



Validasi Metode Pengujian Viabilitas Benih Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea* L) Menggunakan Uji Tetrazolium

Kacang tanah, kacang hijau, dan aneka kacang merupakan komoditas strategis karena permintaannya cukup besar setiap tahun, baik untuk pangan, pakan maupun industri. Beragamnya produk olahan berbahan baku kacang tanah mendorong tersedianya bahan baku yang cukup baik kualitas maupun kuantitasnya. Sasaran produksi tahun 2023 untuk kacang tanah adalah 371,730 ton, untuk mencapai sasaran tersebut, maka dilaksanakan berbagai kegiatan peningkatan produksi salah satunya melaksanakan penyediaan benih kacang tanah pada tahun 2023 untuk bantuan benih sebanyak 60 ton (Direktorat Akabi, 2021). Dalam penyediaan benih kacang tanah yang diperlukan untuk segera ditanam, uji laboratorium terutama uji viabilitas dapat dilakukan melalui uji cepat bio khemis antara lain uji tetrazolium.

Viabilitas benih adalah kemampuan benih untuk berkecambah pada kondisi yang optimum untuk perkecambahan. Pada umumnya viabilitas benih diuji melalui pengujian daya berkecambah, dimana pengujian ini memerlukan waktu yang cukup lama yaitu 5 sd 10 hari. Lamanya periode pengujian ini seringkali menjadi kendala dalam proses sertifikasi, dimana beberapa konsumen pengujian mengharapkan dapat memperoleh hasil pengujian yang lebih cepat namun tetap akurat. Uji tetrazolium (TZ) merupakan uji cepat viabilitas benih yang merupakan salah satu metode resmi ISTA, dapat digunakan untuk menentukan viabilitas benih secara cepat (± 2 hari) dibandingkan uji daya berkecambah (Balai Besar PPMBTPH, 2010).



Dalam Aturan ISTA Balai Besar PPMBTPH 2021, pelembaban dan pewarnaan benih dalam uji tetrazolium membutuhkan waktu masing-masing 18 jam. Proses ini tidak mudah diterapkan di laboratorium benih di Indonesia yang pada umumnya memiliki jam kerja mulai 07.30 sampai dengan 16.00.

Pada Tahun 2010 Balai Besar PPMBTPH telah melaksanakan pengembangan metode uji TZ kacang tanah dengan menggunakan tiga varietas Tuban, Bison dan Kancil, masing-masing varietas sebanyak 2 lot dengan nilai daya berkecambah (DB) antara 60 s.d 92%, dan hasil yang diperoleh adalah perlakuan yang dapat menggantikan P0 sebagai metode baku yaitu pelembaban 18 jam, pewarnaan 18 jam, konsentrasi 2,3,5-triphenyl tetrazolium clorida/bromida (TZ) 1%, adalah P2 (pelembaban 18 jam, pewarnaan 24 jam, konsentrasi TZ 1%), dan P3 (pelembaban 18 jam, pewarnaan 24 jam, konsentrasi TZ 0.5%). Berdasarkan hasil pengembangan metode tersebut pada tahun 2023 dilanjutkan dengan validasi metode yang bertujuan membuktikan metode uji TZ dengan pelembaban 18 jam, pewarnaan 24 jam, dan konsentrasi TZ 0.5% merupakan metode viabilitas yang valid untuk dipalikasikan serta, pendugaan nilai daya berkecambah benih kacang tanah dengan uji tetrazolium melalui uji banding antar analis Balai Besar PPMBTPH dan uji banding di beberapa laboratorium penguji BPSB di Indonesia. Kegiatan validasi metode diawali dengan tahapan uji banding antar analis sekaligus bertujuan untuk seleksi bahan uji, menggunakan metode perlakuan pelembaban 18 jam, pewarnaan 24 jam, konsentrasi TZ 0.5%, lalu dilanjutkan dengan uji reproduibilitas tersebut dengan melibatkan 10 BPSB. Dipilihnya perlakuan pelembaban 18 jam, pewarnaan 24 jam, konsentrasi



TZ 0.5% karena lebih efektif dan efisien untuk diterapkan oleh laboratorium pengujian.

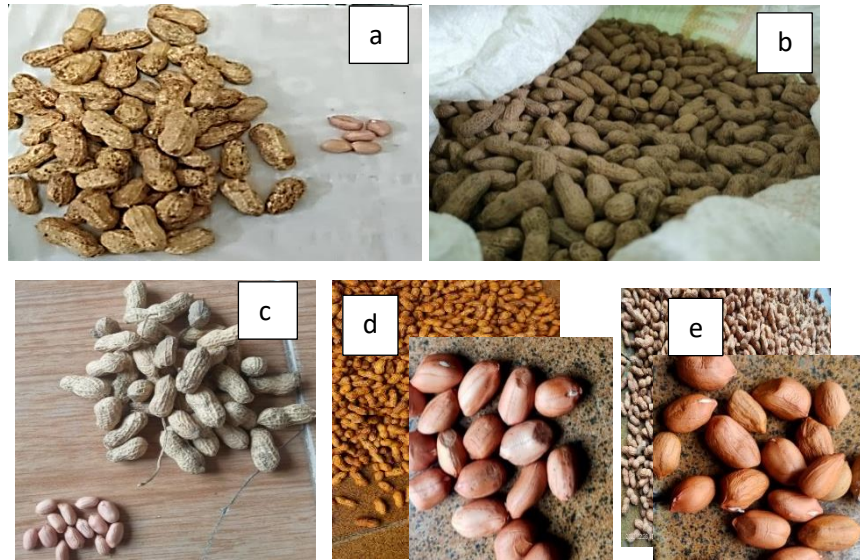
Tujuan dari kegiatan validasi metode ini adalah membuktikan metode uji TZ dengan kelembaban 18 jam, pewarnaan 24 jam, dan konsentrasi TZ 0.5% merupakan metode viabilitas yang valid untuk dipalikhaskan serta, pendugaan nilai daya berkecambah benih kacang tanah dengan uji tetrazolium melalui uji banding antar analisis Balai Besar PPMBTPH dan uji banding di beberapa laboratorium pengujian BPSB di Indonesia.

Kegiatan ini dilaksanakan mulai bulan Januari sampai dengan Desember 2023 di Balai Besar PPMBTPH sebagai penyelenggara serta 10 laboratorium pengujian Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih. Terdiri dari laboratorium pengujian BPSB Provinsi Lampung, Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Daerah Istimewa Yogyakarta, Jawa Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, Sulawesi Selatan, dan Nusa Tenggara Barat.

Tahapan pelaksanaan kegiatan adalah sebagai berikut:

1. Persiapan contoh benih/bahan uji

Benih kacang tanah sebanyak 7 (tujuh) lot terdiri dari tiga varietas yaitu Situraja DM1 (panen bulan Maret 2023) berasal dari Jawa Barat, Hypoma 1 lot A (panen bulan Juni 2023) Hypoma lot B dan C (panen bulan Agustus 2023) dari Jawa Timur serta Jerapah (panen Bulan Agustus 2023), berasal dari penangkar DI. Yogyakarta. Kondisi bahan uji tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Kondisi fisik bahan uji benih kacang tanah varietas Jerapah (a), Situraja DM1(b), Hypoma 1 lot A (c), lot B (d) dan lot C (e).

2. Seleksi Lot bahan uji sekaligus uji banding antar analisis/ uji repeatabilitas di laboratorium Balai Besar PPMBTPH.

- Seleksi dilakukan pada 7 (tujuh) lot benih kacang tanah yang bertujuan memperoleh bahan uji dengan tingkat viabilitas yang biasa diuji oleh laboratorium penguji BPSB.
- Uji repeatabilitas/uji banding antar analisis menggunakan uji TZ dengan metode pelembaban yaitu merendam benih kacang tanah selama 18 jam pada suhu 20°C, selanjutnya pewarnaan dengan merendam benih dalam larutan 2,3,5-triphenyl tetrazolium clorida/bromida (TZ) dengan konsentrasi 0,5% selama 24 jam pada suhu 30 °C.



3. Penyiapan bahan uji dan sarana pengujian untuk validasi metode/ uji reproduibilitas

Bahan uji dari setiap lot yang digunakan dilakukan uji homogenitas, untuk memastikan kehomogenan bahan uji validasi sebelum digunakan. Selanjutnya dilakukan pengemasan dengan menggunakan almunium foil dan kodefikasi, seperti yang tersaji pada Gambar 2.

Laboratorium peserta menerima 5 (lima) kemasan bahan uji, bahan kimia terdiri dari tetrazolium dan bufer fosfat serta petunjuk pelaksanaan pengujian. Setiap laboratorium melaksanakan uji TZ dan DB dan melaporkan hasilnya sesuai waktu yang ditetapkan.



Gambar 2. a. Proses pencampuran/homogenisasi, b. penimbangan, c. pemberian kodefikasi d. Pengemasan, e. bahan uji dan juklak dimasukkan dalam kardus dan f. bahan uji siap didistribusikan.



4. Uji reproduibilitas oleh laboratorium peserta

Setiap laboratorium peserta melakukan pengujian tetrazolium (TZ) dan daya berkecambah (DB) dengan prosedur sebagai berikut:

Pengujian TZ:

a. Pembuatan larutan:

Larutan buffer berfungsi sebagai penyangga sehingga larutan TZ yang dihasilkan akan memiliki pH 6,5 – 7,5.

Pembuatan larutan buffer sebagai berikut:

- Melarutkan 9,078 g KH_2PO_4 dalam 1000 ml air destilata
- Melarutkan 9,472 g Na_2HPO_4 dalam 1000 ml air destilata atau Melarutkan 11.876 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pada 1000 ml air destilata.
- Mencampurkan dua bagian larutan pertama dengan 3 bagian larutan, kemudian periksa pH nya, hingga pH menunjukkan 6,5 – 7,5. Konsentrasi larutan TZ yang digunakan adalah 1%.

b. Pelembaban benih

- Jumlah contoh kerja 400 butir (@ 100 butir per ulangan).
- Mengupas benih dari kulit polongnya kemudian direndam dalam air sebagai sarana pelembaban. Pelembaban dilakukan dengan merendam benih kacang tanah selama 18 jam pada suhu 20°C.

c. Pewarnaan

- Setelah benih dilembabkan selama 18 jam, selanjutnya benih dikupas testanya hingga benih dapat dipisahkan menjadi dua bagian.



- Bagian yang direndam dalam larutan tetrazolium adalah bagian benih yang ada poros embrionya. Perendaman dalam larutan 2,3,5-triphenyl tetrazolium clorida/bromida (TZ) dengan konsentrasi 0,5% selama 24 jam pada suhu 30 °C dengan dimasukkan pada inkubator khusus untuk pewarnaan bahan uji pada uji TZ.
 - Setelah pewarnaan benih dibilas dengan air mengalir sampai larutan TZ menghilang.
- d. Evaluasi

Pada saat evaluasi benih diamati seluruh permukaan baik embrio maupun kotiledon benih. Maksimum area yang diperbolehkan tidak terwarnai 1/3 radikula, 1/3 distal kotiledon, dan 1/2 jika hanya tampak di permukaan. Selama proses pengamatan benih harus tetap lembab.

Pengujian DB :

Jumlah contoh kerja 200 butir (8 ulangan x 25 butir atau 4 ulangan x 50 butir). Menggunakan media pasir dengan suhu perkecambahan $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Waktu evaluasi ke-I dilakukan pada hari ke 5 dan evaluasi ke-II pada hari ke-10. Jika pada evaluasi ke-II, perkecambahan masih belum optimal (masih ada beberapa benih yang mulai berkacambah), maka waktu pengujian diperpanjang sd 7 hari. Kriteria kecambah normal, dan abnormal sesuai dengan aturan *ISTA Rules*.

Hasil kegiatan

1. Seleksi Lot Dan Uji Homogenitas Bahan Uji

- **Hasil Seleksi** dari 7 (tujuh) lot yang telah diuji mutunya melalui uji banding antar analisis terseleksi sebanyak sebanyak 5 (lima) lot sebagai



bahan uji validasi dengan 3 (tiga) tingkat viabilitas : < 60% (Situraja DM1); 80 sd 90% (Hypoma 1 lot A) ; dan 91 sd 100% (Jerapah, Hypoma lot B dan lot C). Hasil seleksi lot bahan uji tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil seleksi 7 (tujuh) lot benih kacang tanah

No.	Varietas	KA (%)	DB (%)	TZ (%)	Hasil Seleksi
1	Situraja DM1 lot A	8,2	60	57	√
2	Situraja DM1 lot B	7,8	44	30	x
3	Siruraja DM 1 lot C	9,1	37	30	x
4	Hypoma 1 lot A	6,3	91	85	√
5	Hypoma 1 lot B	7,6	98	99	√
6	Hypoma 1 lot C	7,0	98	98	√
7	Jerapah	7,2	99	98	√

Keterangan: √ : digunakan sebagai bahan uji; x : tidak digunakan sebagai bahan uji.

- **Hasil uji homogenitas** yang dilakukan sebelum bahan uji dikirim ke peserta menunjukkan bahwa kelima lot bahan uji yang terdiri dari varietas Situraja DM1, Hypoma 1 dan Jerapah tersebut signifikan tidak heterogen sehingga dapat digunakan sebagai bahan uji validasi.

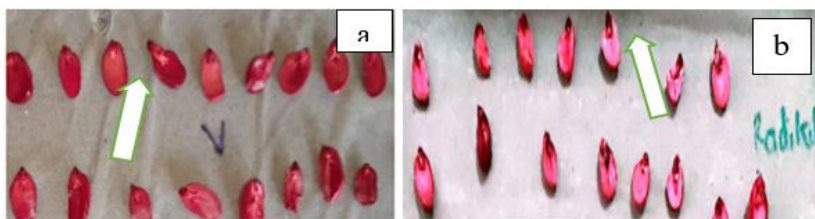
2. Pola Perwarnaan Uji TZ

Pola pewarnaan yang dijadikan acuan untuk mengevaluasi hasil uji TZ baik pada uji banding antar analis maupun uji banding antar laboratorium peserta validasi adalah selain berdasarkan *ISTA Working Sheet on Tetrazolium Testing (2023)*, juga berdasarkan hasil observasi deteksi pola pewarnaan yang dibandingkan dengan hasil uji DB sebelum pelaksanaan validasi. Pola pewarnaan hasil observasi yang digunakan untuk menetapkan



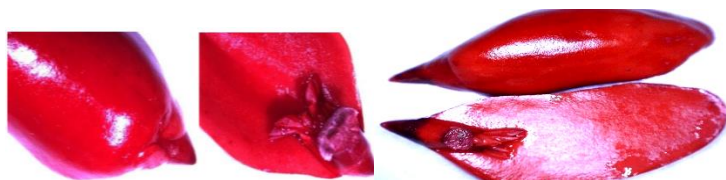
kategori benih viabel dan non viabel adalah sebagai berikut:

- a) Warna merah muda (pink) pada bagian embrio baik pada radikula maupun plumula (Gambar 3), maka benih masih dalam kategori viabel;
- b) Warna coklat cenderung hitam pada lebih dari $\frac{1}{3}$ bagian radikula maupun plumula maka benih dikategorikan non viabel.

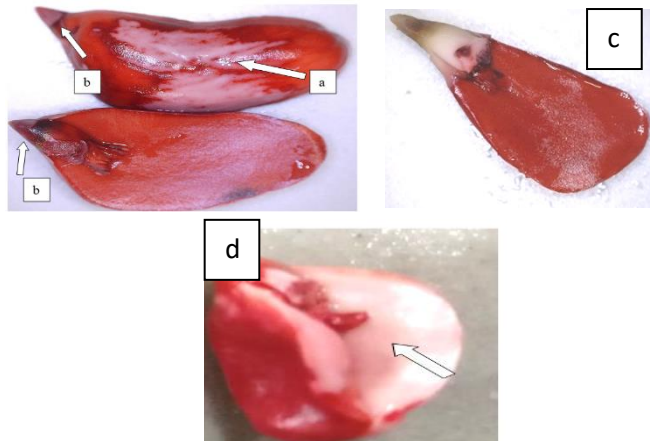


Gambar 3. Pola pewarnaan merah muda/pink pada plumula (a) dan coklat cenderung hitam pada radikula (b).

Sedangkan pola pewarnaan berdasarkan *ISTA Working Sheet on Tetrazolium Testing (2023)* adalah kategori untuk benih viabel jika maksimal bagian embrio yang tidak terwarnai adalah $\frac{1}{3}$ radikula, $\frac{1}{3}$ area distal kotiledon, dan $\frac{1}{2}$ jika hanya tampak di permukaan. Gambar 4 dan 5 menyajikan pola pewarnaan kategori viabel dan non viabel pada benih kacang tanah (*Arachis hypogaea*).



Gambar 4. Benih kategori viabel seluruh bagian embrio berwarna merah



Gambar 5a. Benih non viabel: a. lebih dari $\frac{1}{2}$ kotiledon tidak terwarnai pada bagian permukaan; b. lebih dari $\frac{1}{3}$ radikula tidak terwarnai; c. radikula tidak terwarnai dan, d. kotiledon tidak terwarnai.

3. Uji Antar Analisis /Uji Repeatabilitas

Hasil uji banding antar analisis seperti yang tersaji pada Tabel 2, menunjukkan varietas Hypoma 1 yang terdiri dari 3 lot dan Jerapah 1 lot memiliki rerata selisih yang lebih rendah antara hasil uji TZ dan DB dengan kisaran 1-4% dibandingkan varietas Situraja DM 1 dengan daya berkecambah < 60%, memiliki selisih yang cukup besar antara hasil uji TZ dan DB yaitu sekitar 6%. Hal ini ditunjukkan pada pola pewarnaan pada varietas hypoma 1 dan Jerapah sebagian besar bagian embrio berwarna merah sedangkan pada varietas Situraja DM 1, menunjukkan pola pewarnaan yang beragam seperti bagian radikula tidak terwarnai atau coklat cenderung hitam begitu pula dengan bagian plumula dengan batas lebih dari $\frac{1}{3}$ bagian. Selain itu juga bagian permukaan kotiledon > $\frac{1}{2}$, sehingga menyulitkan dalam evaluasi.

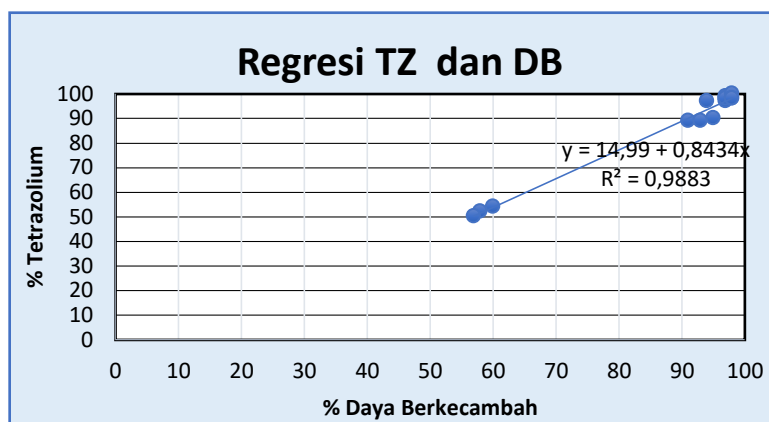


Tabel 2. Hasil uji TZ dan DB tiga analisis Balai Besar PPMBTPH menggunakan lima lot bahan uji dengan varietas Situraja DM 1, Jerapah dan Hypoma 1

Kode Analisis	Situraja DM1 Lot A			Jerapah			Hypoma 1								
	TZ	DB	S	TZ	DB	S	Lot A			Lot B			Lot C		
1	60	54	6	98	100	2	95	90	5	97	99	2	98	99	1
2	58	52	6	98	98	0	91	89	2	97	98	1	94	97	3
3	57	50	7	98	99	1	93	89	4	98	97	1	97	98	1
Rerata	58	52	6	98	99	1	93	89	4	97	98	1	96	98	2

Keterangan: TZ : hasil uji tetrazolium; DB: hasil uji daya berkecambah; S: selisih.

Hasil pengujian 3 analisis Balai Besar PPMBTPH, selanjutnya dianalisis untuk mendapatkan nilai regresi (r) dan dibuat grafik untuk mendapatkan persamaan dan nilai diterminasinya (R^2). Hasil pengujian menunjukkan nilai $r = 0,9942$ dan $y = 14,99 + 0,8434x$ dengan $R^2 = 0,9883$ (Gambar 6).



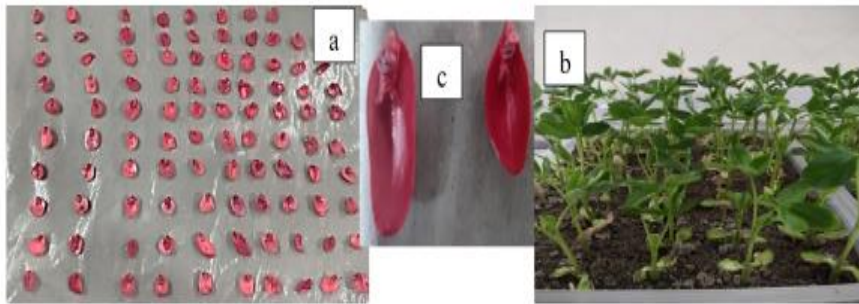
Gambar 6. Grafik hasil regresi uji daya berkecambah dan tetrazolium pada uji banding antar analisis.

Tingginya nilai regresi ($r = 0,9942$), kemungkinan dikarenakan sebelum uji banding dilakukan observasi terlebih dahulu untuk menyamakan interpretasi pola pewarnaan diantara analisis dalam

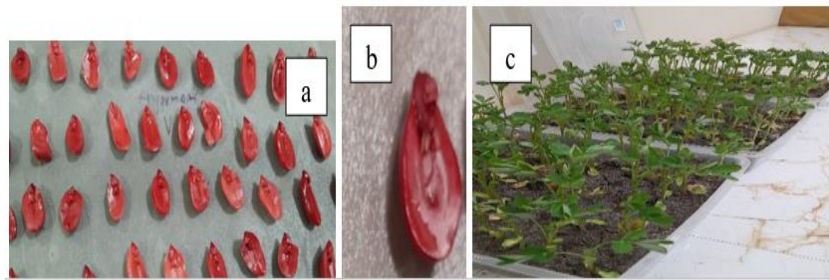


menetapkan kategori viabel dan non viabel melalui indentifikasi pola pewarnaan hasil uji TZ. Hasil obsevasi ini (Gambar 3) juga menjadi acuan saat uji banding antar laboratorium melalui pendampingan ke laboratorium peserta validasi.

Pola pewarnaan hasil uji tetrazolium pada hasil uji banding antar analis Balai Besar PPMBTPH tersaji pada Gambar 7.



Gambar 7a. Performa pola pewarnaan hasil uji tetrazolium (a: viabel dan b: non viabel) dan c. perkecambahan benih kacang tanah Varietas Hypoma 1 dengan viabilitas 98%.



Gambar 7b. Performa pola pewarnaan hasil uji tetrazolium (a: viabel dan b: non viabel) dan perkecambahan benih kacang tanah varietas Jerapah dengan viabilitas 99 % (c).



Gambar 7c. Performa pola pewarnaan hasil uji tetrazolium (a) dan perkecambahan benih kacang tanah varietas Situraja DM 1 dengan viabilitas 44 % (b).

4 Uji Antar Laboratorium/Uji Reprodusibilitas

Rata-rata selisih hasil uji TZ dengan DB pada uji banding antar laboratorium seperti tersaji pada Tabel 3, untuk varietas Hypoma 1 lot A (dengan DB 80 sd 90%); Jerapah, serta Hypoma lot B dan lot C (dengan DB sekitar 91 sd 100%), cukup rendah yaitu sekitar 3-7% dibandingkan varietas Situraja DM1 lot A dengan level DB <60% yaitu 26%. Begitu pula pada hasil anova yang dilanjutkan uji BNT dengan Fisher's LSD terdapat beda nyata antara hasil uji TZ dan DB pada bahan uji Situraja DM 1 yang memiliki tingkat viabilitas < 60% (Tabel 4). Hal ini kemungkinan dikarenakan bahan uji dengan viabilitas tinggi memiliki variasi pola pewarnaan yang lebih seragam, sehingga memudahkan analisis dalam proses evaluasi uji TZ dibandingkan bahan uji dengan tingkat viabilitas yang lebih rendah yaitu sekitar <60%, begitu pula dengan bahan uji yang memiliki tingkat viabilitas <70% secara teori memiliki hasil pola pewarnaan yang beragam. Selain itu makin tinggi viabilitas benih seperti pada varietas Hypoma 1 dan Jerapah, selisih uji DB dan TZ makin kecil sehingga juga



akan meningkatkan kemudahan dalam menilai kecambah normal dan abnormal.

Tabel 3. Hasil uji TZ dan DB di sepuluh laboratorium peserta BPSB

Kode Lab Peserta	Situraja DM1 Lot A			Jerapah			Hypoma 1								
							Lot A			Lot B			Lot C		
	TZ	DB	S	TZ	DB	S	TZ	DB	S	TZ	DB	S	TZ	DB	S
1	47	67	20	98	99	1	94	88	6	99	97	2	97	95	2
2	49	77	28	94	89	5	78	81	3	94	89	5	94	84	10
3	62	76	14	100	100	0	96	96	0	99	99	0	100	99	1
4	62	13	49	99	93	6	93	77	16	98	79	19	100	84	16
5	53	36	17	99	97	2	92	93	1	96	99	3	96	97	1
6	51	42	7	99	97	2	88	84	4	97	95	2	95	91	4
7	51	35	16	92	90	2	84	71	13	96	68	28	93	85	8
8	56	36	20	98	100	2	90	83	7	99	96	3	99	90	9
9	50	40	10	95	91	4	91	85	6	88	91	-2	94	95	1
10	49	31	18	100	96	4	94	92	2	100	97	3	99	86	13
Rerata	53	45	26	97	95	3	90	85	6	97	91	7	97	91	7

Keterangan: TZ : hasil uji tetrazolium; DB: hasil uji daya berkecambah; S: selisih.

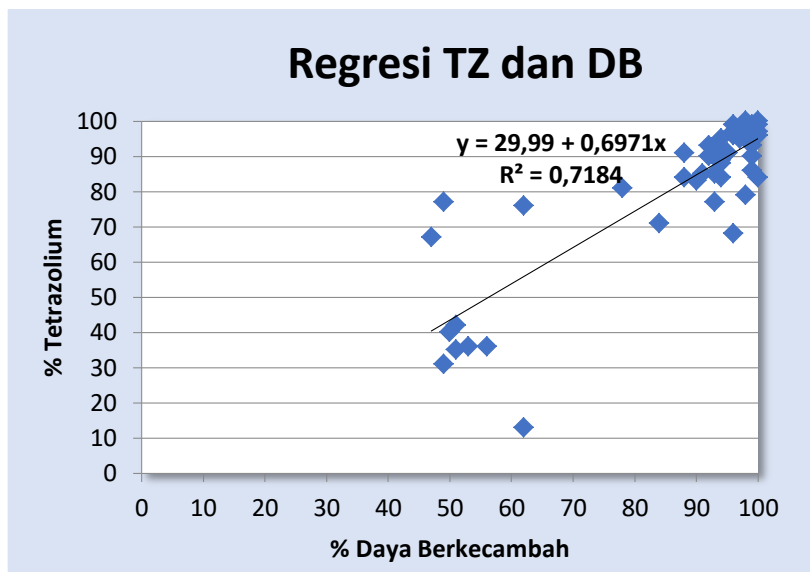
Tabel 4. Perbedaan hasil uji tetrazolium dan daya berkecambah pada uji banding antar laboratorium

No.	Varietas	Tingkat viabilitas	
		Hasil uji TZ	Hasil uji DB
1	Situraja DM1 lot A	53,0 c	45,3 d
2	Hypoma 1 lot A	90,0 ab	85,0 b
3	Hypoma 1 lot B	96,6 a	91,0 ab
4	Hypoma 1 lot C	96,7 a	90,6 ab
5	Jerapah	97,4 a	95,2 a

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata dengan Fisher's LSD dengan taraf nyata 5%.



Berdasarkan hasil regresi kelima bahan uji dari 10 laboratorium peserta validasi diperoleh nilai regresi (r) sebesar $r = 0,84757$ dan $R^2 = 0,7184$ dengan persamaan $y = 29,99 + 0,6971x$ (Gambar 8). Nilai r yang cukup tinggi, serta perbedaan antara hasil uji TZ dan daya berkecambah yang rendah menunjukkan bahwa uji TZ dapat diterapkan sebagai alternatif metode uji cepat viabilitas benih kacang tanah.



Gambar 8. Grafik hasil regresi uji daya berkecambah dan tetrazolium pada uji banding antar laboratorium BPSB.

Rendahnya tingkat viabilitas bahan uji yang digunakan (Situraja DM1 lot A dengan viabilitas <60%) berpengaruh terhadap hasil uji TZ antar laboratorium hal ini diperkuat dengan persentase laboratorium yang toleran lebih kecil (30%) dibandingkan dengan pengujian TZ yang menggunakan bahan uji dengan tingkat viabilitas lebih tinggi (Hypoma 1 lot A dengan viabilitas 80 sd 90%; Jerapah, serta Hypoma lot B dan lot C



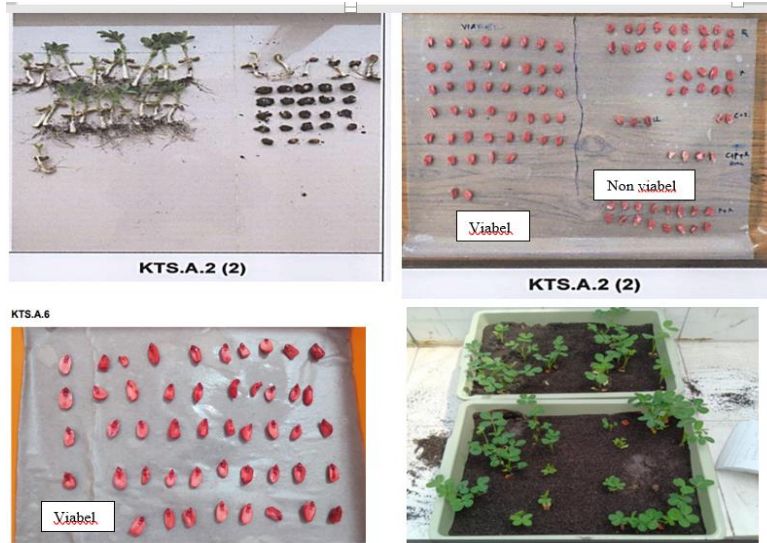
dengan viabilitas 91 sd 100%) memiliki persentase toleransi yang lebih besar yaitu sekitar 90 – 100%, seperti yang tersaji pada Tabel 5. Pengecekan toleransi dilakukan menggunakan Tabel 6D pada Aturan ISTA 2021 dengan nilai viabilitas acuan dari hasil uji viabilitas Balai Besar PPMBTPH.

Tabel 5. Hasil toleransi uji viabilitas dengan tetrazolium antara lab peserta validasi dengan lab Balai Besar PPMBTPH sebagai nilai acuan.

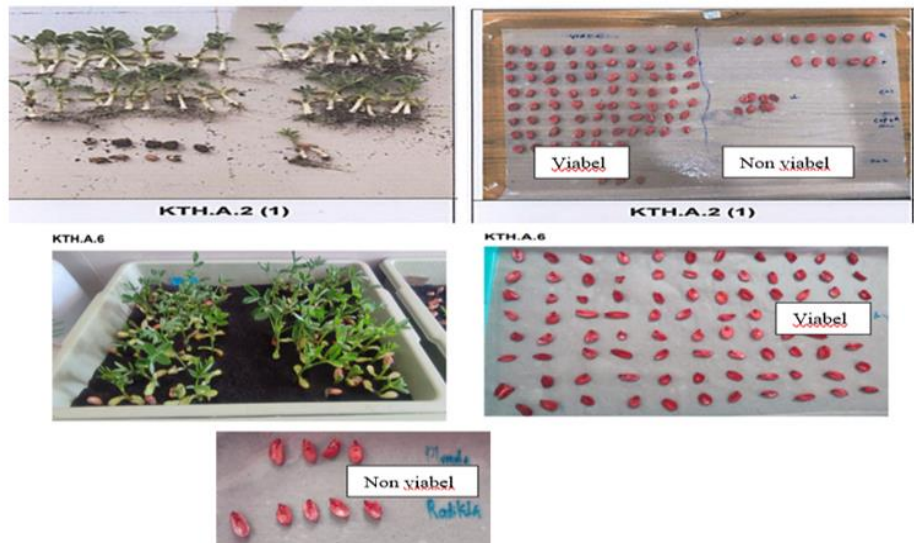
Kode Lab	Situraja DM1 Lot A				Jerapah				Hypoma 1												
									Lot A				Lot B				Lot C				
	TZ	TZ A	S	Tol	TZ	TZ A	S	Tol	TZ	TZ A	S	Tol	TZ	TZ A	S	Tol	TZ	TZ A	S	Tol	
1	47	33	14	T	98	97	1	T	94	86	8	T	99	95	4	T	97	96	1	T	
2	49		16	T	94		3	T	78		8	T	94		1	T	94		2	T	
3	62		29	TL	100		3	T	96		10	TL	99		4	T	100		4	T	
4	62		29	TL	99		2	T	93		7	T	98		3	T	100		4	T	
5	53		20	TL	99		2	T	92		6	T	96		1	T	96		0	T	
6	51		18	TL	99		2	T	88		2	T	97		2	T	95		1	T	
7	51		18	TL	92		5	T	84		2	T	96		1	T	93		3	T	
8	56		23	TL	98		1	T	90		4	T	99		4	T	99		3	T	
9	50		17	TL	95		2	T	91		5	T	88		7	T	94		2	T	
10	49		16	T	100		3	T	94		8	T	100		5	T	99		3	T	
% toleransi				30				100					90				100				100

Keterangan: TZ : % hasil uji tetrazolium; TZA: % Hasil uji tetrazolium acuan (Balai Besar PPMBTPH); S: selisih; Tol: nilai toleransi; T: toleran; TL: tidak toleran

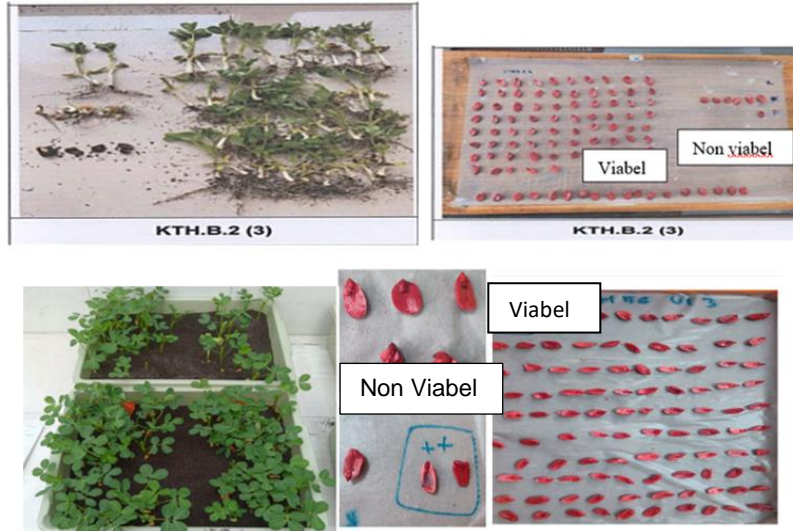
Beberapa performa pewarnaan hasil uji tetrazolium dan perkecambahan pada hasil uji banding antar laboratorium pengujian tersaji pada Gambar 9.



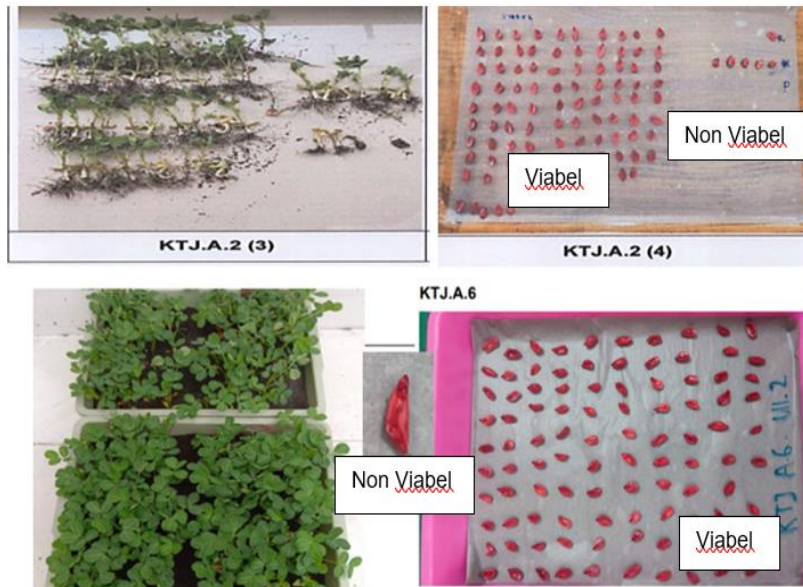
Gambar 9a. Pola pewarnaan uji TZ dan performa pengkecambahan varietas Situraja DM 1 lot A (KTS.A)



Gambar 9b. Pola pewarnaan uji TZ dan performa pengkecambahan pada Hypoma 1 lot A (KTH.A)



Gambar 9c. Pola pewarnaan uji TZ dan performa pengkecambahan pada Hypoma 1 lot B (KTH.B)



Gambar 9e. Pola pewarnaan uji TZ dan performa pengkecambahan pada Jerapah (KTH.J).



5. Pendampingan Saat Pengamatan Uji Tetrazolium Pada Uji Banding Antar Laboratorium

Pendampingan saat pengamatan uji TZ di laboratorium peserta uji banding dilakukan terutama pada bahan uji Situraja DM1 lot A dan Hypoma 1 lot A, yang berdasarkan hasil observasi memiliki pola pewarnaan yang lebih beragam sehingga membutuhkan persamaan interpretasi dalam evaluasi pola pewarnaan.

Selama pendampingan terdapat beberapa kendala yang timbul saat pengujian TZ di laboratorium peserta, sehingga perlu dilakukan uji ulang. Kendala tersebut antara lain:

- a. Jumlah contoh kerja 400 butir (4 ulangan x 100 butir), tetapi jumlah butir per ulangan tidak 100 butir (jumlah benih hilang atau bertambah lebih dari 5 butir).
- b. Kisaran toleransi maksimum antar empat ulangan tidak memenuhi.
- c. Pembuatan larutan tetrazolium dengan konsentrasi tidak 0,5% (harusnya 5 gram 2,3,5-triphenyl tetrazolium clorida/bromida (TZ) dilarutkan pada 1liter larutan buffer tetapi yang digunakan hanya 0,5 gram), sehingga menimbulkan pola pewarnaan yang pucat, yang menyulitkan evaluasi.

Selain itu terdapat faktor-faktor dalam pengujian viabilitas yang dapat mempengaruhi hasil pengujian antara lain:

1. Kondisi lingkungan pengujian yang kurang mendukung, seperti kurangnya cahaya yang diperlukan terutama saat evaluasi uji TZ.



2. Pengecekan pH media daya berkecambah yang harus dilakukan sebelum pengujian.

Dokumentasi pendampingan pengujian viabilitas ke laboratorium peserta dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10a. Pendampingan pelaksanaan uji TZ di laboratorium pengujian BPSB Jabar



Gambar 10b. Pendampingan pelaksanaan uji TZ di laboratorium pengujian BPSB Lampung

Hasil uji TZ dari laboratorium peserta setelah dilakukan Analisa data membuktikan pengujian tetrazolium (dengan pelembaban 18 jam, pewarnaan 24 jam, dan konsentrasi TZ 0.5%), memiliki koefisien regresi yang baik ($r = 0,84757$), dengan pengujian daya berkecambah sehingga uji tetrazolium dapat diterapkan sebagai alternatif metode uji cepat dalam mengetahui viabilitas benih kacang tanah. Laboratorium BPSB telah mampu melaksanakan pengujian TZ pada benih kacang tanah,



namun diperlukan peningkatan kemampuan dan pengalaman yang cukup bagi analis untuk mampu melaksanakan uji tetrazolium yang tepat untuk hasil uji yang akurat. Dan apabila diperlukan uji cepat viabilitas dengan metode TZ dalam proses pengujian benih, maka benih dengan hasil uji TZ $\geq 80\%$ dapat diketahui potensi daya berkecambah lot benih tersebut tinggi, tetapi apabila hasil uji TZ $<70\%$, maka diperlukan verifikasi melalui uji daya berkecambah untuk mengetahui viabilitas lot benih yang diuji.