran mahasiswa untuk kegiatan praktikum adalah wajib 100 %, apabila <100% tidak lulus dalam praktikum Bioteknologi.

#### **4. Peralatan Praktikum**

- a) Praktikan wajib menjaga dan ikut memelihara alat dan bahan praktikum sesuai dengan Standar Operasional Penggunaan.
- b) Praktikan wajib mengisi buku kerusakan alat untuk setiap kerusakan peralatan yang ditimbulkan dengan diketahui asisten praktikum.
- c) Penanggung jawab kerusakan adalah seluruh kelompok, wajib mengganti peralatan praktikum melalui keputusan yang dibuat dan disepakati bersama antara praktikan, asisten instruktur, petugas lab dan kepala lab.

#### **5. Data pengamatan praktikum**

- a) Semua data dari praktikum harus dicatat dan disimpan buat laporan akhir praktikum yang akan dikumpul sebelum ujian akhir semester.

#### **6. Laporan praktikum**

- b) Setiap kelompok membuat laporan akhir diketik pada kertas A4, format text Times New Roman, ukuran huruf 12 pt dan disampul dengan warna sampul hijau dan dijilid rapi.
- c) Susunan praktikum meliputi
  1. Cover/sampul laporan, dicantumkan kelompok dan identitas praktikan anggota kelompok (nama, NIM, prodi)
  2. Isi laporan (harus sesuai dengan format seperti yang disajikan pada lampiran)

Tata tertib ini dibuat untuk menciptakan suasana praktikum yang aman, tertib, dan kondusif, sehingga tujuan pembelajaran dapat tercapai secara optimal.

## ACARA 1. PENGAMBILAN SAMPEL TANAH

### 1.1. Landasan Teori

Biologi tanah mempelajari keberadaan, keragaman, dan aktivitas organisme yang hidup di dalam tanah serta perannya dalam menjaga kesehatan ekosistem tanah. Kesehatan tanah sendiri mencerminkan kemampuan tanah untuk berfungsi secara berkelanjutan, mendukung produktivitas tanaman, menjaga kualitas lingkungan, dan memelihara keanekaragaman hayati. Salah satu langkah awal dalam mempelajari biologi dan kesehatan tanah adalah memperoleh sampel tanah yang akurat dan representatif.

Pengambilan sampel tanah merupakan tahap krusial karena kualitas data analisis sangat ditentukan oleh kualitas sampel yang dikumpulkan. Kesalahan dalam teknik pengambilan, penanganan, atau penyimpanan sampel dapat mengubah sifat fisik, kimia, dan biologis tanah, sehingga hasil analisis menjadi bias dan tidak menggambarkan kondisi lapangan yang sebenarnya.

Dalam konteks analisis biologi tanah, sampel harus diambil dengan memperhatikan sterilitas peralatan, waktu pengambilan, serta cara penyimpanan untuk menjaga viabilitas mikroorganisme dan menghindari kontaminasi. Faktor seperti kedalaman pengambilan, kelembaban, suhu, serta keberadaan bahan organik juga harus dicatat dengan teliti.

Pengambilan sampel tanah adalah proses pengumpulan sebagian tanah dari suatu lahan untuk dianalisis sifat fisik, kimia, dan biologisnya. Dalam biologi tanah, pengambilan harus dilakukan sedemikian rupa sehingga kondisi tanah dan organisme di dalamnya tidak berubah secara signifikan sebelum dianalisis. Prinsip-prinsip pengambilan sampel tanah:

- a. Representatif : sampel mencerminkan kondisi rata-rata lokasi pengambilan.
- b. Bersih dari kontaminasi : alat dan wadah harus steril untuk mencegah masuknya organisme atau bahan asing.
- c. Pelabelan jelas : memuat informasi kode sampel, lokasi, kedalaman, tanggal, dan nama pengambil sampel.
- d. Pengawetan tepat : beberapa sampel harus segera dianalisis atau disimpan pada suhu rendah untuk menjaga aktivitas biologis.

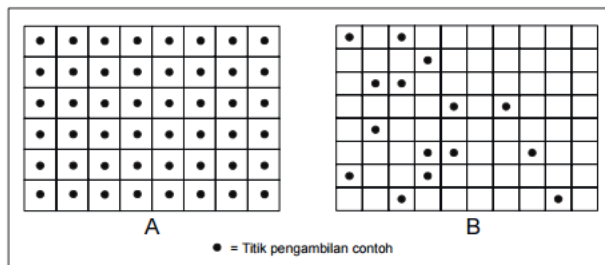
Jenis sampel tanah:

- a. Sampel terganggu (disturbed sample) merupakan struktur tanah berubah yang digunakan untuk analisis fisik dan kimia umum.
- b. Sampel tak terganggu (undisturbed sample) merupakan diambil dengan mempertahankan struktur asli untuk digunakan untuk analisis biologi, respirasi tanah, dan studi struktur tanah.

Pengambilan sampel tanah :

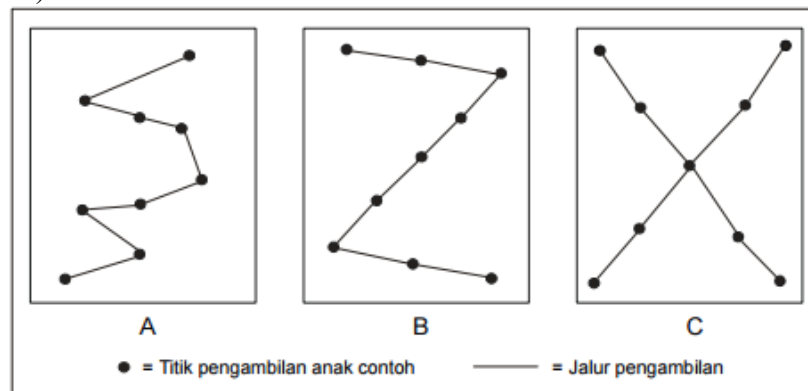
Pengambilan contoh tanah dapat dilakukan dengan cara: (i) sistematis; (ii) random/acak; (iii) komposit; dan (iv) bebas. Pada pengambilan contoh cara sistematis, contoh tanah individu diambil di tiap areal kecil, sedangkan pada cara random hanya dilakukan di beberapa areal kecil yang dipilih secara

acak (**Gambar 1**). Cara random lebih menghemat waktu dan biaya asalkan banyaknya contoh individu yang diambil memperhatikan heterogenitas areal lahan.



Gambar 1. Pengambilan contoh tanah cara sistematis (A) dan cara random/ acak (B)

Pengambilan contoh tanah komposit ditujukan untuk mendapatkan gambaran umum (unbiased estimation) berbagai atribut mikroba di suatu areal atau petak tanah yang relatif homogen. Contoh tanah komposit merupakan campuran dari beberapa contoh yang diambil dari beberapa tempat pada areal atau petak tanah yg sama secara acak, zigzak, atau diagonal. Tiap areal atau petak tanah diwakili oleh satu contoh tanah komposit. Banyaknya jumlah anak contoh disesuaikan dengan luas areal atau petak tanah. Aturan umum adalah semakin banyak jumlah anak contoh, semakin baik contoh komposit yang dihasilkan (**Gambar 2**).



Gambar 2. Titik pengambilan anak contoh untuk contoh komposit dengan

Pengambilan contoh tanah cara bebas hanya ditujukan untuk keperluan isolasi mikroba (contoh tanah sebagai sumber mikroba). Lokasi atau titik pengambilan contoh dipilih secara bebas sesuai keinginan dan pertimbangan pengguna. Data yang dihasilkan tidak bisa dipakai untuk menggambarkan kondisi umum wilayah di sekitarnya.

Pengambilan contoh tanah rizosfir :

Rizosfir merupakan porsi tanah yang langsung dipengaruhi oleh akar tanaman, sedangkan rizoplan adalah permukaan akar dengan tanah yang melekat kuat pada permukaannya. Batas rizosfir dimulai dari permukaan akar sampai ke batas dimana akar tidak lagi berpengaruh langsung terhadap kehidupan mikroba (bisa mencapai 5 mm). Selanjtnya dengan menentukan tajuk atau tanaman yang akan dilakukan pengamatan. Menggali tanah di bawah tajuk di sekitar perakaran secara perlahan-lahan. Kemudian pisahkan akar dari bongkahan tanah besar dan membiarkan sebanyak mungkin tanah yang melekat pada akar (**Gambar 3**). Pengambilan contoh rhizosfer/rhizoplan kedua dari jenis tanaman yang berbeda dilakukan setelah semua peralatan bersih dan steril.



Gambar 3. Akar beserta tanah yang melekat kuat diambil sebagai contoh tanah rhizosfer/rhizoplan (CR)  
Kedalaman pengambilan dan ukuran contoh

Kedalaman pengambilan sampel tanah :

Kedalaman pengambilan contoh tanah disesuaikan dengan jenis penggunaan tanah. Pengambilan contoh pada tanah-tanah pertanian dilakukan pada lapisan olah atau pada kedalaman 20 cm. Untuk tanah padang rumput dan semak/belukar contoh tanah diambil pada lapisan tanah padat akar atau pada kedalaman 10 cm. Pengambilan contoh dari suatu penampang tanah (profil tanah) dilakukan di setiap lapisan horizon tanah. Ukuran (berat) tiap contoh tanah yang diperlukan tergantung pada banyaknya jenis analisis. Secara umum, 100 g tanah per contoh sudah cukup untuk analisis mikroba.

Penyimpanan Contoh Tanah ;

Pada dasarnya, penyimpanan contoh tanah untuk analisis mikroba tidak dianjurkan. Namun apabila jumlah contoh terlalu banyak dan tidak memungkinkan untuk segera memproses dan menganalisisnya, maka sebagian contoh dapat disimpan pada kondisi yang sesedikit mungkin terjadinya perubahan. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa tekstur tanah, kandungan air awal, dan suhu penyimpanan berpengaruh terhadap parameter biomassa dan aktivitas mikroba (Foster 1995). Suhu

terbaik penyimpanan contoh tanah adalah 2–4 °C, yakni untuk penyimpanan sampai 4 minggu. Suhu - 20°C biasanya digunakan untuk penyimpanan contoh tanah dalam jangka panjang.

Praktikum ini bertujuan agar mahasiswa dengan keterampilan dasar pengambilan sampel tanah yang benar dan sesuai prosedur ilmiah, sehingga mampu menghasilkan data yang valid dan dapat dipertanggungjawabkan, baik untuk penelitian biologi tanah, pemantauan kesehatan tanah, maupun pengelolaan lahan secara berkelanjutan.

## **1.2. Tujuan Praktikum**

1. Memahami prinsip dasar pengambilan sampel tanah untuk analisis biologi dan kesehatan tanah.
2. Mempelajari teknik pengambilan sampel tanah yang representatif dari suatu lahan.
3. Mengetahui faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas sampel tanah.
4. Melatih keterampilan dokumentasi lapangan dan pelabelan sampel.

## **1.3. Alat dan Bahan**

1. Cangkul atau auger tanah (bor tanah)
2. Pisau tanah
3. Ember plastik bersih
4. Kantong plastik tebal steril / kantong kertas untuk biologi tanah
5. Botol plastik/kaca steril (jika diperlukan)
6. Spidol permanen / label tahan air
7. GPS / kompas / aplikasi peta di HP
8. Sarung tangan lateks
9. Cooler box dengan es batu (untuk sampel biologi)
10. Formulir pencatatan data lapangan

## **1.4. Prosedur Praktikum**

### **A. Persiapan Kegiatan mahasiswa**

1. Mahasiswa dibagi menjadi 4 kelompok
2. Masing masing kelompok mengambil sampel tanah dengan penggunaan lahan berbeda
3. Pengambilan contoh tanah sesuai dengan prosedur
4. Sampel / contoh tanah dilakukan analisis biologi tanah

### **B. Persiapan**

1. Tentukan titik pengambilan sampel sesuai metode (grid, zig-zag, transek, dll.).
2. Pastikan semua peralatan bersih dan steril.
3. Gunakan sarung tangan untuk mencegah kontaminasi.

### **C. Pengambilan Sampel tanah non-rhizosfer (tanah bulk)**

1. Bersihkan permukaan tanah dari seresah atau batuan.
2. Gali atau bor tanah sesuai kedalaman (umumnya 0–20 cm untuk topsoil).
3. Ambil tanah dari beberapa titik (5–10 titik) di area homogen, lalu homogenkan.

4. Ambil ± 500 g tanah homogen untuk setiap sampel.
5. Masukkan ke wadah/kantong steril, beri label lengkap.

#### D. Pengambilan Sampel Tanah Rizosfir

1. Catat 3 keadaan umum fisik lingkungan di lokasi pengambilan sample, antara lain: jenis penggunaan tanah, vegetasi atau tanaman yang diusahakan, riwayat penggunaan tanah (bila tersedia), lereng, ketinggian tempat, dan keadaan permukaan tanah (berbatu, dan lain lain).
2. Ambil 3 ulangan sampel dalam satu lokasi plot berukuran 20x20m secara diagonal/zigzag
3. Tetapkan tanaman yang akan digali dan bersihkan permukaan tanah di bawah tajuk dari daun atau serasah.
4. Gali tanah di bawah tajuk di sekitar perakaran secara perlahan-lahan
5. dengan sendok tanah atau spatula. Letakkan diatas nampan, sehingga tanah tertampung dan dapat diambil sebagai sampel tanah.
6. Kemudian pisahkan akar dari bongkahan tanah besar dan membiarkan sebanyak mungkin tanah yang melekat pada akar.
7. Potong bagian tajuk tanaman di dekat pangkal akar (Gambar 3), kemudian masukkan akar beserta tanah yang melekat ke dalam plastik, beri sedikit air, dan selanjutnya masukkan ke dalam coolbox.
8. Sampel disimpan di suhu rendah di Lab. Biologi Tanah

#### E. Penanganan Setelah Pengambilan

1. Simpan sampel dalam cooler box, hindari sinar matahari langsung.
2. Segera bawa ke laboratorium (maksimal 24 jam untuk analisis biologi).
3. Catat semua data lapangan pada formulir.

#### F. Format Pencatatan Data Lapangan

| Kode Sampel | Lokasi (Koordinat GPS) | Kedalaman (cm) | Tanggal | Makroorganisme | Penggunaan Lahan | Komoditas | Catatan Lapangan |
|-------------|------------------------|----------------|---------|----------------|------------------|-----------|------------------|
| A           |                        |                |         |                |                  |           |                  |
| B           |                        |                |         |                |                  |           |                  |

#### G. Lembar Kerja Mahasiswa

1. Pengambilan sampel tanah dilakukan pada lokasi, antara lain (berikan kode yang disepakati bersama)?
2. Keadaan umum fisik lingkungan di lokasi pengambilan sample, antara lain:(tekstur tanah, sumber P, Curah hujan, elevasi, pH tanah, ketinggian tempat, dll.. )
3. Deskripsikan tanaman saat pengambilan sampel (umur, tumpangsari/tidak, sertakan dokumentasi).

Evaluasi :

1. Mengapa sampel tanah untuk analisis biologi harus segera dianalisis atau disimpan pada suhu rendah?
2. Jelaskan perbedaan antara sampel terganggu dan tak terganggu beserta contohnya.
3. Sebutkan langkah-langkah untuk memastikan sampel tanah yang diambil representatif.
4. Apa akibat yang mungkin timbul jika sampel tanah terkontaminasi selama pengambilan?

### **1.5. Referensi**

Saraswati R., Husen E., Simanungkalit R.D.M . 2007. Metode Analisis Biologi Tanah. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor. Hal 2 - 8.

## ACARA 2. ANALISIS C-ORGANIK DAN N-TOTAL

### 2.1. Landasan Teori

Kesehatan tanah merupakan kunci utama dalam menjaga keberlanjutan produktivitas pertanian. Tanah yang sehat bukan hanya sekadar media tumbuh tanaman, tetapi juga ekosistem hidup yang mendukung interaksi antara bahan organik, mikroorganisme, fauna tanah, serta unsur hara esensial. Dua indikator penting yang sering digunakan untuk menilai kesehatan tanah adalah C-Organik dan N-Total.

C-Organik merupakan cerminan kandungan bahan organik tanah yang berperan sebagai sumber energi utama bagi mikroba, pembentuk struktur tanah yang stabil, serta pengatur ketersediaan air dan hara. Kandungan C-Organik yang cukup menandakan tanah memiliki kapasitas mendukung kehidupan biologis secara optimal.

Sementara itu, N-Total menggambarkan cadangan nitrogen dalam tanah, baik dalam bentuk organik maupun anorganik. Nitrogen merupakan unsur hara makro esensial yang diperlukan tanaman untuk pertumbuhan vegetatif, sintesis protein, enzim, serta pembentukan klorofil. Kandungan N-Total juga berkaitan erat dengan aktivitas mikroba tanah, terutama kelompok bakteri penambat nitrogen.

Hubungan antara C-Organik dan N-Total tercermin dalam rasio C/N, yang sering digunakan sebagai indikator kualitas bahan organik dan keseimbangan nutrisi tanah. Rasio yang seimbang menunjukkan dekomposisi berjalan baik dan hara tersedia untuk tanaman, sedangkan rasio yang terlalu tinggi atau rendah dapat menghambat ketersediaan nitrogen.

Oleh karena itu, analisis C-Organik dan N-Total sangat penting dalam kajian Biologi dan Kesehatan Tanah. Keduanya tidak hanya menunjukkan status kesuburan tanah, tetapi juga merefleksikan dinamika ekosistem mikroba, potensi produktivitas, serta daya dukung tanah terhadap sistem pertanian yang berkelanjutan.

#### 1. C-Organik Tanah

- Pengertian

C-Organik adalah kandungan karbon yang berasal dari bahan organik tanah (sisa tanaman, hewan, mikroorganisme, serta produk dekomposisinya). Komponen ini merupakan indikator utama kesehatan tanah karena menjadi sumber energi bagi mikroorganisme tanah.

- Peran dalam Biologi dan Kesehatan Tanah

1. Sumber energi mikroba – Mikroorganisme heterotrof menggunakan C-Organik untuk metabolisme dan pertumbuhan.
2. Pembentukan humus – Produk akhir dekomposisi bahan organik menghasilkan humus yang memperbaiki struktur tanah, porositas, dan kapasitas menahan air.
3. Siklus hara – C-Organik berperan dalam siklus karbon global, serta mempengaruhi ketersediaan unsur N, P, dan S.
4. Indikator tanah sehat – Tanah dengan kandungan C-Organik cukup (umumnya >2%) dianggap memiliki produktivitas tinggi dan lebih stabil secara ekosistem.

- Dampak Kekurangan C-Organik

Tanah dengan C-Organik rendah cenderung miskin mikroba, struktur tanah jelek, cepat padat, kurang mampu menahan air, dan berpotensi mengalami degradasi.

## 2. N-Total Tanah

- Pengertian  
N-Total adalah jumlah keseluruhan nitrogen dalam tanah, baik dalam bentuk organik (protein, asam amino, humus) maupun anorganik (amonium, nitrat, nitrit).
- Peran dalam Biologi dan Kesehatan Tanah
  1. Unsur hara esensial – Nitrogen adalah komponen utama asam amino, protein, enzim, dan klorofil yang penting untuk pertumbuhan tanaman.
  2. Sumber nutrisi mikroba tanah – Mikroorganisme membutuhkan N untuk sintesis sel.
  3. Fiksasi biologis – Beberapa bakteri (misalnya *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Cyanobacteria*) mampu menambah stok N dalam tanah melalui fiksasi  $N_2$ .
  4. Indikator kesuburan tanah – Kandungan N-Total yang cukup menandakan tanah memiliki kapasitas mendukung produksi biomassa tinggi.

- Dampak Kekurangan N-Total

Tanaman menunjukkan gejala klorosis (daun menguning), pertumbuhan terhambat, dan hasil rendah. Tanah miskin nitrogen sering dianggap tidak sehat bagi ekosistem pertanian.

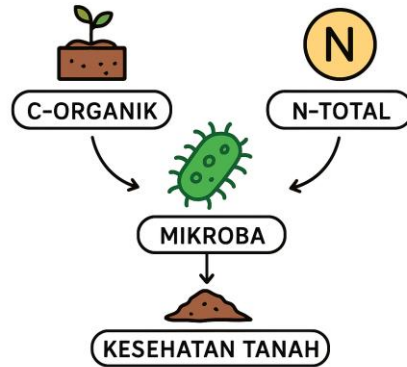
## 3. Rasio C/N

- Pengertian  
Rasio C/N adalah perbandingan kandungan C-Organik dengan N-Total. Rasio ini menunjukkan keseimbangan energi (karbon) dan nutrisi (nitrogen) bagi mikroorganisme tanah.
- Interpretasi C/N dalam Kesehatan Tanah
  - C/N tinggi (>25) : dekomposisi lambat, nitrogen sering terikat (immobilisasi), tanah kurang subur.
  - C/N sedang (10–20) : dekomposisi optimal, pelepasan N tersedia bagi tanaman.
  - C/N rendah (<10) : dekomposisi cepat, tetapi bahan organik cepat habis sehingga jangka panjang bisa menurunkan kesuburan.

## 4. Hubungan C-Organik dan N-Total dengan Kesehatan Tanah disajikan pada Gambar 2.

1. Tanah sehat memiliki kandungan C-Organik cukup, N-Total memadai, dan rasio C/N seimbang.
2. C-Organik berperan sebagai energi : mendukung populasi mikroba tanah.

3. N-Total berperan sebagai nutrisi : menjaga metabolisme tanah dan tanaman.
4. Kedua parameter ini sering digunakan sebagai indikator biologi dan kesehatan tanah, karena terkait langsung dengan aktivitas mikroba, produktivitas tanaman, dan keberlanjutan ekosistem.



Gambar 2. Hubungan C-Organik, N- Total dan Kesehatan Tanah

## 2.2. Tujuan Praktikum

1. Menentukan kadar C-Organik tanah sebagai indikator bahan organik.
2. Menentukan kadar N-Total tanah.
3. Menilai kesehatan tanah berdasarkan kandungan C dan N.

## 2.3. Bahan dan Alat

1. Sampel tanah kering (0,5 g – 1 g)
2. Labu Kjeldahl + pemanas
3. Reagen:
  - $K_2Cr_2O_7$  (larutan kalium dikromat 1N)
  - $H_2SO_4$  pekat
  - $FeSO_4$  0,5N (untuk titrasi C-organik)
  - $H_2SO_4$  pekat (untuk destruksi N-total)
  - NaOH 40% (untuk distilasi N-total)
  - $H_3BO_3$  2% (penangkap amonia)
  - HCl 0,1 N (untuk titrasi N)
4. Indikator (ferroin atau phenolphthalein)
5. Alat gelas standar (pipet, buret, labu Erlenmeyer, dll.)

## 2.4. Prosedur Praktikum

### A. Persiapan Praktikum :

1. Mahasiswa melakukan analisis berdasarkan sampel tanah
2. Analisis C-organik dan N total berdasarkan prosedur

## B. Langkah Kerja

### Analisis C-Organik (Metode Walkley-Black)

1. Timbang 0,5 g tanah kering ke dalam erlenmeyer.
2. Tambahkan 10 ml larutan  $K_2Cr_2O_7$  1N.
3. Tambahkan 20 ml  $H_2SO_4$  pekat → homogenkan → diamkan 30 menit.
4. Tambahkan 200 ml aquades + 10 ml  $H_3PO_4$  85%
5. ,tambahkan indikator Difenilamina 30 tetes.
6. Titrasi dengan  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  1N sampai warna berubah hijau kebiruan.
7. Hitung % C-Organik dengan rumus:

$$\% C = \frac{(Vb - VS) \times 3 \times fka}{ml\ balnko \times berat\ tanah\ (gram)}$$

Keterangan:

- Vb = volume blanko (ml)
- Vs = volume sampel (ml)
- Fka = Faktor koeksi kadar air =  $100 / (100 - \% \text{ kadar air})$

### Analisis N-Total (Metode Kjeldahl)

1. Timbang 0,5 g tanah kering ke labu Kjeldahl.
2. Tambahkan 1 g campuran salen
3. Tambahkan 5 ml  $H_2SO_4$  pekat
4. Panaskan sampai larutan jernih berkisar  $350\ ^\circ C$  hingga 3-4 jam (destruksi).
5. Setelah dingin tambahkan air bebas ion hingga tepat 50 ml
6. Tambahkan 20 ml NaOH 40%, lakukan distilasi.
7. Uap  $NH_3$  ditangkap dalam larutan 20 ml  $H_3BO_3$  2%.
8. Larutan hasil distilasi dititrasi dengan  $H_2SO_4$  hingga ditandai dengan perubahan warna dari hijau menjadi merah anggur (warna boraks semula).
9. Hitung % N-Total dengan rumus:

$$\% N = \frac{(Vs - Vb) \times N. H_2SO_4 \times 14.007 \times 100 \times ka}{berat\ tanah\ (gram)}$$

Keterangan:

- Vs = volume titrasi sampel (ml)
- Vb = volume titrasi blanko (ml)

## 2.5. Referensi

Saraswati R., Husen E., Simanungkalit R.D.M . 2007. Metode Analisis Biologi Tanah. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor.

## ACARA 3. PENGAMATAN RHIZOBIUM PADA TANAMAN LEGUMINOSA

### 3.1. Landasan Teori

Tanah yang sehat ditandai dengan adanya aktivitas mikroba yang mendukung siklus hara dan pertumbuhan tanaman. Salah satu mikroorganisme penting dalam kesehatan tanah adalah bakteri *Rhizobium*, yaitu bakteri pengikat nitrogen yang bersimbiosis dengan akar tanaman leguminosa (kacang-kacangan).

*Rhizobium* hidup di dalam bintil akar (*root nodule*) yang terbentuk melalui proses infeksi pada rambut akar. Proses ini dimulai ketika tanaman leguminosa mengeluarkan senyawa flavonoid dari akar, yang merangsang bakteri *Rhizobium* untuk menghasilkan sinyal kimia berupa Nod factor. Sinyal tersebut memicu pembelahan sel akar dan pembentukan bintil akar. Di dalam bintil akar, *Rhizobium* bertransformasi menjadi bentuk khusus yang disebut bakteroid, yang mampu mengikat nitrogen atmosfer ( $N_2$ ) dan mengubahnya menjadi amonia ( $NH_3$ ) yang tersedia bagi tanaman.

Proses fiksasi nitrogen biologis ini dikatalisis oleh enzim nitrogenase, yang bekerja optimal dalam kondisi anaerob sebagian. Untuk melindungi nitrogenase dari kerusakan oksigen, bintil akar mengandung pigmen leghemoglobin yang memberikan warna merah muda pada bintil sehat dan aktif. Sebaliknya, bintil yang tidak aktif biasanya berwarna putih atau pucat.

Peran *Rhizobium* dalam kesehatan tanah sangat penting karena:

1. Menyediakan sumber nitrogen alami bagi tanaman tanpa bergantung sepenuhnya pada pupuk kimia.
2. Meningkatkan kesuburan tanah melalui peningkatan kandungan N-total.
3. Menjaga keseimbangan ekosistem mikroba tanah dengan memperkaya komunitas mikroorganisme yang bermanfaat.
4. Mendukung sistem pertanian berkelanjutan dengan mengurangi kebutuhan pupuk anorganik.

Dengan demikian, keberadaan bintil akar pada tanaman leguminosa dapat dijadikan indikator biologis bagi kesehatan tanah. Semakin banyak bintil akar aktif, semakin tinggi aktivitas fiksasi nitrogen, yang menunjukkan tanah tersebut mendukung kehidupan mikroba bermanfaat dan memiliki potensi kesuburan yang baik.

### 3.2. Tujuan Praktikum

1. Mengenal hubungan simbiosis antar'a *Rhizobium* dengan tanaman leguminosa.
2. Mengamati bintil akar (nodul) sebagai tempat hidup *Rhizobium*.
3. Menilai peran *Rhizobium* dalam kesehatan tanah melalui fiksasi nitrogen.

### 3.3. Alat dan bahan

1. Tanaman leguminosa berumur 4-6 minggu (kedelai, kacang hijau, kacang tanah, turi dll.)
2. Cangkul / sekop kecil
3. Air bersih
4. Kertas label

5. Pisau kecil / silet
6. Cawan petri

### 3.4. Prosedur Praktikum

#### A. Prosedur Persiapan Praktikum

1. Mahasiswa melakukan pengambilan sampel tanaman
2. Mahasiswa melakukan analisis

#### B. Prosedur Langkah kerja Praktikum

- a). Cabut tanaman leguminosa secara hati-hati agar akar tidak rusak.
- b). Bersihkan akar dengan air mengalir.
- c). Amati adanya bintil akar (nodul).
- d). Pilih bintil akar yang segar, belah dengan silet.
- e). Amati warna bagian dalam:
  - Merah muda/merah → aktif, ada leghemoglobin.
  - Putih → belum aktif atau nodul muda.
  - Hijau/kecokelatan → nodul tua/mati.
- f). (Opsional) Letakkan potongan bintil di cawan petri

#### C. Format lembar kerja

| No | Jenis Tanaman | Jumlah Nodul | Letak nodul               | Bentuk Nodul                    | Ukuran               | Warna Nodul (dibelah) | Keterangan   |
|----|---------------|--------------|---------------------------|---------------------------------|----------------------|-----------------------|--------------|
| 1  | Kacang tanah  | 25           | Akar utama / akar lateral | Bulat/ lonjong/ tidak beraturan | Kecil/ sedang/ besar | Merah muda/ putih     | Aktif/ tidak |

#### D. Evaluasi

- a). Mengapa nodul berwarna merah muda menandakan aktivitas Rhizobium?
- b). Apa manfaat Rhizobium bagi kesuburan dan kesehatan tanah?
- c). Bagaimana pengaruh pemberian pupuk N tinggi terhadap aktivitas Rhizobium?
- d). Faktor apa aja yang mempengaruhi pembentukan nodul?

### 3.5. Referensi

Saraswati R., Husen E., Simanungkalit R.D.M . 2007. Metode Analisis Biologi Tanah. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor. 53-79

## ACARA 4. PERHITUNGAN TOTAL SPORA MIKORIZA

### 4.1. Landasan Teori

Mikoriza merupakan bentuk simbiosis mutualisme antara jamur dan akar tanaman, yang umumnya terdapat pada korteks akar. Tanaman inang menyediakan senyawa karbon berupa gula hasil fotosintesis untuk jamur, sedangkan jamur menyediakan unsur hara terutama fosfor (P) yang ketersediaannya terbatas di dalam tanah. Hampir seluruh jenis tanaman darat dapat membentuk asosiasi dengan jamur mikoriza, sehingga keberadaannya dianggap sebagai salah satu indikator penting kesehatan tanah.

Berdasarkan struktur dan pola kolonisasinya, mikoriza dibedakan menjadi dua kelompok utama, yaitu ektomikoriza dan endomikoriza. Ektomikoriza dicirikan oleh hifa yang membentuk mantel di permukaan akar serta jaringan Hartig net di antara sel korteks. Sementara itu, endomikoriza – yang lebih dikenal dengan istilah mikoriza arbuskula (MA) – dicirikan oleh masuknya hifa ke dalam sel korteks akar dan membentuk arbuskula maupun vesikula sebagai organ khusus pertukaran hara.

Fungi pembentuk mikoriza arbuskula berasal dari ordo Glomales, famili Endogonaceae, dengan beberapa genus utama seperti *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Sclerocystis*, dan *Scutellospora*. Di Indonesia, terutama pada tanah-tanah mineral masam, genus *Glomus* dan *Acaulospora* sering dilaporkan mendominasi populasi mikoriza.

Mikoriza memiliki peran penting dalam meningkatkan efisiensi serapan hara oleh tanaman, terutama fosfor yang bersifat tidak mobil di dalam tanah. Penelitian menunjukkan bahwa mikoriza mampu meningkatkan serapan fosfor hingga 25% dan juga berperan dalam penyerapan kalium, nitrogen, serta unsur hara mikro lainnya. Selain itu, mikoriza dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman abiotik (kekeringan, salinitas, tanah masam) dan biotik (serangan patogen akar).

Perbanyakan mikoriza di dalam tanah salah satunya melalui spora. Spora merupakan struktur reproduktif yang berfungsi sebagai sumber inokulum utama. Jumlah dan keanekaragaman spora mikoriza dalam tanah dapat digunakan sebagai parameter untuk menilai potensi tanah dalam mendukung pertumbuhan tanaman.

Metode wet sieving and decanting merupakan teknik yang banyak digunakan untuk memisahkan spora mikoriza dari tanah. Prinsipnya adalah memisahkan partikel tanah berdasarkan ukuran dengan penyaringan bertingkat, diikuti dengan pengendapan atau sentrifugasi menggunakan larutan sukrosa. Spora yang telah terpisah kemudian dihitung di bawah mikroskop stereo. Data jumlah spora yang diperoleh menjadi dasar dalam menilai kepadatan populasi mikoriza di suatu lahan, serta dapat dikaitkan dengan status kesuburan tanah dan produktivitas ekosistem pertanian.

### Identifikasi Spora Mikoriza

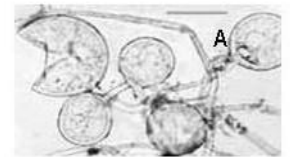
Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza (VAM) merupakan Zygomycetes yang berasal dari order Glomales. Di dunia berhasil diidentifikasi 150 spesies fungi yang berasosiasi dengan 70 % Angiosperm. Pengelompokan VAM secara taksonomi menurut Morton dan Benny (1990) adalah sebagai berikut:

- ORDER
  - SUBORDER
    - Family
      - Genus
  - GLOMALES
    - GIGASPORINAE
      - Gigasporaceae
        - Gigaspora Scutellospora
    - GLOMINEAE
      - Glomaceae
        - Glomus
        - Sclerocystis
        - Acaulosporaceae
        - Acaulospora
        - Entrophospora

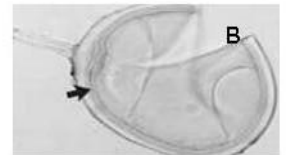
## GLOMUS

Chlamydospores

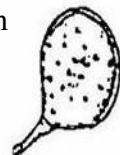
Hyphal attachment



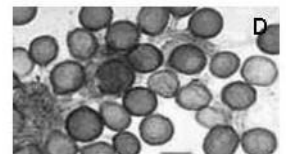
Straight



Recurved



Funnel



Lebih lanjut, karakteristik dan sifat dari setiap genus mikoriza dijelaskan

dalam berikut ini:

### GLOMUS

Karakteristik Morfologi Spora Genus *Glomus*.

Keterangan:

1. Spora mikoriza dari genus *Glomus* yang berwarna putih
2. Spesies *Glomus clarum* memiliki inner layer di bagian dalam dinding sporanya (yang ditunjukkan dengan anak panah)
3. Sporocarp dari *Glomus invermaium* yang sudah mati sering kita jumpai di dalam lapisan tanah,
4. Spora *Glomus invermaium* yang masih hidup yang diambil dari dalam pot biakan.

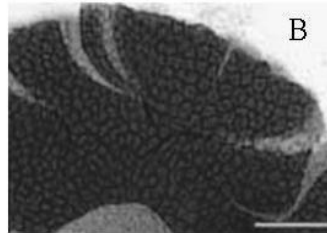
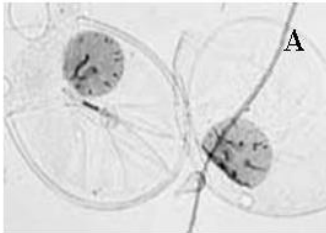
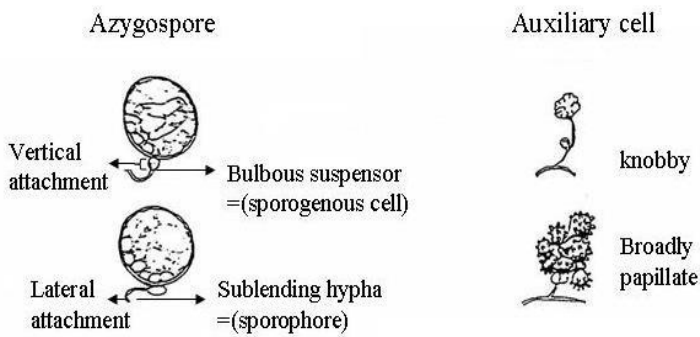
## SCUTELLOSPORA

### 2. SCUTELLOSPORA

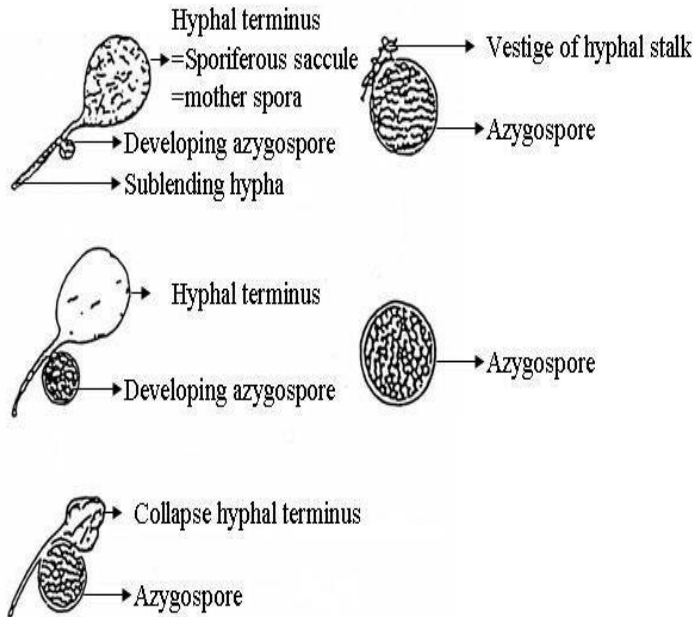
Karakteristik Morfologi Spora Genus *Scutellospora*.

Keterangan:

1. Spora *Scutellospora* berwarna putih yang didalamnya terdapat bakal benih yang terlindung dalam lapisan perlindungan yang kokoh.
2. Spora dari *Scutellospora reticulata*.



## Acaulospora

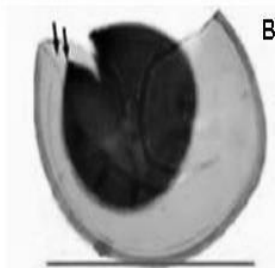
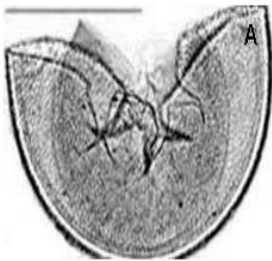


### 3. ACAULOSPORE

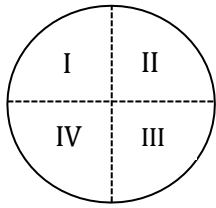
Karakteristik Morfologi Spora Genus *Acaulospora*.

Keterangan:

1. Spora *Acaulospora* memiliki lubang yang menembus dinding sel bagian luar dan dalam; diamati dengan reagen Melzer
2. Spora *Acaulospora* memiliki beberapa lapisan dinding sel (ditunjukkan oleh tanda panah); diamati dengan menggunakan reagen Melzer



Perhitungan Total Populasi spora :



- I. Kuadran 1 = .....spora
- II. Kuadran 2 = .....spora
- III. Kuadran 3 = .....spora
- IV. Kuadran 4 = .....spora

Total Populasi mikroriza =  $K_1 + K_2 + K_3 + K_4 = \dots$  spora / 50 gram tanah

Hasil perhitungan dapat dikonservasi ke dalam satuan spora/100 gram utuh dengan mengkalikan "2"

#### 4.2. Tujuan Praktikum

1. Melatih keterampilan mahasiswa dalam melakukan isolasi dan perhitungan spora mikoriza dari sampel tanah.
2. Mengetahui jumlah spora mikoriza sebagai salah satu indikator keberadaan dan potensi infektivitas mikoriza dalam tanah.
3. Mempelajari prinsip dan penerapan metode wet sieving and decanting dalam pemisahan spora dari partikel tanah.
4. Menumbuhkan pemahaman mahasiswa mengenai peran spora mikoriza terhadap kesehatan tanah dan pertumbuhan tanaman.
5. Mengembangkan kemampuan mahasiswa dalam menganalisis hubungan antara kepadatan spora mikoriza dengan kualitas tanah serta sistem pertanian berkelanjutan.

#### 4.3. Alat dan Bahan

1. Saringan bertingkat (wet sieving set)
  - o Ukuran pori disarankan: 500  $\mu\text{m}$ , 250  $\mu\text{m}$ , 125  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 63  $\mu\text{m}$ , 45  $\mu\text{m}$
  - o Minimal wajib ada: 250  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 45  $\mu\text{m}$
2. Gelas beker: 1000 mL (1 buah) dan 500 mL (1 buah) per kelompok
3. Gelas ukur: 100 mL & 500 mL
4. Sendok/trowel tanah & spatula stainless
5. Saringan lapangan (opsional) untuk prapenyaringan kasar
6. Tabung sentrifus: 50 mL (min. 6 buah/kelompok) + rak tabung
7. Sentrifus: 2.000–3.000 rpm, rotor untuk tabung 50 mL
8. Pipet tetes / Pasteur ( $\geq 10$  buah) dan pipet volume 1–10 mL (opsional)

9. Cawan petri: Ø 90 mm ( $\geq 6$  buah/kelompok)
10. Mikroskop stereo/binokuler: pembesaran 10–40 $\times$  ( $\geq 1$  unit/kelompok, berbagi juga bisa)
11. Kaca objek & kaca penutup (masing-masing  $\geq 10$  lembar)
12. Timbangan analitik: ketelitian 0,01 g
13. Botol semprot (wash bottle) untuk aquades
14. Corong plastik (2 buah)
15. Penanda tahan air (spidol lab) & label
16. Timer / jam praktik
17. Tisu lab / kertas saring
18. Baki kerja untuk menjaga area rapi (opsional)
19. Pengaduk kaca / batang pengaduk
20. Perlengkapan APD: sarung tangan nitril, masker, jas lab, kaca mata pelindung

## **Bahan**

1. Sampel tanah:  $\pm 100$  g per sampel (disarankan 3 ulangan  $\rightarrow$  total  $\pm 300$  g/kelompok)
2. Aquades:  $\geq 1$  L/kelompok
3. Larutan sukrosa 60% (b/v):  $\geq 250$  mL/kelompok
  - o Cara singkat: larutkan 600 g sukrosa murni dalam air hingga volume 1 L
4. Etanol 70% untuk desinfeksi area kerja
5. Detergen non-ionik (opsional): Tween-20 1–2 tetes/L untuk membantu membasahi agregat tanah saat pengayakan
6. Larutan pewarna (opsional untuk visualisasi):
  - o Lactophenol Cotton Blue atau Trypan Blue encer
7. Larutan NaCl 0,85% (opsional) untuk pembilasan awal bila diperlukan
8. Kantong sampel (zipper/bag kertas tebal) & segel
9. Kertas aluminium/parafilm untuk menutup cawan/tabung (opsional)

### **Rekomendasi Kuantitas per Kelompok (kelas 6–8 kelompok)**

- Saringan bertingkat: 1 set/kelompok (boleh bergantian untuk ukuran 45  $\mu\text{m}$  jika terbatas)
- Mikroskop stereo: ideal 1/kelompok; minimal 1/2 kelompok
- Sentrifus: 1 unit untuk 2–3 kelompok (atur giliran)
- Cawan petri: 6–10 buah/kelompok
- Tabung 50 mL: min. 6/kelompok (hemat waktu proses fraksinasi)

### **Catatan Keselamatan & Mutu**

- Gunakan APD sepanjang praktikum; pegang reagen dan alat optik dengan hati-hati.
- Larutan sukrosa kental: lap tumpahan segera (lengket & licin).
- Labeli semua tabung/cawan (kode sampel, tanggal, ulangan).
- Bersihkan saringan dari sisa tanah/spora di antara sampel untuk mencegah kontaminasi silang.

### **4.4. Prosedur Kerja**

#### Prosedur Praktikum

- a). Mahasiswa melakukan analisis perhitungan total spora mikroriza setiap sampel tanah
- b). Setiap kelompok melakukan laporan yang berisi terkait hasil analisis

#### Metode Wet Sieving (Nusantara et al., 2012)

1. Ambil contoh tanah 50 g sampel tanah dan larutkan dengan aquadest 400ml.
2. Tuang suspensi tersebut pada saringan bersusun dengan ukuran saringan 20mm, 500  $\mu\text{m}$ , dan 45  $\mu\text{m}$ .
3. Bagian tanah yang tidak tersaring pada saringan paling atas adalah partikel tanah yang berukuran besar. Untuk sampel mikoriza, gunakan saringan terbawah.
4. Bilaslah endapan pada saringan terakhir (terbawah) menggunakan sprayer yang berisi aquadest.
5. Endapan tanah halus yang masih tertinggal pada saringan 45  $\mu\text{m}$  dibilas tersebut dengan 200 ml aquadest didalam beaker glass.
6. Aduk dengan pengaduk kaca hingga homogen
7. Masukkan suspensi tersebut kedalam 12 tabung centrifuge dan membaginnya secara merata sampai batas  $\frac{3}{4}$  tabung.
8. Setelah terbagi merata, menambahkan larutan gula 60% sebanyak  $\frac{1}{4}$  tabung centrifuge ( $\pm 10$  ml)
9. Centrifuge dengan kecepatan 2700 rpm selama 2 menit untuk memisahkan spora dari wadah tanah dan sisa-sisa akar.

10. Setelah di centrifuge, ambil bagian teratas (bening) menggunakan pipet hisap dan meletakkan pada saringan 45  $\mu\text{m}$ .
11. Bilaslah endapan teratas tersebut menggunakan aquadest untuk menghilangkan larutan gula.
12. Semprot endapan tersebut menggunakan botol sprayer berisi aquadest dan ditampung pada cawan petri.
13. Setelah itu melakukan pengamatan spora menggunakan mikroskop stereo dengan perbesaran 100 kali.

#### Format Data

Hitunglah populasi spora mikroriza pada sampel tanah dan isi tabelnya

| Ulangan   | Kode |  |  |
|-----------|------|--|--|
| 1         |      |  |  |
| 2         |      |  |  |
| 3         |      |  |  |
| Rata-Rata |      |  |  |

#### Lembar Kerja Mahasiswa

1. Hitung populasi spora mikroriza
2. Genus apa yang paling banyak ditemukan
3. Interpretasikan data hasil pengamatan
4. Dokumentasikan setiap kegiatan

#### 4.5.Referensi

- Nusantara, Abimanyu D., Bertham, Yudhy H., dan Mansur, Irdika. 2012. Bekerja dengan Fungi Mikoriza. Bogor: Seameo Biotrop.
- Saraswati R., Husen E., Simanungkalit R.D.M . 2007. Metode Analisis Biologi Tanah. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor. 53-79

## ACARA 5. PERHITUNGAN PERSEN INFEKSI MIKORIZA PADA AKAR

### 5.1. Pendahuluan

Mikoriza merupakan bentuk simbiosis mutualisme antara jamur tanah dan akar tanaman, terutama pada jaringan korteks akar. Hubungan ini memberikan keuntungan timbal balik: jamur memperoleh karbohidrat dari tanaman, sedangkan tanaman mendapat keuntungan berupa peningkatan penyerapan unsur hara, terutama fosfor, serta peningkatan ketahanan terhadap cekaman lingkungan (Smith dan Read, 2008).

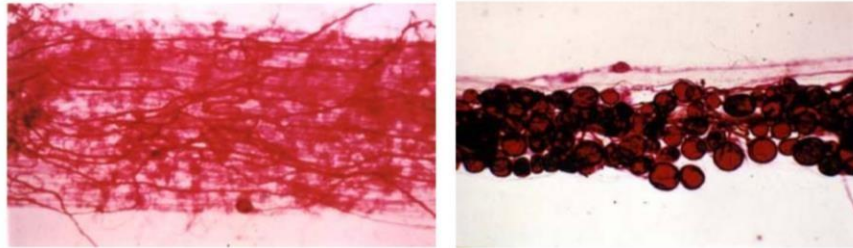
Salah satu cara untuk mengetahui peran dan efektivitas mikoriza adalah dengan mengukur tingkat kolonisasi atau infeksi mikoriza pada akar tanaman. Infeksi mikoriza dapat diamati dari struktur khas yang terbentuk di dalam akar, seperti hifa internal, vesikula, dan arbuskula. Besarnya persentase akar yang terinfeksi menjadi indikator penting untuk menilai tingkat asosiasi mikoriza dengan tanaman inangnya.

Perhitungan persen infeksi akar mikoriza biasanya dilakukan dengan metode pewarnaan akar. Akar tanaman diberi perlakuan clearing (pemucatan jaringan) dan staining (pewarnaan), sehingga struktur mikoriza dalam akar dapat terlihat jelas di bawah mikroskop. Selanjutnya, pengamatan dilakukan menggunakan metode gridline intersect atau metode langsung dengan menghitung persentase ruas akar yang terinfeksi dibandingkan dengan total ruas akar yang diamati (Phillips dan Hayman, 1970).

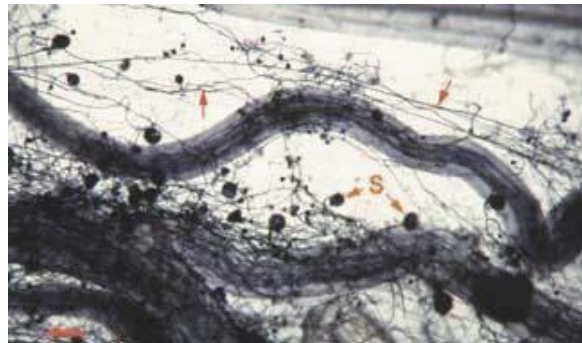
Informasi mengenai persen infeksi mikoriza sangat penting, karena dapat menggambarkan tingkat keberhasilan kolonisasi jamur pada akar tanaman. Semakin tinggi persentase infeksi, umumnya semakin besar kontribusi mikoriza terhadap peningkatan serapan hara dan pertumbuhan tanaman. Dengan demikian, analisis persen infeksi akar mikoriza menjadi salah satu parameter kunci dalam studi biologi tanah, kesehatan tanah, dan pengembangan pertanian berkelanjutan

Cendawan mikoriza arbuskuler (MA) merupakan satu kelompok jamur tanah biotrof obligat yang tidak dapat melestarikan pertumbuhan dan reproduksinya bila terpisah dari tanaman inang. Cendawan ini dicirikan oleh adanya struktur vesikel dan/atau arbuskel. Ada yang membentuk kedua struktur ini dalam akar yang dikolonisasi, sehingga lama sebelumnya cendawan dari kelompok ini dikenal sebagai cendawan vesikuler-arbuskuler. Vesikel merupakan struktur berdinding tipis berbentuk bulat, lonjong atau tidak teratur. Struktur ini mengandung senyawa lipid. Arbuskel merupakan struktur dalam akar berbentuk seperti pohon yang berasal dari cabang-cabang hifa intraradikal setelah hifa cabang menembus dinding sel korteks dan terbentuk antara dinding sel dan membrane plasma (Gambar 2). Guna mengetahui peran mikoriza dalam meningkatkan serapan P oleh akar tanaman, maka diperlukan perhitungan tingkat infeksi mikoriza. Perhitungan persentase infeksi dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Nemeć (1982), yaitu dengan pewarnaan akar tanaman yang terinfeksi (terkolonisasi)

mikoriza dan pengamatan di bawah mikroskop (Gambar 3). Pada praktikum ini digunakan metode pewarnaan akar yang telah dimodifikasi (Brunnete, 1996) untuk melihat infeksi/kolonisasi mikoriza pada akar.



Gambar 4. Kolonisasi cendawan MA dalam akar padi penuh dengan hifa (kiri), penuh dengan spora (kanan). Sumber: R.D.M Simanungkalit (Balittan, 2009)



Gambar 5. Sistem Perakaran yang Terinfeksi oleh Mikoriza Menunjukkan Eksternal Hifa (yang ditunjukkan dengan tanda panah) dengan Spora (S) yang Dihasilkan oleh *Glomus mossae*.

## 5.2. Tujuan

- Untuk melihat kolonisasi mikoriza pada akar menggunakan metode pewarnaan akar (Brunnete, 1996).
- Untuk membandingkan koloniasi mikoriza pada akar tiga jenis tanaman yang sama dari tiga lokasi yang berbeda.
- Untuk mengenali kenampakan hifa dan spora secara mikroskopis dalam akar tanaman.

### 5.3. Alat dan Bahan

#### Alat dan Bahan

- Mikroskop
- Beakerglass
- Petridish
- Tanaman dan tanah yang diamati
- KOH 10%, HCl 2%
- Tryphan blue 0.05% dalam laktofenol

### 5.4. Prosedur Praktikum

- a. Mahasiswa melakukan analisis perhitungan koloni mikroriza dengan tim kelompoknya
- b. melakukan interpretasi data

#### Prosedur Kerja

1. Cuci sampel akar hingga bersih dari kotoran dan miselium luar.
2. Rendam akar dalam KOH 10% pada suhu 90°C selama 1-2 jam.
3. Bilas KOH yang menempel pada akar menggunakan aquadest sebanyak 4 kali.
4. Masukkan sampel akar ke tabung reaksi dan masukkan HCl 2% selama 2 menit.
5. Pisahkan larutan HCl 2% dan tambahkan zat pewarna tryphan blue (0.05% tryphan blue dalam laktofenol).
6. Rebus akar dalam zat pewarna selama 3 menit.
7. Tuangkan (pisahkan) pewarna dan laktofenil serta biarkan semalam
8. Amati %kolonisasi mikoriza melalui mikroskop dengan meletakkan akar yang telah diberi pewarna ke dalam gelas preparat.

Perhitungan % kolonisasi mikoriza:

$$\% \text{ Kolonisasi} = \frac{\Sigma \text{ Akar yang terkoloni}}{\Sigma \text{ akar yang diamati}} \times 100 \%$$

Format Data

Hasil perhitungan %kolonisasi mikoriza pada tanah

| Ulangan   | Kode |  |  |
|-----------|------|--|--|
|           |      |  |  |
| 1         |      |  |  |
| 2         |      |  |  |
| 3         |      |  |  |
| Rata-rata |      |  |  |

### Lembar Kerja Mahasiswa

1. Berwarna apakah spora mikoriza yang ditemukan didalam akar tanaman?
2. Genus spora mikoriza apa yang paling banyak ditemukan?
3. Gambarkan bentuk spora dan mikoriza yang terlihat melalui mikroskop!
4. Dokumentasi seluruh langkah-langkah kerja dan seluruh preparat akar setiap kelompok.

### 5.5. Referensi

- Brundrett, M. C., Bougher, N., Dell. B., Grove, T., dan Malajczuk, N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.
- Saraswati R., Husen E., Simanungkalit R.D.M . 2007. Metode Analisis Biologi Tanah. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor. 53-79

## ACARA 6. ISOLASI BAKTERI DARI TANAH MENGGUNAKAN MEDIA NA

### 6.1.Landasan Teori

Tanah merupakan salah satu habitat yang sangat kompleks dan kaya akan keanekaragaman mikroorganisme, terutama bakteri. Bakteri tanah berperan penting dalam berbagai proses biogeokimia, seperti dekomposisi bahan organik, siklus hara, fiksasi nitrogen, serta peningkatan kesuburan tanah. Keberadaan bakteri di dalam tanah juga berpengaruh terhadap kesehatan tanah dan produktivitas tanaman, sehingga penting untuk mempelajari keberagaman serta peranannya.

Salah satu cara untuk mempelajari bakteri tanah adalah dengan melakukan isolasi, yaitu memisahkan bakteri dari komunitas aslinya untuk ditumbuhkan pada media buatan di laboratorium. Media yang umum digunakan untuk isolasi bakteri adalah Nutrient Agar (NA), karena memiliki kandungan nutrisi sederhana namun cukup lengkap untuk mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri heterotrof. Media NA terdiri dari peptone, ekstrak daging, dan agar, yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri umum non-spesifik.

Proses isolasi bakteri dilakukan melalui serangkaian tahapan, mulai dari pengenceran tanah (dilution plate method), penanaman pada media NA, inkubasi, hingga pengamatan koloni yang terbentuk. Setiap koloni yang muncul dianggap berasal dari satu sel bakteri (colony forming unit/CFU), sehingga dapat dipisahkan lebih lanjut untuk mendapatkan kultur murni.

Melalui kegiatan praktikum ini, mahasiswa diharapkan mampu memahami prinsip dasar isolasi bakteri, teknik aseptik, serta pentingnya media kultur dalam mempelajari keanekaragaman mikroba tanah. Hasil isolasi ini dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan, misalnya identifikasi bakteri, uji aktivitas enzim, uji pelarutan fosfat, atau potensi sebagai agen biokontrol.

Bakteri tanah berperan dalam dekomposisi, siklus hara, dan kesehatan tanah. Sebagian besar bakteri heterotrof non-spesifik dapat tumbuh pada Nutrient Agar (NA) karena kandungan peptone, ekstrak daging, dan agar yang mendukung pertumbuhan luas (non-selektif).

Pengenceran berseri (serial dilution) menurunkan kepadatan sel sehingga koloni dapat terpisah saat ditanam pada media padat. Setiap koloni yang tumbuh umumnya diasumsikan berasal dari satu sel viabel: colony forming unit (CFU).

Metode plating:

- Spread plate: 0,1 mL suspensi disebar di atas permukaan NA → koloni terhitung pada permukaan.
- Pour plate: 1 mL suspensi dicampur dengan NA hangat ( $\pm 45-50^{\circ}\text{C}$ ) → koloni tumbuh di permukaan & dalam agar.

Perhitungan: Pilih cawan dengan 30–300 koloni (akurasi statistik terbaik).

CFU/g tanah =  $\frac{\text{Jumlah koloni}}{\text{Volume diinokulasikan (mL)} \times \text{Faktor pengenceran}} \times \text{berat tanah (g)}$

Untuk *spread plate* 0,1 mL: bagi oleh 0,1 (sama dengan  $\times 10$ ).

Pemurnian (*streak plate*) menghasilkan koloni tunggal untuk kultur murni. Kultur murni diperlukan untuk karakterisasi morfologi, uji biokimia, atau penyimpanan.

## 6.2. Tujuan

- a. Untuk mengetahui teknik pembuatan media NA
- b. Untuk mengetahui proses sterilisasi alat dan bahan di laboratorium
- c. Untuk mengetahui proses seri pengenceran
- d. Untuk mengetahui teknik *pour plate*

## 6.3. Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan: media NA (*Nutrient agar* dilarutkan dalam 1L aquadest).

Alat yang digunakan: cawan petri, kertas payung, aluminium foil, plastik wrap, erlenmeyer, labu ukur, dan *autoclave*.

## 6.4. Prosedur Praktikum

### Prosedur Praktikum

- a. Mahasiswa melakukan analisis TPC pada sampel tanah
- b. Interpretasi data

#### a. Pembuatan media

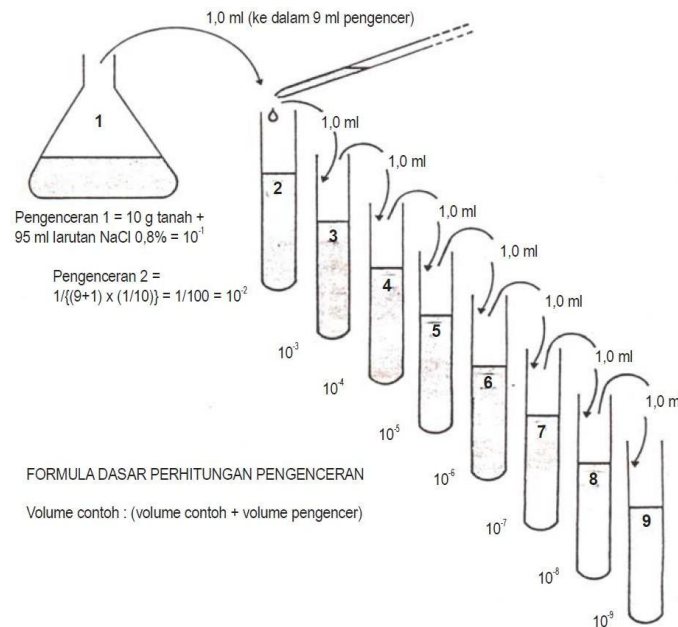
Media *Nutrient Agar* ditimbang dilarutkan dalam aquadest 1000 L.

1. Larutkan media sampai mendidih.
2. Masukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup dengan kapas dan aluminium foil.
3. Masukkan seluruh alat dan bahan ke dalam *autoclave* selama 15 menit dengan tekanan 1 atm dengan suhu 121°C.
4. Sterilisasi media
5. Sterilisasi dengan Panas Basah Bertekanan Tinggi (*autoclave*) Langkah kerja:
6. Tutup tabung reaksi yang berisi media dengan kapas, beberapa tabung diikat jadi satu dan bagian tutupnya dibungkus dengan kertas payung. Sisakan satu tabung untuk tidak disterilkan.
7. Isi *autoclave* dengan aquades sampai permukaan air dibawah ansang *autoclave*.
8. Masukkan semua alat dan bahan kedalam *autoclave*.

9. Tutup *autoclave* dan kencangkan setiap mur pada penutupnya sampai kencang.
10. Buka klep pada pengatur tekanan uap air, dan biarkan sampai mendidih.
11. Tutup klep tersebut setelah air mendidih dan media disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atmosfer.
12. Setelah selesai sterilisasi maka matikan *autoclave* dan tunggu sampai dingin.
13. Buka *autoclave* dan tunggu sampai media agak dingin (45°C).
14. Tuangkan media NA (*Nutrient Agar*) pada cawan petri steril.

### b. Pembuatan seri pengenceran

Larutkan 10 g contoh tanah ke dalam 90 ml aquadest steril (larutan pengencer). Kocok selama 2 menit, beri label pada botol pengenceran  $10^{-1}$ . Setelah dikocok, pindahkan 1 ml larutan tanah ke tabung reaksi yang berisi 9 ml aquadest. Kocok dengan vortex, dan beri label



pengenceran  $10^{-2}$ . Gunakan pipet yang baru pada setiap pemindahan 1 ml larutan. Dalam proses pengenceran, dilakukan 2 kegiatan secara bersamaan, yakni pengenceran ini diambil 1 ml sampel untuk dimasukkan pada tabung reaksi berisi aquades berikutnya dan 1 ml dimasukkan kedalam cawan petri steril yang berisi media NA dengan metode *pour plate* (subbab selanjutnya). Dengan cara yang sama akan didapatkan pengenceran  $10^{-3}$  dan seterusnya sampai pada pengenceran  $10^{-7}$ . Buat deret pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , sampai  $10^{-7}$ . Teknik seri pengenceran dapat dilihat melalui Gambar 4.

Gambar 4. Seri pengenceran

b. Metode Cawan Tuang (*Pour Plate*)

Masing masing pengenceran berseri yang telah diambil 1 ml yang di masukkan dalam cawan petri steril kemudian di tuangi dengan media NA (Nutrient Agar) hingga setebal 0.5cm per cawannya. Untuk kegiatan praktikum ini, pengenceran berseri yang digunakan adalah  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  dan  $10^{-7}$ . Inkubasi bakteri dalam cawan petri dilakukan pada suhu kamar selama 3 x 24 jam (dapat diamati 3 hari setelahnya).

d. Enumerasi total populasi bakteri:

Jumlah populasi Bakteri dari masing-masing sampel, kemudian dimasukkan ke dalam rumus untuk mengetahui total populasi bakteri dengan rumus (Saraswati *et al.*, 2007):

$$\text{Total populasi (cfu)/g tanah kering} = ((\text{jumlah koloni}) \times (\text{fp})) / \text{BK tanah}$$

Keterangan:

fp = faktor pengenceran pada cawan Petri yang koloninya dihitung BK = berat kering contoh tanah (g) = berat basah x (1 – kadar air) cfu adalah colony forming unit.

**Format Data**

Hitunglah berapa populasi bakteri dalam cawan petri pada setiap pengenceran.

|             | Total Koloni Bakteri (cfu/gram tanah) |           |           |           |           |           |           |           |           |
|-------------|---------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|             | .....                                 |           |           | .....     |           |           | .....     |           |           |
| Ulangan     | $10^{-5}$                             | $10^{-6}$ | $10^{-7}$ | $10^{-5}$ | $10^{-6}$ | $10^{-7}$ | $10^{-5}$ | $10^{-6}$ | $10^{-7}$ |
| 1           |                                       |           |           |           |           |           |           |           |           |
| 2           |                                       |           |           |           |           |           |           |           |           |
| 3           |                                       |           |           |           |           |           |           |           |           |
| Hasil Akhir |                                       |           |           |           |           |           |           |           |           |

**Lembar Kerja Mahasiswa**

1. Hitunglah berapa populasi bakteri dalam cawan petri pada setiap pengenceran.

2. Manakah lokasi yang memiliki total populasi bakteri terbanyak? Jelaskan mengapa!
3. Apakah bakteri yang ditemui tersebut adalah bakteri baik? Apabila tidak, jelaskan mengapa!
4. Dokumentasi seluruh langkah-langkah kerja dan seluruh biakan bakteri dalam cawan petri.

### **6.5.Referensi**

Saraswati R., Husen E., Simanungkalit R.D.M . 2007. Metode Analisis Biologi Tanah. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor. 53-79

## ACARA 7. AKTIVITAS ENZIM

### 7.1. Pendahuluan

Tanah merupakan ekosistem yang sangat kompleks karena di dalamnya berlangsung berbagai proses fisik, kimia, dan biologi yang saling berinteraksi. Salah satu aspek penting dalam dinamika tanah adalah aktivitas enzim yang berperan sebagai katalisator biologis. Enzim tanah sebagian besar dihasilkan oleh mikroorganisme (bakteri, fungi, aktinomisetes), akar tanaman, maupun dari sisa-sisa organisme yang terdekomposisi.

Keberadaan dan aktivitas enzim tanah mencerminkan tingkat kesuburan biologis serta kesehatan tanah, karena enzim berperan dalam mempercepat dekomposisi bahan organik dan siklus biogeokimia unsur hara seperti nitrogen, fosfor, dan karbon. Misalnya, enzim urease berperan dalam hidrolisis urea menjadi amonia, fosfatase berperan dalam mineralisasi fosfor organik, selulase berperan dalam degradasi selulosa, dehidrogenase menunjukkan aktivitas respirasi mikroba, dan katalase berfungsi melindungi mikroba dari kerusakan oksidatif.

Perubahan pengelolaan lahan, pencemaran, atau degradasi tanah dapat memengaruhi aktivitas enzim, sehingga pengukuran aktivitas enzim tanah sangat penting dilakukan untuk mengevaluasi kualitas tanah. Oleh karena itu, praktikum mengenai analisis enzim tanah menjadi salah satu bagian penting dalam mata kuliah *Biologi Tanah dan Kesehatan Tanah*. Melalui praktikum ini, mahasiswa diharapkan mampu memahami peran enzim dalam ekosistem tanah, menguasai metode pengukurannya, serta menganalisis hasilnya sebagai indikator kesehatan tanah dan keberlanjutan sistem pertanian

Enzim tanah merupakan biomolekul katalitik yang dihasilkan oleh mikroorganisme tanah, akar tanaman, maupun residu organisme, yang berfungsi mempercepat reaksi biokimia di dalam tanah. Aktivitas enzim mencerminkan dinamika mikroba dan peranannya dalam siklus biogeokimia unsur hara, sehingga sering dijadikan indikator kesuburan biologis dan kesehatan tanah (Dick, 1994; Nannipieri et al., 2012).

Enzim tanah berperan dalam dekomposisi bahan organik, mineralisasi unsur hara, serta melindungi organisme tanah dari cekaman lingkungan. Beberapa enzim yang umum digunakan dalam studi kesehatan tanah antara lain urease, fosfatase, dehidrogenase, selulase, dan katalase.

Enzim tanah merupakan indikator biologis penting yang mencerminkan aktivitas mikroba dan ketersediaan bahan organik. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, kelembapan, suhu, ketersediaan bahan organik, serta populasi mikroba.

Beberapa enzim penting dalam tanah meliputi:

1. Urease
  - Mengkatalisis hidrolisis urea menjadi amonia ( $\text{NH}_3$ ) dan  $\text{CO}_2$ .
  - Penting dalam siklus nitrogen.
2. Fosfatase
  - Menguraikan fosfor organik menjadi fosfat anorganik.
  - Berperan pada tanah dengan ketersediaan P rendah.

### 3. Dehidrogenase

- Indikator respirasi mikroba karena berperan dalam reaksi oksidasi-reduksi.

### 4. Selulase

- Menguraikan selulosa menjadi glukosa.
- Penting dalam dekomposisi residu tanaman.

### 5. Katalase

- Menguraikan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ .
- Melindungi mikroba dari kerusakan oksidatif.

Metode pengukuran aktivitas enzim umumnya berbasis pada reaksi enzim substrat dan pengukuran hasil reaksi dengan spektrofotometer.

#### Metode Praktikum Pengukuran Aktivitas Enzim Tanah

##### 1. Urease

- Prinsip: Sampel tanah diberi larutan urea, diinkubasi, kemudian amonia yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer.
- Indikator: Konsentrasi  $NH_4^+$  yang dilepaskan ( $mg NH_4^+-N/gram tanah/jam$ ).

##### 2. Fosfatase

- Prinsip: Tanah diberi substrat p-nitrophenyl phosphate (PNP), kemudian setelah inkubasi akan terbentuk p-nitrophenol (pNP) yang berwarna kuning.
- Indikator: Absorbansi pNP diukur dengan spektrofotometer (410 nm).

##### 3. Dehidrogenase

- Prinsip: Tanah diberi larutan 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC). Mikroba akan mereduksi TTC menjadi triphenyl formazan (TPF) yang berwarna merah.
- Indikator: Intensitas warna merah (TPF) diukur spektrofotometer (485 nm).

##### 4. Selulase

- Prinsip: Sampel tanah diinkubasi dengan substrat selulosa (misalnya carboxymethylcellulose, CMC). Hasil degradasi berupa gula reduksi (glukosa) diukur dengan metode DNS (dinitrosalicylic acid).
- Indikator: Konsentrasi gula reduksi ( $mg glukosa/gram tanah/jam$ ).

##### 5. Katalase

- Prinsip: Sampel tanah ditambahkan larutan  $H_2O_2$ . Aktivitas enzim diukur dari jumlah oksigen yang dilepaskan atau residu  $H_2O_2$  yang tersisa.

- Indikator: Volume O<sub>2</sub> atau absorbansi residu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> setelah reaksi.

## **7.2.Tujuan**

1. Mengetahui jenis-jenis enzim tanah yang berperan dalam siklus biogeokimia.
2. Melatih keterampilan mahasiswa dalam melakukan analisis aktivitas enzim tanah.
3. Mengetahui hubungan antara aktivitas enzim tanah dengan kesuburan dan kesehatan tanah

## **7.3.Alat dan Bahan**

### **Alat:**

- a). Tabung reaksi
- b). Pipet tetes dan micropipette
- c). Gelas ukur
- d). Erlenmeyer
- e). Spektrofotometer UV-Vis
- f). Inkubator
- g). Stopwatch

### **Bahan:**

- a). Sampel tanah
- b). Larutan urea (untuk urease)
- c). p-Nitrophenyl phosphate (PNP) (untuk fosfatase)
- d). 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) (untuk dehidrogenase)
- e). Carboxymethylcellulose (CMC) (untuk selulase)
- f). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (untuk katalase)
- g). Larutan buffer sesuai kebutuhan enzim
- h). Aquades

## **7.4.Prosedur Praktikum**

### **Persiapan Praktikum**

- a. Mahasiswa dibagi kelompok untuk menganalisis aktivasi enzim

Interprestasi hasil analisis

### **A. Urease**

1. Timbang  $\pm 5$  g sampel tanah dan masukkan ke tabung reaksi.
2. Tambahkan 10 mL larutan urea 10% dan 20 mL buffer fosfat (pH 6,7).
3. Tutup tabung dan inkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam.
4. Setelah inkubasi, saring larutan.
5. Ukur konsentrasi  $\text{NH}_4^+$  yang terbentuk dengan spektrofotometer ( $\lambda = 578$  nm).

### **B. Fosfatase**

1. Ambil 1 g sampel tanah, masukkan ke tabung reaksi.
2. Tambahkan 4 mL buffer asetat (pH 5,0) dan 1 mL substrat p-nitrophenyl phosphate (PNP).
3. Inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam.
4. Hentikan reaksi dengan 1 mL NaOH 0,5 M.
5. Ukur larutan hasil reaksi dengan spektrofotometer ( $\lambda = 410$  nm).

### **C. Dehidrogenase**

1. Masukkan 5 g tanah ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 5 mL larutan TTC (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride).
3. Inkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam.
4. TTC akan direduksi menjadi TPF (triphenyl formazan) berwarna merah.
5. Ekstrak TPF dengan etanol dan ukur absorbansi dengan spektrofotometer ( $\lambda = 485$  nm).

### **D. Selulase**

1. Timbang 1 g tanah dan masukkan ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 10 mL larutan carboxymethylcellulose (CMC).
3. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
4. Setelah inkubasi, ambil supernatan.

5. Tambahkan pereaksi DNS (dinitrosalicylic acid), panaskan dalam waterbath 5 menit, dinginkan.
6. Ukur absorbansi larutan dengan spektrofotometer ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ ).

### E. Katalase

1. Masukkan 5 g tanah ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 10 mL larutan  $\text{H}_2\text{O}_2$  3%.
3. Aduk perlahan dan biarkan reaksi berlangsung selama 1–2 menit.
4. Amati jumlah gelembung gas ( $\text{O}_2$ ) yang terbentuk atau ukur residu  $\text{H}_2\text{O}_2$  dengan titrasi/spektrofotometer.

### Format Data

| No. | Sampel Tanah | Urease (mg $\text{NH}_4^+$ -N/g/jam) | Fosfatase ( $\mu\text{g}$ pNP/g/jam) | Dehidrogenase ( $\mu\text{g}$ TPF/g/jam) | Selulase (mg glukosa/g/jam) | Katalase (ml $\text{O}_2$ /g/jam) | Keterangan |
|-----|--------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|-----------------------------|-----------------------------------|------------|
| 1   |              |                                      |                                      |  |                             |                                   |            |
| 2   |              |                                      |                                      |  |                             |                                   |            |
| ... |              |                                      |                                      |  |                             |                                   |            |

### Lembar Kerja Mahasiswa

1. Mengapa enzim tanah dapat dijadikan indikator kesehatan tanah?
2. Bagaimana hubungan aktivitas enzim tanah dengan kesuburan tanah?
3. Bandingkan peran enzim urease dan fosfatase dalam siklus hara.
4. Mengapa dehidrogenase dianggap indikator umum aktivitas mikroba tanah?
5. Diskusikan faktor lingkungan apa saja yang memengaruhi aktivitas enzim tanah.

### 7.5.Referensi

Saraswati R., Husen E., Simanungkalit R.D.M . 2007. Metode Analisis Biologi Tanah. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor. 53-79

# **FORMAT LAPORAN AKHIR**

## **JUDUL PERCOBAAN**

### **I. PENDAHULUAN**

1.1. Dasar Teori

1.2. Tujuan percobaan

### **II. METODE PRAKTIKUM**

2.1. Alat dan Bahan

2.2. Prosedur kerja

### **III. HASIL PENGAMATAN**

Hasil pengamatan berisi data hasil pengamatan berupa tabel pengamatan semua kelompok, foto, perhitungan jika ada

### **IV. PEMBAHASAN**

Pembahasan berisi uraian yang membahas data dan hasil percobaan dikaitkan dengan teori, pelaksanaan percobaan, serta hal-hal yang dianggap perlu.

### **V. KESIMPULAN**

Ditulis secara singkat dan merupakan jawaban dari tujuan percobaan.

### **REFERENSI**

Bersumber dari buku, jurnal atau website resmi (tidak boleh dari blog atau website lain yang tidak resmi). Ditulis dengan menggunakan format APA style

### **LAMPIRAN**

Lampiran dapat berisi data atau foto lain yang perlu disajikan dari hasil percobaan atau hasil pengamatan selama proses pelaksanaan praktikum.

## **Penuntun Praktikum**

---

### **Biologi dan Kesehatan Tanah**

disusun sebagai panduan bagi mahasiswa dalam melaksanakan kegiatan praktikum secara sistematis dan ilmiah. Diharapkan modul ini dapat membantu mahasiswa memahami prinsip dasar serta aplikasi biologi tanah dalam kaitannya dengan kesehatan tanah dan keberlanjutan pertanian