

## Pendugaan Kemunduran Benih dengan Uji Fisiologi dan Biokimiawi

Gani Jawak<sup>a</sup>, Eny Widajati<sup>b</sup>, Devi Liana<sup>c</sup>, Tri Astuti<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan, Indonesia, email: [ganijawak@gmail.com](mailto:ganijawak@gmail.com)

<sup>b</sup> Fakultas Pertanian, IPB University, Bogor-Jawa Barat, Indonesia, email: [eny.widajati61@gmail.com](mailto:eny.widajati61@gmail.com)

<sup>c</sup> Fakultas Pertanian dan Peternakan, UNIKA St. Paulus, Ruteng-NTT, email: [deviliana1121@gmail.com](mailto:deviliana1121@gmail.com)

<sup>c</sup> Fakultas Pertanian dan Peternakan, UNIKA St. Paulus, Ruteng-NTT, email: [tri67984@gmail.com](mailto:tri67984@gmail.com)

### Article Info

#### Article history:

Received 23 September 2022

Received in revised form 27 September 2022

Accepted 30 September 2022

#### DOI:

<https://doi.org/10.32938/sc.v7i04.1921>

#### Keywords:

Kacang Panjang

Respirasi

Titirasi

TTZ

Uji Viabilitas

### Abstrak

Pengujian viabilitas benih merupakan salah satu uji rutin yang dilakukan dalam proses sertifikasi benih. Penurunan viabilitas benih dapat dilakukan secara biokimiawi dan secara fisiologi. Penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk mempelajari kemunduran benih melalui pengujian secara biokimiawi dan secara fisiologi. Penelitian menggunakan dua lot benih kacang panjang (lot tinggi dan lot rendah). Uji viabilitas benih secara fisiologi dilakukan melalui uji daya berkecambah dan secara biokimiawi melalui uji respirasi dengan teknik pewarnaan menggunakan tetrazolium (TTZ) dan metode titrasi. Percobaan dirancang menggunakan rancangan acak lengkap satu faktor. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji F dan korelasi Pearson. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan lot benih beberapa nyata terhadap tolak ukur uji tetrazolium dan berat kering kecambah total sedangkan untuk tolak ukur indeks vigor, daya berkecambah, dan respirasi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Terdapat korelasi yang positif tinggi pada tingkat respirasi benih lot tinggi dan benih lot benih rendah terhadap tolak ukur berat kering kecambah total, daya berkecambah, indeks vigor, dan uji tetrazolium. Oleh karena itu, uji biokimiawi dengan TTZ dan respirasi dengan metode titrasi dapat dijadikan alternatif untuk menduga kemunduran benih dengan cepat.

### 1. Pendahuluan

Pengujian benih penting dilakukan dalam rangka memperoleh informasi tentang viabilitas benih, terkait dengan mutu suatu lot benih. Benih dikatakan bermutu bila memiliki kualitas sesuai standar mutu internasional yang ditetapkan oleh ISTA (*International Seed Testing Association*). Mutu yang ditetapkan secara internasional meliputi mutu fisik, fisiologi, genetik dan kesehatan benih. Salah satu parameter yang digunakan untuk menduga mutu fisiologi benih adalah viabilitas benih. Viabilitas benih bisa diduga melalui pengamatan dan pengujian baik secara fisik, anatomi, sitologi, matematik, fisiologis dan biokemis (Widajati *et al.*, 2013).

Kemunduran benih didefinisikan sebagai perubahan pada benih ke arah yang lebih buruk dan terjadi seiring dengan bertambahnya waktu, yang dapat menyebabkan paparan benih semakin meningkat terhadap faktor eksternal dan akhirnya kemampuannya untuk bertahan hidup menjadi turun (Jyoti dan Malik, 2013). Perbicara mengenai kemunduran benih berarti kita berbicara tentang satu proses. Proses dalam kemunduran benih terjadi secara perlahan, terus menerus, bersifat kumulatif, serta *irreversible*. Proses tersebut terjadi akibat terjadinya perubahan fisiologis benih secara intern. Menurut Copeland dan McDonald (2001) kemunduran benih dapat diduga baik menggunakan uji secara biokimia maupun fisiologi. Hasil penelitian Copeland dan McDonald (2001) menyebutkan bahwa proses kemunduran benih yang terjadi secara fisiologi dapat diindikasikan dari turunnya daya berkecambah benih, meningkatnya jumlah kecambah yang abnormal, menurunnya daya tumbuh di lapangan (*field emergence*), pertumbuhan dan perkembangan tanaman menjadi terhambat, serta turunnya produksi sebagai respon meningkatnya kepekaan tanaman terhadap lingkungan yang ekstrim. Selain indikasi secara fisiologi, kemunduran benih dapat juga dilihat dari indikasi secara biokimia. Tatipata *et al.* (2004) menyatakan bahwa kemunduran benih secara biokimia dapat dicirikan dengan turunnya aktivitas enzim perkecambahan, cadangan makanan semakin menurun, dan nilai konduktivitas yang semakin meningkat.

Benih membutuhkan energi untuk bermetabolisme, hasil metabolisme digunakan benih untuk dapat hidup, berkecambah, dan berkembang menjadi tanaman hingga berproduksi. Benih dengan aktivitas respirasi yang lebih tinggi akan mampu menghasilkan lebih banyak energi yang nantinya digunakan sel untuk bermetabolisme. Berdasarkan prinsip tersebut, aktivitas respirasi sel mungkin dapat dijadikan acuan dalam menduga viabilitas suatu lot benih. Respirasi sel dapat diduga secara cepat menggunakan uji biokimia berdasarkan aktivitas enzimnya (uji tetrazolium) atau berdasarkan hasil respirasinya (titrasi benih).

Enzim dehidrogenase termasuk salah satu enzim yang terlibat dalam proses respirasi, dimana fungsi dari enzim ini adalah untuk melepaskan ion hidrogen dari senyawa antara yang terlibat dalam proses respirasi. Ion hidrogen dapat bereaksi dengan senyawa 2,3,5 trifenil tetrazolium klorida membentuk endapan formazan, dari pola dan intensitas endapan pada jaringan benih inilah bisa diduga pola aktivitas respirasi benih. Dalam proses respirasi benih juga dihasilkan CO<sub>2</sub> sebagai hasil dari proses metabolisme. CO<sub>2</sub> dapat ditangkap menggunakan larutan KOH, dimana banyaknya mg CO<sub>2</sub> yang dihasilkan benih dapat diduga melalui titrasi.

Dalam ISTA (2010) disebutkan bahwa pengujian viabilitas dengan uji tetrazolium (TTZ) tidak berhubungan dengan uji daya berkecambah, tetapi persentase benih viabel pada uji TTZ akan tidak berbeda nyata dengan persentase kecambah normal pada uji daya berkecambah hanya apabila: 1) benih tidak dalam keadaan dorman atau mengalami kekerasan benih atau telah dipatahkan dormansinya atau kekerasan benihnya; 2) benih tidak terinfeksi penyakit atau sudah didesinfektan; 3) benih tidak disemprot di lapangan atau diberi perlakuan 'coating' dalam pengolahan atau difumigasi di gudang; 4) benih belum berkecambah; 5) benih belum mengalami deteriorasi lebih lanjut pada saat

pengujian DB; 6) benih dikecambahkan pada kondisi optimum; dan 7) benih tidak disimpan dalam ruangan yang diberi penghambat perkecambahan. Menurut Zanzibar (2009), uji biokimia dengan menggunakan tetrazolium memiliki beberapa kelebihan seperti: a) menghemat waktu pengujian (pengujian relatif singkat), b) dapat diaplikasikan untuk menguji viabilitas benih pada benih yang masih dorman atau *after ripening*, dan c) hasil uji memiliki tingkat ketelitian yang tinggi. Namun pengujian viabilitas dengan TTZ memiliki beberapa kelemahan diantaranya: a) membutuhkan tenaga yang ahli, b) memerlukan pelatihan yang intensif, c) pekerjaannya bersifat laboratoris, dan d) uji ini tidak dapat digunakan mendeteksi kerusakan pada benih yang disebabkan oleh cendawan atau mikroba lain yang bersifat merusak. Uji biokimia dengan tetrazolium dapat juga digunakan sebagai uji vigor. Menurut Priandoko (2011) dan Afifah *et al.* (2020) sebagai uji vigor pengujian dengan tetrazolium harus dilakukan dengan membuat penilaian pewarnaan pada benih yang lebih ketat (Priandoko, 2011)

Cara lainnya yang umum digunakan untuk mengetahui viabilitas/kemunduran benih ialah dengan pengujian fisiologis, dengan cara menilai kemampuan embrio benih untuk berkembang menjadi kecambah normal. Kemampuan embrio dalam memanfaatkan cadangan makanan yang tersedia dengan efektif dan efisien membentuk biomassa kecambah juga dapat diuji melalui berat kering kecambah total (BKKt). Penelitian dilakukan dengan tujuan mempelajari kemunduran benih melalui pengujian secara fisiologi dan secara biokimiawi.

### 2. Metode

Penelitian ini dilakukan mulai bulan April hingga bulan Juni 2014 bertempat di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Benih, Fakultas Pertanian, IPB University, Darmaga-Bogor. Analisis Korelasi Pearson dilakukan pada data yang diperoleh untuk melihat adanya hubungan keterkaitan antara hasil uji titrasi, berat kering kecambah total (BKKt), tetrazolium (TZ), dan daya berkecambah (DB). Koefisien korelasi (r) bernilai antara  $-1 \leq r \leq +1$ . Nilai koefisien korelasi yang positif menunjukkan bahwa jika nilai variabel satu meningkat maka peningkatan juga terjadi pada variabel 2. Nilai koefisien korelasi yang negatif menunjukkan bahwa nilai variabel 1 yang semakin meningkat akan menyebabkan nilai variabel 2 yang semakin kecil. Nilai koefisien korelasi yang bernilai nol menunjukkan bahwa tidak adanya hubungan antara 2 variabel yang diuji. Jika koefisien korelasi nilainya semakin mendekati -1 atau 1, menunjukkan bahwa hubungan linear antara 2 peubah yang di uji semakin erat. Analisis data korelasi dilakukan dengan program Minitab 14.0. Pada metode UKDdp digunakan rancangan percobaan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor, dengan lot sebagai faktornya. Data daya berkecambah, berat kering total, respirasi, viabilitas TTZ dan vigor benih diolah menggunakan program SAS 9.1 portable (*Statistical Analysis System*). Jika hasil percobaan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada perlakuan maka akan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) taraf  $\alpha=5\%$ .

#### 2.1 Uji respirasi metode titrasi

Dua lot benih kacang panjang dengan vigor yang berbeda (masing-masing sebanyak 25 butir per ulangan) disterilisasi permukaan menggunakan klorox 1%. Benih kemudian ditanam di dalam toples yang telah dialas menggunakan tiga lembar kertas saring lembab. Kemudian botol film yang berisi 20 ml larutan KOH 0.8 N dimasukkan di posisi tengah toples. Toples yang berisi botol film ditanam benih kacang panjang, kemudian ditutup rapat agar kedap udara. Untuk blanko disiapkan dengan metode yang sama akan tetapi benih tidak ditanam di dalam toples. Toples berisi tersebut kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama empat hari. Setelah empat hari toples dibuka dan larutan KOH pada botol film dituang ke dalam tabung erlenmeyer (volume tabung 50 ml). Selanjutnya 1 tetes

indikator phenolftalein ditambahkan ke dalam larutan KOH di dalam erlenmeyer dengan indicator warna merah jambu. Kemudian dilakukan titrasi menggunakan HCl 0.4 N sampai indikator warna merah jambu hilang. Selanjutnya tambahkan 1 tetes indikator metil orange dengan indikator warna orange dan dititrasi kembali dengan HCl 0.4 N hingga warna orange berubah menjadi warna merah muda.

Respirasi menggunakan metode titrasi dapat dihitung berdasarkan CO<sub>2</sub> yang diproduksi dengan menggunakan rumus:

$$\text{mg CO}_2 = \frac{(a-b) \times N \times 44}{t} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

- a : merupakan banyaknya HCl (ml) yang digunakan pada titrasi tahap kedua dari toples berisi benih
- b : merupakan banyaknya HCl (ml) yang digunakan pada titrasi tahap kedua dari toples blangko
- N : merupakan nilai molaritas HCl
- t : merupakan lama inkubasi (hari)

Benih kacang panjang dibiarkan tetap di dalam toples hingga hari ke-6 untuk mendapatkan kecambah yang lebih besar ukurannya. Kecambah yang terbentuk dilepaskan kotiledonnya dan dimasukkan ke dalam amplop yang sebelumnya telah ditimbang bobotnya (B0). Amplop berisi kecambah kemudian diuapkan kandungan airnya menggunakan oven suhu 60 °C selama 3x24 jam. Kemudian amplop dikeluarkan dan dimasukkan dalam desikator sampai panasnya hilang (15-30 menit), ditimbang berat akhirnya (B1). Bobot kering kecambah dihitung dengan mengurangkan B1-B0.

**2.2 Uji respirasi benih menggunakan metode tetrazolium**

Dua lot benih kacang panjang dengan vigor yang berbeda (masing-masing sebanyak 25 butir per ulangan) direndam terlebih dahulu selama 12 jam. Benih lalu ditiriskan, dibuang kulit arinya menggunakan scalpel dan direndam kembali dalam larutan 2,3,5-Trifenil tetrazolium klorida. Untuk mempercepat proses pewarnaan, rendaman benih dalam TTZ diinkubasi selama ±1 jam dalam oven suhu 40 °C. Benih dikeluarkan dari oven, disaring dan dicuci bersih dibuka kepingnya dan dilakukan pengamatan terhadap pola pewarnaan yang muncul pada benih, benih dengan pola pewarnaan vigor kemudian dipersentasekan sehingga diperoleh persentase benih germinabel. Pola pewarnaan TTZ pada kacang panjang diamati sesuai ketentuan AOSA (2005).

**2.3 Uji Fisiologis Benih menggunakan metode UKDdp**

Dua lot benih kacang panjang dengan vigor yang berbeda (masing-masing sebanyak 25 butir per ulangan) ditanam diatas tiga lembar kertas stensil lembab yang dialasi plastik. Selanjutnya benih tersebut ditutup dengan 2 lembar kertas stensil lembab dan digulung. Gulungan ditempatkan pada ecogerminator APB IPB 72-1. Dilakukan pengamatan terhadap indeks vigor pada hari ke-5 dan daya berkecambah benih pada hari ke-5 dan hari ke-8. Tolok ukur yang diamati untuk mengukur vigor benih kacang panjang melalui uji perkecambahan (fisiologis) adalah daya berkecambah (DB) dan indeks vigor (IV). Persentase daya berkecambah benih dihitung menggunakan rumus ISTA (2010). Sedangkan indeks vigor dihitung dengan rumus:

$$IV = \frac{\sum \text{KN hitungan I}}{\sum \text{benih total}} \times 100\% \dots\dots(2)$$

Keterangan:

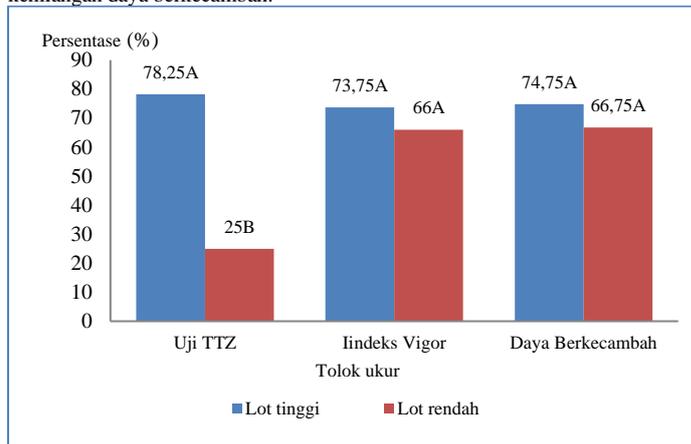
ΣKN = persentase kecambah normal

**3. Hasil dan Pembahasan**

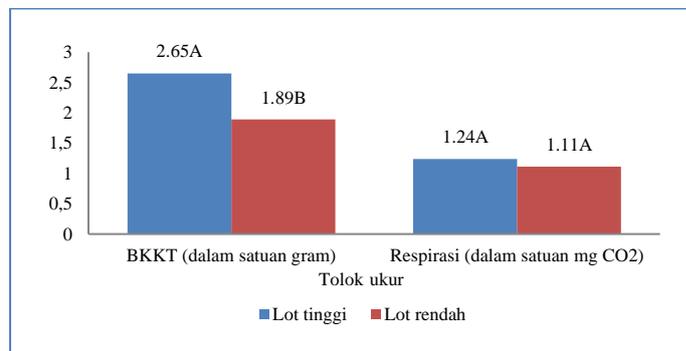
Hasil analisis anova menunjukkan bahwa perlakuan lot benih menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap tolak ukur uji tetrazolium dan berat kering kecambah total, sedangkan untuk tolak ukur indeks vigor, daya berkecambah, dan respirasi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (Gambar 1 dan Gambar 2). Lot benih tinggi memiliki nilai tertinggi untuk semua tolak ukur yang diamati. Hal ini mengindikasikan bahwa benih yang berasal dari lot tinggi memiliki vigor lebih tinggi dibandingkan benih dari lot rendah. Pada tahap awal perkecambahan respirasi merupakan salah satu peristiwa yang memegang peranan penting. Saat respirasi maka akan terjadi pelepasan energi akibat putus atau melemahnya ikatan antara karbon - karbon dan karbon - hidrogen pada suatu molekul. Respirasi memegang peranan utama pada organisme untuk keberlangsungan hidupnya. Benih tanaman dapat dikategorikan sebagai organisme. Benih sebagai organisme melakukan respirasi untuk mempertahankan keberlangsungan hidupnya.

Perombakan cadangan makanan menjadi senyawa sederhana terjadi pada saat respirasi. Cadangan makanan berupa karbohidrat dan protein akan dirombak menjadi senyawa sederhana berupa CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O dan pembebasan sejumlah tenaga yang disimpan dalam cadangan makanan (endosperm) terjadi selama proses respirasi (Sulastri, 1996). Semakin tinggi tingkat cadangan makanan maka laju respirasi semakin tinggi dan energi (ATP) yang dibutuhkan untuk perkecambahan akan terbentuk semakin banyak. Banyaknya ATP yang terbentuk akan meningkatkan laju perkecambahan benih sehingga dapat dikatakan benih yang memiliki laju perkecambahan tinggi adalah benih yang bervigor tinggi. Laju perkecambahan ini dapat diukur dari tolak ukur indeks vigor dan daya berkecambah benih. Coopeland dan McDonald (2001) menyatakan bahwa proses respirasi merupakan ekspresi dari sekelompok enzim yang bekerja bersama dalam merombak cadangan makanan. Pada benih yang sudah mengalami

kemunduran, respirasinya akan menjadi lemah sehingga menyebabkan kehilangan daya berkecambah.



Gambar 1. Pengaruh lot benih terhadap viabilitas benih (TTZ, indeks vigor, dan daya berkecambah) kacang panjang (Keterangan: pada tolak ukur yang sama, huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan adanya perbedaan yang nyata)



Gambar 2. Pengaruh lot benih terhadap berat kering kecambah dan respirasi benih (Keterangan: pada tolak ukur yang sama, huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan adanya perbedaan yang nyata).

Korelasi tingkat respirasi antara benih lot tinggi dan lot benih rendah dengan tolak ukur berat kering kecambah total, daya berkecambah, indeks vigor, dan uji tetrazolium menunjukkan korelasi yang positif tinggi (Tabel 1 dan Tabel 2). Pada lot benih tinggi respirasi memiliki korelasi dengan indeks vigor, daya berkecambah, dan berat kering kecambah total masing-masing sebesar r=0.67, r=0.71 dan r=0.63. Pada lot benih rendah nilai korelasi respirasi dengan indeks vigor, daya berkecambah, dan berat kering kecambah total masing-masing yaitu r=0.89, r=0.92, dan r=0.77. Korelasi yang positif menunjukkan bahwa bila salah satu peubah mengalami peningkatan nilai maka akan diikuti oleh peningkatan nilai peubah yang lainnya atau hubungannya searah (Gomez dan Gomez 2007). Hal ini mengindikasikan bahwa tingkat respirasi dapat digunakan untuk menduga vigor benih dimana respirasi yang semakin meningkat selama proses perkecambahan menunjukkan tingginya ATP yang terkandung dalam benih. Proses respirasi umumnya menggunakan ATP sebagai sumber energi. Tingkat ATP yang tinggi mengindikasikan vigor benih yang tinggi. Tingkat korelasi yang positif ini sejalan dengan pernyataan Tatipata et al., (2004) dimana benih yang mengalami kemunduran dapat ditunjukkan dengan semakin rendahnya tingkat respirasinya.

Tabel 1. Korelasi antar tolak ukur viabilitas pada benih kacang panjang lot tinggi

Tolak ukur	TTZ	IV	DB	BKKT
IV	0.798			
DB	0.765	0.982		
BKKT	0.872	0.505	0.403	
Respirasi	0.911	0.670	0.713	0.673

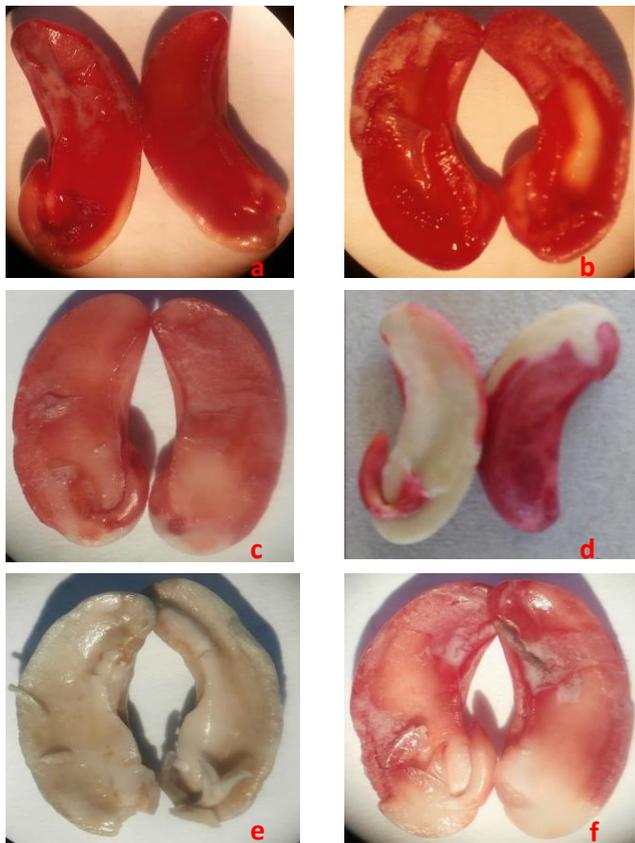
Tabel 2. Korelasi antar tolak ukur viabilitas pada benih kacang panjang lot rendah

Tolak ukur	TTZ	IV	DB	BKKT
IV	0.633			
DB	0.596	0.997*		
BKKT	0.724	0.504	0.521	
Respirasi	0.592	0.898	0.921	0.77

\*: berbeda nyata

Respirasi dan uji TTZ memiliki keterkaitan yang erat. Pada Tabel 1 dan Tabel 2 terlihat bahwa respirasi dan TTZ memiliki korelasi yang positif tinggi baik pada lot benih tinggi (r= 0.91) maupun lot benih rendah (r= 0.59). Proses respirasi dalam lintasan siklus kreps akan melepaskan ion H<sup>+</sup>. Ion H<sup>+</sup> yang

terlepas akan berikatan dengan 2,3,5 trifenil tetrazolium membentuk larutan formazan berwarna merah pada uji tetrazolium. Banyak sedikitnya pelepasan ion  $H^+$  dalam proses respirasi ini tergantung dari banyaknya siklus krebs yang terjadi selama proses respirasi, yang berarti pula tergantung pada cadangan makanan yang tersedia dalam benih. Semakin tinggi cadangan makan dalam benih maka semakin banyak energi yang tersedia saat dibutuhkan dalam proses perombakan cadangan makanan selama respirasi dan semakin banyak pula ion  $H^+$  yang dilepaskan sehingga saat direndam dalam larutan 2,3,5 trifenil tetrazolium akan semakin banyak formazan yang terbentuk. Formazan yang terbentuk pada jaringan benih yang hidup berupa pewarnaan berwarna merah cerah pada bagian poros embrio dan kotiledon. Bila pola pewarnaan menunjukkan pola pewarnaan seperti pada Gambar 1a mengindikasikan ion  $H^+$  yang dilepas semakin banyak, respirasi yang terjadi tinggi (mg  $CO_2$  yang terbentuk tinggi), cadangan makanan benih yang tersedia tinggi dan benih memiliki vigor yang tinggi.



Gambar 3. Hasil uji tetrazolium pada benih kacang panjang: a-c = germinabel dan d-f = non germinabel

Kriteria benih yang dikatakan germinabel pada penelitian ini adalah: a) seluruh embrio dan kotiledon berwarna merah merata, merah cerah, merah merah muda atau merah dengan bercak sedikit merah tua, dan b) <25% kotiledon tidak terwarnai (Gambar 3a-c), sedangkan kriteria non germinabel bila: a) >25% bagian kotiledon tidak terwarnai, dan b) poros embrio tidak terwarnai atau hanya sedikit poros embrio yang terwarnai (Gambar 3d-f). Berdasarkan Tabel 1 dan Tabel 2 dapat dilihat bahwa uji tetrazolium dan indeks vigor memiliki korelasi positif tinggi pada benih lot tinggi ( $r=0.79$ ) dan lot rendah ( $r=0.63$ ). Pada lot benih tinggi uji TTZ memiliki korelasi positif tinggi dengan tolok ukur daya berkecambah ( $r=0.76$ ) dan berat kering kecambah total ( $r=0.87$ ). Pada lot benih rendah uji TTZ memiliki korelasi positif dengan tolok ukur daya berkecambah ( $r=0.59$ ) dan berat kering kecambah total ( $r=0.72$ ). Hal ini sejalan dengan Afifah *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa kriteria normal kuat pada hasil uji TTZ memiliki korelasi positif tinggi dengan indeks vigor ( $r=0.88$ ), daya berkecambah ( $r=0.80$ ) dan BKKN-h6 ( $r=0.89$ ). Oleh karena itu pola pewarnaan pada kriteria normal kuat pada uji TTZ dapat digunakan untuk mengestimasi vigor dan viabilitas potensial pada benih botani bawang merah (Afifah *et al.*, 2020). Fatmawati *et al.* (2018) juga menyatakan bahwa pola pewarnaan pada uji TTZ berkorelasi dengan viabilitas potensial yaitu daya berkecambah. Pada benih kedelai uji *accelerated aging* tetrazolium, dan *cold test* dapat digunakan mengestimasi daya tumbuh di lapangan (Kulik dan Yaklich, 1982)

Banyak faktor yang dapat memengaruhi hasil pengujian TTZ dan hubungannya dengan daya berkecambah. Pengujian viabilitas dengan daya berkecambah dan secara biokimiawi dengan TTZ tidak akan berbeda secara nyata apabila (a) benih dalam kondisi tidak dorman maupun benih keras atau telah diperlakukan terlebih dahulu untuk mematahkan dormansi dan kekerasan benih, (b) benih yang digunakan tidak terinfeksi atau telah diberi disinfektan dengan tepat, (c) benih belum disemprot di lapangan maupun diberi perlakuan selama proses atau difumigasi selama penyimpanan dengan bahan kimia, (d) benih belum berkecambah, (e) benih belum mengalami kemunduran selama

pengujian perkecambahan dengan durasi normal atau diperpanjang dan (f) benih telah dikecambahkan dibawah kondisi optimal (BPMBTPH 2004; Leist 2004; ISTA 2010; Kramer 2010). Hasil percobaan yang dilakukan Sivasubramaniam dan Selvarani (2012) menunjukkan bahwa benih jamur yang memiliki embrio ganda, menyebabkan munculnya tiga kecambah per benih, dan pewarnaan TTZ pada *embryonic axis*, dengan bagian-bagian embrio lain (seperti kotiledon) yang tersisa tidak diwarnai sehingga hal ini dapat mengaburkan pembacaan data yang dihasilkan. Uji cepat secara biokimia menggunakan tetrazolium 1% digunakan sebagai metode uji mutu fisiologis benih damar dimana hasil uji TTZ memiliki nilai korelasi yang tinggi dengan perkecambahan dilapang. Oleh karena itu, Zanzibar dan Herdiana (2009) menggunakan metode uji cepat dengan TTZ untuk penyusunan tabel daya berkecambah benih damar.

Uji vigor benih saat ini dengan TTZ banyak dikembangkan dengan penilaian yang lebih ketat dibandingkan dengan uji TTZ untuk uji viabilitas. Pengembangan uji TTZ sebagai uji vigor dilakukan karena uji TTZ dapat mendeteksi kerusakan lebih dini pada embrio melalui pola warna yang tampak. Kerusakan dini pada embrio dapat menunjukkan terjadinya deteriorasi benih yang menyebabkan vigor menjadi turun. Hasil lain yang diperoleh pada percobaan ini adalah pada benih lot tinggi persentase daya berkecambahnya rendah dikarenakan oleh banyaknya benih dan kecambah yang busuk dan terserang cendawan (lot tinggi = 10.17% dan lot rendah = 20.50%). Hal ini dapat mengaburkan hasil penelitian yang sebenarnya seperti terlihat pada nilai korelasi antara berat kering kecambah total pada lot tinggi dan lot rendah terhadap nilai indeks vigor (lot tinggi  $r=0.50$ , lot rendah  $r=0.50$ ) dan daya berkecambah (lot tinggi  $r=0.40$ , lot rendah  $r=0.52$ ). Sehingga untuk mendapatkan hasil yang valid disarankan melakukan sterilisasi alat dan bahan terlebih dahulu sebelum menggunakan TTZ sebagai penduga viabilitas pada benih.

#### 4. Simpulan

Uji fisiologi dengan uji viabilitas (persentase indeks vigor, persentase daya berkecambah) dan vigor (berat kering kecambah total) pada benih kacang panjang lot tinggi dan lot rendah masing-masing memiliki korelasi yang positif tinggi dengan uji biokimia dengan uji tetrazolium dan respirasi. Demikian juga dengan uji respirasi terhadap uji tetrazolium memiliki korelasi positif tinggi dengan  $r=0.911$  pada lot tinggi dan  $r=0.592$  pada lot rendah. Lot benih tinggi dan lot benih rendah tidak berbeda secara nyata pada nilai indeks vigor, tingkat respirasi, dan daya berkecambah, namun berbeda nyata pada hasil uji TTZ dan BKKt. Uji biokimiawi melalui uji TTZ dan respirasi dengan metode titrasi dapat digunakan untuk mengestimasi viabilitas potensial benih.

#### Pustaka

- AOSA. 2005. *Tetrazolium Testing Handbook*. Las Cruces: Association of Official Seed Analysts.
- Afifah, N., Widajati, E. & Palupi E. R. 2020. Pengembangan uji tetrazolium sebagai metode analisis vigor benih botani bawang merah. *J. Hort. Indonesia*, 11 (2), 120-130.
- BPMBTPH. 2004. *Pengujian Mutu Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura: Laboratorium dan Metode Standar*. Depok: Balai Pengembangan Mutu Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura, Direktorat Perbenihan, Dirjen Bina Produksi Tanaman Pangan.
- Copeland, L. O. & McDonald, M. B. 2001. *Seed Science and Technology*. London: Kluwer Academic Press.
- Fatmawati, L. I., Suharsi, T. K. & Qadir, A. 2018. Uji tetrazolium pada benih kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC.) sebagai tolok ukur viabilitas.
- Gomez, K. A & Gomez, A. A. 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian* (ed 2). Penerjemah: E. Sjamsudin & J. S. Baharsjah. Jakarta: UI Press.
- ISTA. 2010. *International Rules for Seed Testing*. Switzerland: International Seed Testing Association.
- Jyoti & Malik, C. P. 2013. Seed deterioration (a review). *International Journal Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 2(3), 374-385.
- Kramer, S. 2011. Relationship between tetrazolium and germination tests. ISTA Annual Meeting, 13 Juni 2010.
- Kulik, M. M & Yaklich, R. W. 1982. Evaluation of vigor tests in soybean seeds : relationship of accelerated aging, cold, sand bench, and speed of germination tests to field performance. *Crop Sciences*, 22, 766-770.
- Leist, N. 2004. Seed vigour determination by means of the topographical tetrazolium test. Makalah dalam ISTA Seed Quality Assesment Training Organized by APSA, Hanoi, Vietnam, 22-26 November 2004.
- Priandoko, S. C. 2011. Pengujian benih di laboratorium. Diakses dari [http://distan.pemda-diy.go.id/distan11/index.php?option=com\\_content&view=article&id=8158:pengujian-benih-di-laboratorium&catid=41:artikel&Itemid=514](http://distan.pemda-diy.go.id/distan11/index.php?option=com_content&view=article&id=8158:pengujian-benih-di-laboratorium&catid=41:artikel&Itemid=514).
- Sivasubramaniam, K & Selvarani, K. 2012. Viability and vigor of jamun (*Syzygium cumini*) seeds. *Brazilian Journal of Botany*, 35(4), 397-400.
- Sulastrini. 1996. Laju respirasi dan metabolisme gula pada jagung manis. *Majalah Ilmiah Teknologi Pertanian*, 2(1), 15-17.
- Tatipata, A., Yudoyono, P., Purwantoro, A. & Mangoendidjojo, W. 2004. Kajian aspek fisiologi dan biokimia deteriorasi benih kedelai dalam penyimpanan. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 11(2), 76-87.
- Widajati, E. et al. 2013. *Dasar Ilmu dan Teknologi Benih*. Bogor: IPB Press.

- Zanzibar, M. 2009. Kajian metode uji cepat sebagai metode resmi pengujian kualitas benih tanaman hutan di Indonesia. *Jurnal Standardisasi, Badan Standardisasi Nasional*, 11(1), 38-45.
- Zanzibar, M & Herdiana, N. 2009. Akurasi metode uji cepat dalam menduga mutu fisiologis benih damar. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 7(4), 181-189