

**Pengembangan Metode Uji Tetrazolium dengan Sensor *Infra red* sebagai Uji Viabilitas pada Benih Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.)**

***Development of Tetrazolium Test Method with Infrared Sensor for Viability Testing in Peanut (*Arachis hypogea* L.) Seeds***

**Eny Widajati<sup>1\*</sup>, Yohanda Ansella<sup>1</sup>, Ade Muhamad Dahlan<sup>2</sup>, Trisno Yuwono Putro<sup>2</sup>, Ervin Masitadewi<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor (IPB University),  
Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

<sup>2</sup>Teknik Elektro, Politeknik Negeri Bandung (Polban), Jalan Gegerkalong Hilir, Parongpong,  
Bandung Barat 40559, Indonesia

\*Penulis Korespondensi: [eny\\_widajati@apps.ipb.ac.id](mailto:eny_widajati@apps.ipb.ac.id)

Disetujui: 2 Maret 2024 / *Published Online* Mei 2024

**ABSTRACT**

*Seed viability testing using tetrazolium test is by determining the level of red color formed in the seed. The red color is formed from the activity of the dehydrogenase enzyme in the trichloroacetic acid cycle. Determining the level of red color can use an infra red sensor tool. This study aimed to test infra red sensor tools to determine the intensity of color quantitatively in the tetrazolium test and determine the correlation of infra red sensor tools with physiological seed testing. The experiment was prepared using a complete randomized block design with a single factor namely the seed viability level based on germination percentages of 78.9%, 70.7%, and 40.0% respectively. The results showed that applying an infra red intensity sensor for the tetrazolium test on peanut seeds produced a correlation coefficient (r) of 0.62 between the red RGB value of the inner part of the cotyledons (Rd) and normal seedling.*

*Keywords: cotyledons, dehydrogenase enzyme, germination percentage, RGB, seed physiological quality*

**ABSTRAK**

Pengujian viabilitas benih menggunakan uji tetrazolium merupakan salah satu metode penentuan viabilitas benih dengan mengevaluasi tingkat warna merah yang terbentuk pada benih. Warna merah terbentuk dari aktivitas enzim dehidrogenase pada siklus *trichloroacetic acid*. Penentuan tingkat warna merah pada benih ini dapat menggunakan alat sensor *infra red*. Penelitian ini bertujuan menguji alat sensor *infra red* untuk menentukan intensitas warna secara kuantitatif dalam uji tetrazolium serta menentukan korelasi alat sensor *infra red* dengan pengujian benih secara fisiologis. Percobaan disusun menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak dengan faktor tunggal yaitu tingkat viabilitas benih berdasarkan daya berkecambah masing-masing adalah 78.9%, 70.7% dan 40.0 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi sensor intensitas *infra red* untuk uji tetrazolium pada benih kacang tanah menghasilkan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0.62 antara nilai RGB merah bagian dalam kotiledon (Rd) dengan kecambah normal.

Kata kunci: daya berkecambah, enzim dehidrogenase, kotiledon, mutu fisiologis benih, RGB

## PENDAHULUAN

Pengujian viabilitas benih dapat dilakukan dengan uji tetrazolium, menggunakan 2,3,5 trifenil tetrazolium klorida yang mendeteksi suatu benih termasuk benih hidup atau benih mati dengan berbasis respirasi dengan bantuan enzim dehidrogenase (Copeland dan McDonald, 2001). Proses reduksi akan terjadi ketika larutan tetrazolium di imbibisi oleh benih ke dalam sel-sel hidup dengan bantuan enzim dehidrogenase sehingga akan terbentuk endapan formazan berwarna merah. Endapan tersebut dapat mengindikasikan bahwa benih yang diuji memiliki embrio yang hidup dan diprediksikan akan tumbuh menjadi kecambah normal. Jaringan mati di dalam benih yang diuji tidak akan terjadi proses reduksi sehingga warna jaringan benih yang diuji dengan tetrazolium tidak akan berubah warna.

Uji tetrazolium mempunyai beberapa kelebihan meliputi waktu pengujian yang singkat, sangat tepat diaplikasikan pada benih yang mengalami dormansi serta benih yang mengalami pemasakan lanjutan (*after ripening*), sedangkan kelemahannya memerlukan keahlian dan pelatihan yang intensif, bersifat laboratoris, mahal, tidak dapat mendeteksi kerusakan akibat fungi atau mikrobia lainnya dan bersifat destruktif. Uji tetrazolium juga telah menjadi uji vigor pada benih kedelai (ISTA, 2018). Pengujian viabilitas lainnya yang juga singkat yaitu metode *radicle emergence* (RE) dengan cara menghitung persentase radikula yang muncul minimal 2 mm pada waktu tertentu. Pada benih tomat (Nurviati dan Budiman, 2023) metode *radicle emergence* diamati pada 114 jam setelah tanam pada suhu  $25 \pm 1$  °C. Hasil uji RE berkorelasi positif dengan viabilitas benih (daya berkecambah dan berat kering kecambah normal) maupun vigor benih (indeks vigor, kecepatan tumbuh, dan daya tumbuh). Aplikasi citra digital untuk pengembangan metode RE dalam upaya deteksi viabilitas benih dilakukan oleh Arrofi *et al.* (2023) pada benih terung. Hasil pengujian menunjukkan persentase jumlah pertumbuhan radikula berkorelasi kuat dengan tolak ukur indeks vigor, kecepatan tumbuh dan daya tumbuh lapang pada kategori panjang radikula  $\geq 1$  mm (92 jam  $\pm$  15 menit),  $\geq 2$  mm (104 jam  $\pm$  15 menit) serta  $\geq 50\%$  panjang benih (104 jam  $\pm$  15 menit) dengan suhu 27.8 °C

Pembentukan warna merah pada uji tetrazolium bervariasi antar spesies. Penelitian Carvalho *et al.* (2017) pada benih padi menunjukkan bahwa perendaman tetrazolium selama 0.5 jam

dengan konsentrasi 0.1% menghasilkan warna yang masih pudar, pewarnaan akan lebih jelas pada perendaman 2 jam. Konsentrasi 0.1%, 0.25% dan 0.5% memberikan hasil pewarnaan yang sama dengan konsentrasi 1% pada lama perendaman 1 dan 2 jam. Perendaman pada suhu 35 °C pewarnaan yang optimum diperoleh pada lama perendaman 2,3, dan 4 jam, jika menggunakan suhu 40 °C hanya dibutuhkan waktu 1 jam. Carvalho *et al.* (2017) merekomendasikan pengujian tetrazolium benih padi menggunakan konsentrasi 0.25%, lama perendaman 1 jam. Lema dan palea dihilangkan, kemudian di imbibisi selama 1 jam pada suhu 40 °C sebelum proses pewarnaan.

Uji cepat tetrazolium memberikan informasi viabilitas benih sehingga dapat dijadikan alternatif pengujian untuk mendapatkan informasi viabilitas benih cabai secara cepat (Eviliani, 2016). Berdasarkan hasil penelitian Eviliani (2016) uji viabilitas menggunakan tetrazolium dengan konsentrasi 1% menghasilkan enam belas pola pewarnaan pada benih cabai (*Capsicum annum*), kemudian dikelompokkan menjadi empat kelompok. Keempat kelompok ini dijadikan standar pewarnaan untuk membedakan benih yang berpotensi tumbuh menjadi kecambah normal kuat, kecambah normal kurang kuat, abnormal, dan mati. Tolak ukur daya berkecambah dan bobot kering kecambah normal memiliki nilai korelasi tinggi dengan uji tetrazolium. Pola pewarnaan belum dapat digunakan untuk pendugaan vigor benih cabai. Hasil uji potensi tumbuh maksimum (PTM) pada viabilitas benih tomat dan pola pewarnaan potensi tumbuh maksimum berdasarkan uji tetrazolium keduanya menunjukkan bahwa korelasi positif (Putri 2016).

Paraiso *et al.* (2019) mengembangkan uji tetrazolium untuk mengevaluasi mutu fisiologi dan deteksi kerusakan benih *chick peas*. Imbibisi benih selama 4 atau 6 jam pada suhu 41 °C dan imbibisi selama 18 jam pada suhu 30 °C, dilanjutkan dengan perendaman larutan tetrazolium 0.1% pada suhu 30 °C selama 6 jam merupakan metode yang optimum membedakan tipe kerusakan benih. Benih dapat dikelompokkan menjadi empat kelas yaitu; 1. Benih viabel dan vigor tanpa ada kerusakan 2. Benih viabel dan vigor dengan sedikit kerusakan di permukaan, 3. Benih viabel, tidak vigor, dan 4. Benih non viabel

Waktu perendaman tetrazolium dan konsentrasi merupakan faktor penting untuk menghasilkan pewarnaan yang jelas (da Silva *et al.*, 2021). Penelitiannya pada benih *Campomanesia phaea* menggunakan konsentrasi 0.75%, 1.0% dan

1.5% dengan lama perendaman 4, 8 dan 12 jam. Berdasarkan hasil pewarnaan benih dikelompokkan menjadi viabel dan non viabel. Metode yang direkomendasikan adalah perendaman 4 jam dalam larutan tetrazolium 0.75% pada suhu 30 °C.

Pengukuran dan pengamatan warna merah hasil uji tetrazolium untuk menentukan viabilitas benih yang dilakukan selama ini yaitu dengan cara memotret hasil pewarnaan merah dengan indra mata secara langsung atau dengan bantuan mikroskop. Metode ini dipengaruhi oleh pencahayaan lingkungan dan kemampuan individu dalam memotret. Kendala lain yaitu indra mata tidak dapat mengukur intensitas warna yang dihasilkan secara akurat. Untuk mengatasi hal tersebut diperlukan alat ukur yang dapat menentukan intensitas warna merah yang kuantitatif dan akurat.

Penelitian ini bertujuan merancang dan menguji alat sensor *infra red* untuk menentukan intensitas warna secara kuantitatif dalam uji tetrazolium serta mengkorelasikan hasil pembacaan alat dengan uji viabilitas secara fisiologis.

### BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknik Elektro, Politeknik Negeri Bandung, dan laboratorium Ilmu dan Teknologi Benih Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, mulai bulan Februari 2020 sampai dengan Maret 2021. Bahan dan alat yang digunakan untuk penelitian meliputi tetrazolium, benih kacang tanah, dan pasir sebagai media perkecambah. Tingkat viabilitas benih kacang tanah yang digunakan yaitu tiga tingkat viabilitas dengan masing-masing daya berkecambah yaitu 78.9%, 70.7% dan 40.0%.

Penelitian terdiri atas dua tahap yaitu perancangan alat sensor untuk mengukur intensitas warna merah hasil uji tetrazolium, dan pengujian alat tersebut untuk membuat kriteria viabilitas benih.

### Perancangan Alat Sensor *Infra Red* Untuk Mengukur Intensitas Warna Merah Hasil Uji Tetrazolium

Sistem direalisasikan menggunakan sebuah mikrokontroler yang dilengkapi dengan sensor TCS3200 untuk mendeteksi degradasi warna merah pada benih hasil uji tetrazolium. Sensor TCS3200 menghasilkan frekuensi yang rendah sehingga diperlukan pengkondisi sinyal untuk keluarannya. Data hasil pembacaan dan pengolahan akan ditampilkan pada LCD dan disimpan pada memori *sd card* sehingga dapat dilihat dalam bentuk Ms.Excel pada perangkat lain seperti komputer. Komponen yang digunakan tertera pada Tabel 1.

### Analisis Hasil Pewarnaan Tetrazolium dengan Sensor *Infra Red* Untuk Penentuan Viabilitas Benih

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah rancangan kelompok lengkap teracak satu faktor perlakuan dengan tiga taraf viabilitas benih dan empat ulangan.

Pembuatan tiga lot benih kacang tanah varietas Gajah dilakukan dengan cara menyimpan benih yang masih berpolong dalam tiga kondisi berbeda yaitu kemasan plastik pada ruangan ber-AC (suhu 17-19 °C), kemasan plastik pada suhu kamar (suhu 26-31 °C) dan kemasan kertas pada suhu kamar (suhu 26-31 °C) selama 2 bulan. Pengujian viabilitas benih dilakukan dengan menggunakan metode *top sand* atau uji di atas pasir. Benih kacang tanah sebanyak 25 butir dikecambahkan di dalam wadah yang berisi pasir steril. Larutan tetrazolium konsentrasi 1% dibuat dengan melarutkan larutan 1 g tetrazolium ke dalam 100 mL larutan *buffer* P dalam gelas ukur kemudian gelas ukur ditutup disimpan ke dalam lemari pendingin dan dilapisi aluminium foil untuk menghindari terkena cahaya langsung. Pengujian tetrazolium dilakukan pada kelompok benih setiap tingkat viabilitas.

Tabel 1. Jenis dan fungsi komponen yang digunakan

Komponen	Fungsi
Supply (baterai 6LF22)	Baterai sebagai sumber energi utama guna mencatu daya untuk <i>microcontroller</i> , sensor warna, LCD, dan modul-modul yang terhubung
Sensor warna TCS3200	Sensor untuk mengukur degradasi warna pada benih
Mikrokontroler	Untuk memproses sinyal hasil pengukuran dari sensor warna
LCD	LCD untuk menampilkan hasil pendeteksian dari pengolahan mikrokontroler
XD 204	Modul data logger untuk menyimpan data hasil pengolahan dari mikrokontroler

Benih dilembapkan dengan merendam dalam air selama 18 jam pada suhu  $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , kemudian dikering anginkan di atas kertas. Proses selanjutnya kulit benih dibersihkan dan kotiledon sedikit dibuka, kemudian benih direndam dalam larutan tetrazolium 1% selama 6 jam dalam suhu  $\pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$  (ISTA, 2014). Benih yang telah direndam tetrazolium kemudian dipisah menjadi dua bagian kotiledon untuk diamati pola warna yang terbentuk. Evaluasi viabilitas benih dilakukan dengan menggunakan dua cara yaitu menggunakan mikroskop stereo untuk melihat pola pewarnaannya dan menggunakan alat sensor *infra red* untuk menentukan taraf warna merah secara kuantitatif. Pada pengukuran menggunakan alat sensor *infra red* pertama benih disimpan pada papan media ukur, selanjutnya deteksi warna merah pada benih dengan menggunakan corong sensor pada alat sensor *infra red* benih, selanjutnya angka RGB akan muncul pada layar LED.

Benih yang telah direndam tetrazolium kemudian dipisah menjadi dua bagian kotiledon untuk diamati pola warna yang terbentuk. Evaluasi viabilitas benih dilakukan dengan menggunakan dua cara yaitu menggunakan mikroskop stereo untuk melihat pola pewarnaannya dan menggunakan alat sensor *infra red* untuk menentukan taraf warna merah secara kuantitatif. Pada pengukuran menggunakan alat sensor *infra red* pertama benih disimpan pada papan media ukur, selanjutnya deteksi warna merah pada benih dengan menggunakan corong sensor pada alat sensor *infra red* benih, selanjutnya angka RGB akan muncul pada layar

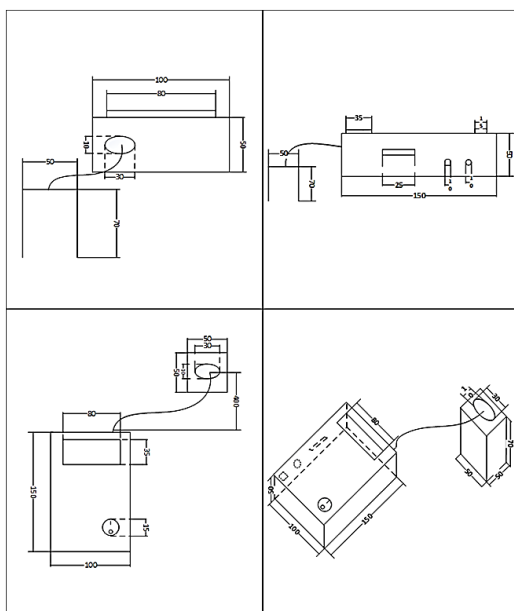
LED.

Pengamatan fisiologis benih yang dilakukan adalah daya berkecambah (DB), bobot kering kecambah normal (BKKN), kecepatan tumbuh benih ( $K_{CT}$ ), potensi tumbuh maksimum (PTM), dan  $T_{50}$ . Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA apabila menunjukkan pengaruh nyata setiap tingkat viabilitas maka dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT pada taraf 5%. Analisis regresi korelasi dilakukan untuk mempelajari hubungan antara uji fisiologis dengan hasil uji tetrazolium melalui pengamatan secara langsung maupun menggunakan sensor *infra red*. Analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS dan Microsoft excel.

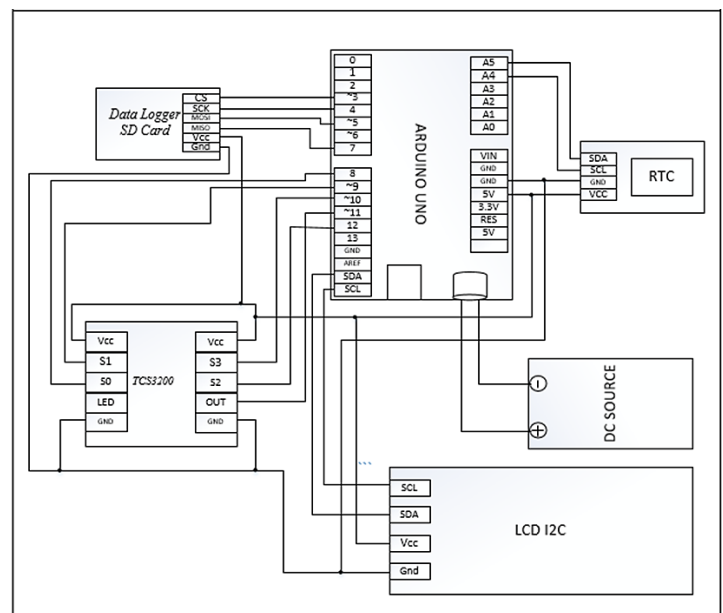
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perancangan Alat Sensor *Infra Red* untuk Mengukur Intensitas Warna Merah Hasil Uji Tetrazolium

Gambaran perancangan mekanik pengukuran viabilitas benih kacang tanah ini menggunakan gambar dengan satuan yang digunakan adalah milimeter seperti pada Gambar 1. Perancangan elektronik berupa *wiring* diagram dari sistem yang akan dibuat, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2. Sensor adalah suatu peralatan yang berfungsi untuk mendeteksi gejala-gejala atau sinyal-sinyal yang berasal dari perubahan suatu energi seperti energi listrik, energi fisika, energi kimia, energi biologi, energi mekanik dan sebagainya (Sakti, 2017).



Gambar 1. Desain mekanik



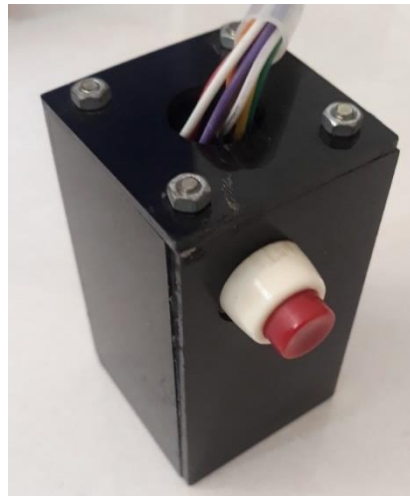
Gambar 2. Perancangan sistem elektronik

Alat sensor *infra red* digunakan untuk mendeteksi warna pada suatu material dalam skala RGB (merah, hijau, biru) sekaligus menolak sinar ultraviolet yang tidak diinginkan. Alat sensor *infra red* terdiri atas *box* sistem, corong pengukuran, dan papan media ukur. Corong pengukuran dan *box* sistem dihubungkan dengan kabel penghubung. Bagian *box* besar berisi modul-modul yang dibutuhkan serta *output* LCD dan slot kartu memori

untuk menyimpan data. Bagian corong pengukuran berfungsi sebagai tempat pengukuran yang kedap dari gangguan cahaya sekitar. Papan media ukur adalah papan untuk melakukan pengukuran yang sebelumnya telah ditentukan untuk penempatan benih dan nilai RGB tanpa benih diukur terlebih dahulu (dilakukan terra) sehingga RGB papan kosong tidak akan mempengaruhi hasil pengukuran (Gambar 3).



Box sistem



Corong pengukuran



Papan pengukuran

Gambar 3. Alat sensor *infra red* untuk mengukur intensitas warna merah pada uji tetrazolium

### Analisis Hasil Pewarnaan Tetrazolium dengan Sensor Infra Red untuk Penentuan Viabilitas Benih

Hasil sidik ragam pada Tabel 2 menunjukkan bahwa lot benih dengan tingkat viabilitas berbeda berpengaruh nyata terhadap tolok ukur viabilitas yaitu DB, BKKN, dan berpengaruh sangat nyata pada tolok ukur vigor yaitu  $K_{CT}$   $T_{50}$ , sedangkan pada PTM tidak menunjukkan adanya pengaruh. Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT tolok ukur DB,

$T_{50}$ , KCT, PTM dan BKKN dapat membedakan tingkat viabilitas berdasarkan uji fisiologi. Tingkat viabilitas V1 memiliki hasil tertinggi disemua tolok ukur viabilitas, pada tolok ukur  $T_{50}$  dan berbeda sangat nyata dengan tingkat viabilitas V3 yang memiliki hasil terendah (Tabel 3). Tolok ukur viabilitas (DB, PTM dan BKKN) sensitif menunjukkan beda yang signifikan akan tetapi tolok ukur  $T_{50}$  merupakan tolok ukur yang paling sensitif menunjukkan beda yang signifikan antar lot benih pada tingkat viabilitas yang berbeda.

Tabel 2. Hasil sidik ragam tolok ukur viabilitas dan vigor benih yang diamati pada beberapa tingkat viabilitas benih

Tolok ukur viabilitas	P-value	KK (%)
Daya berkecambah (DB)	0.0338*	21.79
$T_{50}$	0.004**	10.38
Kecepatan tumbuh (KCT)	0.0282*	16.71
Potensi tumbuh maksimum (PTM)	0.0707 <sup>tn</sup>	22.94
Bobot kering kecambah normal (BKKN)	0.0305*	16.09

Keterangan: \*\* = berpengaruh sangat nyata, \* = berpengaruh nyata, tn = tidak berpengaruh nyata pada taraf 5%, DB = daya berkecambah,  $T_{50}$  = waktu yang dibutuhkan untuk mencapai perkecambahan 50%, KCT = kecepatan tumbuh, PTM = potensi tumbuh maksimum, BKKN = bobot kering kecambah normal.

Tabel 3. Pengaruh tingkat viabilitas benih terhadap tolak ukur viabilitas dan vigor benih

Tingkat Viabilitas	Tolak ukur viabilitas				
	DB (%)	T <sub>50</sub> (hari)	K <sub>CT</sub> (%KN/etmal)	PTM (%)	BKKN (g)
V1	78.9 a	7.5c	11.04a	89a	7.615a
V2	70.7ab	8.8b	6.99ab	82ab	5.543ab
V3	40.0b	10.6a	4.16b	57c	3.045b

Keterangan: angka-angka pada kolom yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%, DB = daya berkecambah, T<sub>50</sub>= waktu yang dibutuhkan untuk mencapai perkecambahan 50%, KCT= kecepatan tumbuh benih, PTM = potensi tumbuh maksimum, BKKN = bobot kering kecambah normal.

**Pengujian Tetrazolium**

Pola pewarnaan normal kuat mengindikasikan benih memiliki viabilitas tinggi karena memiliki warna merah pada seluruh bagian kotiledon dan embrio (Kaffah, 2016). Pola pewarnaan dengan prediksi pertumbuhan normal (N), normal kuat (NK) dan mati (M) dapat digunakan untuk membedakan tingkat viabilitas benih karena menunjukkan adanya beda nyata yang dapat membedakan tingkat viabilitas benih kacang tanah (Tabel 4). Hasil uji lanjut DMRT terhadap pola pewarnaan pada Tabel 5 menunjukkan bahwa prediksi pertumbuhan benih N

dan NK sangat sensitif membedakan tingkat viabilitas.

**Pengukuran Nilai RGB pada Pengujian Tetrazolium**

Hasil sidik ragam pada Tabel 6 menunjukkan bahwa nilai pengukuran RGB berpengaruh sangat nyata untuk seluruh kriteria, pada kriteria warna merah dan hijau baik pengukuran bagian dalam maupun pengukuran bagian luar kotiledon dapat membedakan tingkat viabilitas secara signifikan (Tabel 7). Alat sensor *infra red* menunjukkan angka yang berbeda untuk benih dengan taraf warna merah yang hampir sama (Tabel 8).

Tabel 4. Hasil sidik ragam pola pewarnaan yang diamati pada beberapa tingkat viabilitas

Prediksi Pertumbuhan Benih (berdasarkan pola pewarnaan)	P-value	KK (%)
N	0.001**	19.45
NK	0.0003**	32.80
NL	0.2140 <sup>tn</sup>	59.75
Ab	0.0570 <sup>tn</sup>	80.85
M	0.0150*	46.70

Keterangan: \*\* = berpengaruh sangat nyata, \* = berpengaruh nyata, tn = tidak berpengaruh nyata pada taraf 5%, N = Normal (NK+NL), NK = normal kuat, NL = normal lemah, AB = abnormal, M= mati.

Tabel 5. Pola pewarnaan uji tetrazolium pada beberapa tingkat viabilitas benih

Tingkat Viabilitas	Pola Pewarnaan				
	N	NK	NL	Ab	M
V1	24.0a	19.75a	4.25	1.00b	0.00b
V2	19.5ab	11.75b	5.50	4.25b	3.25b
V3	11.25b	5.75c	7.75	6.25a	6.25a

Keterangan: angka-angka pada kolom yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%, N = Normal (NK+NL), NK = normal kuat, NL = normal lemah, AB = abnormal, M = mati

Tabel 6. Hasil sidik ragam pengaruh lot benih terhadap nilai RGB

Kriteria	P-Value	KK (%)
Rd	< 0.001**	31.76
Gd	< 0.001**	30.49

Keterangan: Rd = *red* (merah) bagian dalam, Gd = *green* (hijau) bagian dalam.

Tabel 6. Hasil sidik ragam pengaruh lot benih terhadap nilai RGB (Lanjutan)

Kriteria	P-Value	KK (%)
Bd	< 0.001**	29.23
Rl	< 0.001**	31.43
Gl	< 0.001**	30.51
Bl	< 0.001**	29.93





Keterangan: Bd = *blue* (biru) bagian dalam, Rl = *red* (merah) bagian luar, Gl = *green* (hijau) bagian luar, Bl = *blue* (biru) bagian luar.

Tabel 7. Hasil pengamatan pewarnaan RGB pada uji tetrazolium pada tiga tingkat viabilitas benih









Tingkat Viabilitas	Pola warna kotiledon					
	Bagian dalam			Bagian luar		
	Rd	Gd	Bd	Rl	Gl	Bl
V1	40.65a	63.69a	48.838a	37.85a	56.89a	43.04a
V2	34.15b	52.31b	44.69a	34.19b	46.95b	40.68a
V3	23.06c	33.91c	26.68b	24.06c	34.28c	27.33b

Keterangan: data yang diuji merupakan data hasil transformasi dengan Arc sin  $\sqrt{\%}$ , angka-angka pada kolom yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%, Rd = *red* (merah) bagian dalam, Gd = *green* (hijau) bagian dalam, Bd = *blue* (biru) bagian dalam, Rl = *red* (merah) bagian luar, Gl = *green* (hijau) bagian luar, Bl = *blue* (biru) bagian luar.

Tabel 8. Pola pewarnaan, pengukuran nilai RGB, dan kriteria benih





No	Gambar pola pewarnaan	Pengukuran 1		Pengukuran 2		Prediksi pertumbuhan benih		
1		Dalam	R	30	Dalam	R	29	Normal kuat
			G	58		G	51	
			B	38		B	38	
		Luar	R	25	Luar	R	20	
			G	29		G	27	
			B	22		B	22	
2		Dalam	R	16	Dalam	R	15	Normal kuat
			G	24		G	31	
			B	16		B	23	
		Luar	R	32	Luar	R	27	
			G	39		G	45	
			B	32		B	34	
3		Dalam	R	14	Dalam	R	22	Normal kuat
			G	23		G	33	
			B	18		B	33	
		Luar	R	14	Luar	R	23	
			G	23		G	34	
			B	25		B	33	
4		Dalam	R	97	Dalam	R	104	Normal kuat
			G	160		G	174	
			B	139		B	137	
		Luar	R	59	Luar	R	58	
			G	93		G	99	
			B	83		B	77	

Tabel 8. Pola pewarnaan, pengukuran nilai RGB, dan kriteria benih (*Lanjutan*)

No	Gambar pola pewarnaan	Pengukuran 1			Pengukuran 2			Prediksi pertumbuhan benih
		Dalam	R	G	B	Dalam	R	
5		Dalam	R	7	Dalam	R	8	Normal lemah
			G	13		G	14	
			B	11		B	10	
		Luar	R	16	Luar	R	15	
			G	18		G	23	
			B	18		B	18	
6		Dalam	R	21	Dalam	R	21	Normal lemah
			G	30		G	30	
			B	24		B	23	
		Luar	R	43	Luar	R	42	
			G	51		G	57	
			B	43		B	43	
7		Dalam	R	67	Dalam	R	68	Normal lemah
			G	118		G	119	
			B	94		B	94	
		Luar	R	52	Luar	R	49	
			G	64		G	60	
			B	49		B	49	
8		Dalam	R	27	Dalam	R	23	Normal lemah
			G	49		G	38	
			B	32		B	31	
		Luar	R	18	Luar	R	19	
			G	27		G	29	
			B	23		B	22	
9		Dalam	R	37	Dalam	R	52	Abnormal
			G	77		G	80	
			B	46		B	51	
		Luar	R	45	Luar	R	44	
			G	89		G	85	
			B	47		B	48	
10		Dalam	R	20	Dalam	R	24	Abnormal
			G	31		G	34	
			B	31		B	34	
		Luar	R	19	Luar	R	23	
			G	31		G	27	
			B	30		B	32	
11		Dalam	R	23	Dalam	R	24	Abnormal
			G	39		G	41	
			B	36		B	38	
		Luar	R	18	Luar	R	18	
			G	28		G	28	
			B	29		B	29	
12		Dalam	R	9	Dalam	R	9	Abnormal
			G	15		G	16	
			B	19		B	13	
		Luar	R	7	Luar	R	7	
			G	11		G	11	
			B	15		B	15	



Tabel 8. Pola pewarnaan, pengukuran nilai RGB, dan kriteria benih (*Lanjutan*)

No	Gambar pola pewarnaan	Pengukuran 1		Pengukuran 2		Prediksi pertumbuhan benih		
13		Dalam	R	30	Dalam	R	32	Mati
			G	47		G	51	
			B	44		B	46	
		Luar	R	16	Luar	R	16	
			G	23		G	23	
			B	25		B	25	
14		Dalam	R	17	Dalam	R	18	Mati
			G	27		G	29	
			B	22		B	29	
		Luar	R	15	Luar	R	18	
			G	24		G	27	
			B	26		B	28	
15		Dalam	R	9	Dalam	R	9	Mati
			G	21		G	22	
			B	22		B	23	
		Luar	R	15	Luar	R	14	
			G	26		G	25	
			B	-35		B	26	
16		Dalam	R	22	Dalam	R	22	Mati
			G	47		G	47	
			B	43		B	43	
		Luar	R	18	Luar	R	18	
			G	29		G	29	
			B	30		B	30	

**Korelasi Pola Pewarnaan Tetrazolium dengan Uji Mutu Fisiologis Benih**

Tolok ukur viabilitas DB, dan BKN dan tolok ukur T<sub>50</sub>, K<sub>CT</sub> dikorelasikan dengan hasil uji tetrazolium dengan kriteria normal (N) yang terdiri atas kriteria normal kuat (NK) dan normal lemah (NK), sedangkan PTM dikorelasikan dengan hasil uji tetrazolium (ttz) yang terdiri dari normal kuat (NK), normal lemah (NK), dan abnormal (Ab) karena pada uji fisiologis perhitungan PTM dilakukan dengan menghitung persentase total kecambah normal dan abnormal (Dewanti, 2020).

Nilai koefisien korelasi (r) berada pada kisaran (-)1 < r < 1. Dua peubah dikatakan memiliki keeratan hubungan yang sangat tinggi bila memiliki nilai r mendekati 1 atau (-)1 (Mattjik dan Sumertajaya, 2002). Hasil uji korelasi pada Tabel 9 antara tolok ukur viabilitas dan vigor dengan pola pewarnaan normal uji tetrazolium mempunyai hubungan yang erat dan nyata dengan T<sub>50</sub>, KCT, dan BKN sedangkan dengan DB dan PTM mempunyai hubungan yang erat. Dua peubah dikatakan mempunyai hubungan yang cukup erat jika mempunyai nilai koefisien korelasi (r) 0.5 < r < 0.8

dan dikatakan mempunyai korelasi sangat erat jika memiliki nilai 0.8 < r < 1 (Arfani, 2019). Nilai koefisien korelasi pada tolok ukur DB dan PTM dengan nilai P-value > 0.05 menunjukkan bahwa keeratan hubungan antara tolok ukur DB dan PTM dengan uji tetrazolium tidak nyata.

Nilai korelasi tertinggi terdapat pada tolok ukur T<sub>50</sub> dengan nilai koefisien korelasi (r) yaitu - 0.61. Pada tolok ukur T<sub>50</sub> mempunyai hubungan negatif, nilai negatif menunjukkan bahwa korelasi antara kedua variabel tersebut berlawanan. T<sub>50</sub> merupakan waktu yang dibutuhkan untuk mencapai 50% perkecambahan total, dihitung berdasarkan jumlah benih yang berkecambah setiap harinya hingga mencapai 50% sehingga semakin merah warna benih maka semakin tinggi vigor benihnya.

Hasil penelitian Afifah *et al.* (2020) pada benih bawang merah menunjukkan adanya korelasi yang tinggi antara uji tetrazolium dengan nilai viabilitas secara fisiologi, daya berkecambah maupun vigor benihnya. Pemanfaatan uji tetrazolium untuk uji vigor dengan menggunakan kriteria normal kuat, pewarnaan yang dihasilkan merah penuh di seluruh struktur benih.

Tabel 9. Nilai persamaan regresi, nilai koefisien korelasi antara pengujian fisiologis dan pengujian pola pewarnaan

Parameter Viabilitas	Persamaan Regresi	r	P-value
DB	DB= 10.3268 + 0.1342 N	0.57337	0.051tn
T50	T50= 37.11 – 2.096 N	-0.61169	0.035*
KCT	KCT= 11.45 + 0.918 N	0.58936	0.044*
PTM	PTM= 14.82 + 0.095 ttz	0.54809	0.065tn
BKKN	BKKN= 10.69 + 1.398 N	0.60253	0.038*

Keterangan: \* = berpengaruh nyata, tn = tidak berpengaruh nyata pada taraf 5%, DB = daya berkecambah, T50 = waktu yang dibutuhkan untuk mencapai perkecambahan 50 %, KCT = kecepatan tumbuh, PTM = potensi tumbuh maksimum, BKKN = bobot kering kecambah normal, N = pola pewarnaan normal (NK + NL), ttz = pola pewarnaan tetrazolium (NK + NL + Ab)

Hasil uji korelasi antara tolok ukur fisiologis dengan nilai RGB pada alat sensor *infra red* pada Tabel 10 menunjukkan tidak ada nilai RGB yang memiliki nilai koefisien korelasi yang tinggi dan tidak memiliki hubungan erat dengan tolok ukur mutu fisiologis benih. Berdasarkan hasil uji korelasi antara pola pewarnaan dengan alat sensor *infra red* pada Tabel 11 hanya prediksi pertumbuhan benih normal kuat (NK) yang memiliki hubungan nyata dan erat dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,62 hal ini diduga karena alat sensor warna belum dapat membedakan tingkat warna merah muda pada benih normal dengan warna merah tua yang dihasilkan oleh kerusakan benih. Hasil ini menunjukkan bahwa pada penelitian ini nilai RGB yang dihasilkan oleh alat sensor *infra red* belum dapat menentukan taraf intensitas warna merah pada benih hasil pengujian tetrazolium.

Pengembangan metode identifikasi pola

warna merah uji tetrazolium terus dikembangkan diantaranya menggunakan *Morphological Image Processing* dan *Hue, Saturation, Value (HSV) Color* dari citra yang diambil secara *real-time* (Hakimah *et al.*, 2021). HSV color biasa dikenal sebagai *Hue, Saturation, Brightness (HSB)*. HSV adalah transformasi dari *color space* RGB dan komponen serta kolorimetri relatif terhadap ruang warna RGB. Pola warna merah hasil uji tetrazolium benih yang beragam dapat dideteksi dengan perhitungan luas area *HSV color* pada bagian-bagian yang lebih detail, baik itu bagian kotiledon dalam bahkan hingga bagian poros embrio benih, seperti bagian calon daun (*plumula*), calon batang (*hipokotil*), dan calon akar (*radikula*). Metode pendeteksian luas area *HSV color* juga diharapkan dapat membuat proses pengamatan viabilitas benih kacang tanah lebih cepat karena sekali pendeteksian dapat dilakukan untuk 25 benih sekaligus.

Tabel 10. Nilai koefisien korelasi antara tolok ukur fisiologis dengan nilai RGB pada alat sensor *infra red*

Tolok Ukur	Rd	Gd	Bd	Rl	Gl	Bl
DB	0.18tn	0.22tn	0.20tn	0.17tn	0.26tn	0.26tn
T 50	-0.12tn	-0.16tn	-0.17tn	-0.09tn	-0.18tn	-0.21tn
KCT	0.17tn	0.21tn	0.19tn	0.16tn	0.27tn	0.25tn
PTM	0.19tn	0.19tn	0.20tn	0.14tn	0.14tn	0.22tn
BKKN	0.15tn	0.19tn	0.18tn	0.13tn	0.21tn	0.22tn

Keterangan: Data yang diuji merupakan data hasil transformasi dengan Arc sin  $\sqrt{\%}$ , tn = tidak berpengaruh nyata pada taraf 5%, DB = daya berkecambah, T50 = waktu yang dibutuhkan untuk mencapai perkecambahan 50 %, KCT = kecepatan tumbuh, PTM = potensi tumbuh maksimum, BKKN = bobot kering kecambah normal, Rd = *red* (merah) bagian dalam, Gd = *green* (hijau) bagian dalam, Bd = *blue* (biru) bagian dalam, Rl = *red* (merah) bagian luar, Gl = *green* (hijau) bagian luar, Bl = *blue* (biru) bagian luar

Tabel 11. Nilai koefisien korelasi antara prediksi pertumbuhan benih dengan nilai RGB pada alat sensor *infra red*

Prediksi pertumbuhan benih	Rd	Gd	Bd	Rl	Gl	Bl
N	0.543tn	0.536tn	0.531tn	0.443tn	0.454tn	0.435tn
NK	0.620*	0.561tn	0.470tn	0.416tn	0.365tn	0.242tn

Keterangan: Data yang diuji merupakan data hasil transformasi dengan Arc sin  $\sqrt{\%}$ , \* = berpengaruh nyata, tn = tidak berpengaruh nyata pada taraf 5%, N = normal (NK+NL), NK = normal kuat.

Tabel 11. Nilai koefisien korelasi antara prediksi pertumbuhan benih dengan nilai RGB pada alat sensor *infra red* (Lanjutan)

Prediksi pertumbuhan benih	Rd	Gd	Bd	Rl	Gl	Bl
NL	-0.277tn	-0.135tn	-0.026tn	-0.311tn	-0.281tn	-0.198tn
Ab	-0.084tn	-0.086tn	0.060tn	-0.036tn	-0.314tn	-0.316tn
M	0.419tn	0.558tn	0.445tn	-0.228tn	-0.147tn	-0.239tn

Keterangan: Data yang diuji merupakan data hasil transformasi dengan Arc sin  $\sqrt{\%}$ , \* = berpengaruh nyata, tn = tidak berpengaruh nyata pada taraf 5%, NL = normal lemah, AB = abnormal, M = mati, Rd = *red* (merah) bagian dalam, Gd = *green* (hijau) bagian dalam, Bd = *blue* (biru) bagian dalam, Rl = *red* (merah) bagian luar, Gl = *green* (hijau) bagian luar, Bl = *blue* (biru) bagian luar

### KESIMPULAN

Pengujian tetrazolium benih kacang tanah pada kriteria normal kuat mampu membedakan tiga tingkat viabilitas, untuk kriteria normal hanya membedakan dua tingkat viabilitas. Pengujian cepat viabilitas menggunakan tetrazolium pada benih kacang tanah dapat digunakan karena menunjukkan adanya korelasi antara pola pewarnaan yang dihasilkan dengan pengujian mutu fisiologis benih. Aplikasi sensor intensitas *infra red* untuk uji tetrazolium pada benih kacang tanah menghasilkan nilai koefisien korelasi (r) 0,62 antara nilai RGB merah bagian dalam kotiledon (Rd) dengan kecambah normal.

### DAFTAR PUSTAKA

Afifah, N., E. Widajati, E.R. Palupi. 2020. Pengembangan uji tetrazolium sebagai metode analisis vigor benih botani bawang merah. *J. Hort. Indonesia*. 11 (2): 120-130. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jhi/article/view/31894>

Arfani, A. 2019. Pola pewarnaan pada uji tetrazolium untuk deteksi vigor benih kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Arrofi, M.A., C. Budiman, R. Diaguna. 2023. Pengembangan uji vigor dengan pemunculan radikula pada benih terung (*Solanum melongena* L.) menggunakan pengolahan citra digital. *Bul. Agrohorti*. 11(3): 435-443. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/bulagron/article/view/50346/26974>

Carvalho, I.L., G.E. Meneghello, L. M. de Tunes, C.C. Jácome, V.N. Soares. 2017. Methodological adjustments to the tetrazolium test in rice seeds. *J. Seed Sci.* 39 (1): 041-049. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v39n1169643>

Copeland, L.O., M.B. McDonald. 2001. Principles of Seed Science and Technology Fourth Edition. Massachusetts (US): Kluwer Academic Publisher.

da Silva, A.L., M.J. Forte, A.P. Jacomino, V.A. Forti, S.R. Silva. 2021. Biometric characterization and tetrazolium test in *Campomanesia phaea* O. Berg. Landrum seeds. *J. Seed Sci*, v.4.e202143013. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v43240073>

Dewanti, D.Y. 2020. Pola Pewarnaan Tetrazolium Untuk Deteksi Vigor Benih Okra (*Abelmoschus esculentus*) [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Eviliani U. 2016. Uji tetrazolium untuk kriteria vigor benih cabai (*Capsicum annum*) [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Hakimah, H.F., T.Y. Putro, S. Pramono E. Widajati. 2021. Sistem pendeteksi viabilitas benih kacang tanah berdasarkan luas area HSV color. *Indones. J. Electr. Instrum. Syst.* <https://doi.org/10.22146/ijeis.68731>

[ISTA] International Seed Testing Association. 2014. ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing. *Seed Science and Technology*. Zurich: International Seed Testing Association.

Kaffah, F. 2016. Evaluasi kriteria vigor pada benih kangkung (*Ipomoea aquatica* var. reptans) melalui uji tetrazolium. [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Mattjik AA dan Sumertajaya IM. 2002. Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab. Bogor: IPB Press.

Nurwiati, W. dan C. Budiman. 2023. Uji cepat vigor benih tomat (*Solanum lycopersicum* L.) dengan metode *Radicle Emergence*. *Bul. Agrohorti*, 11(2): 260-265. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/bulagron/article/view/47140/25876>

- Paraíso, H.A., D.S.B. Junior, R.I.S. Avelar, C.A. Costa, L.S.P. Gomes<sup>2</sup>, W.M. Nascimento. 2019. Adjustments in the tetrazolium test methodology for assessing the physiological quality of chickpea seeds. *Journal of Seed Science*. 41(1): 007-012. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v41n1187777>
- Putri, P.W. 2016. Uji tetrazolium untuk evaluasi viabilitas pada benih tomat (*Solanum lycopersicum* L.) [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sakti, S.P. 2017. Pengantar Teknoligo Sensor. Malang: UB Press.