

Ujian Tetrazolium sebagai alternatif pilihan lebih pantas menentukan kebernasan biji benih sorghum (Tetrazolium test as a rapid alternative option in determining sorghum seed viability)

Faizah Salvana Abd Rahman, Muhammad Najib Othman Ghani, Halimah Hashim, Nurhazwani Mustaffer, Zaitialia Mohlisun, Amyita Witty Ugap dan Ahmad Firdaus Maznan

Pengenalan

Tanaman sorghum yang dikenali sebagai seko (*Sorghum bicolor* Linn) merupakan tanaman jenis bijirin yang berasal dari Afrika Utara. Tanaman sorghum mempunyai tahap penyesuaian yang tinggi terhadap cuaca panas dan musim kemarau. Negara pengeluar utama sorghum ialah Amerika, Argentina, China, India, Nigeria, beberapa negara Afrika Timur, Yaman dan Australia. Tanaman sorghum juga ditanam di Indonesia, Filipina dan Thailand secara kecil-kecilan. Sorghum tumbuh tegak dengan ketinggian 0.5 – 4.5 m bergantung kepada kultivar. Kepelbagaian morfologi sorghum bukan hanya pada ketinggian batang, tetapi juga pada warna benih, warna batang, bentuk panikel, umur penuaian, sifat fisiologi dan keseragaman pertumbuhan tanaman. Fizikal tanaman sorghum kelihatan seperti tanaman jagung dan yang membezakannya adalah hasil atau buah sorghum terletak di hujung pokok. Selain itu, tunas baharu atau anak akan keluar daripada pokok yang sama selepas batang utamanya dipotong atau diladun (*ratoon*). Tanaman sorghum mempunyai sistem akar yang baik bagi mempercepatkan proses penyerapan nutrien.

Kualiti benih adalah faktor penting bagi menyumbang kepada produktiviti yang tinggi untuk makanan ternakan dan juga bijian. Salah satu penilaian penting dalam kualiti biji benih adalah aspek kebernasan dan kecergasan biji benih yang dinilai melalui ujian percambahan. Parameter percambahan biji benih seperti kecepatan percambahan, indeks percambahan, jumlah anak benih normal dan tidak normal dapat menunjukkan atau meramalkan corak pertumbuhan tanaman sebelum penanaman di ladang. Walau bagaimanapun, ujian percambahan mengambil masa yang panjang iaitu lapan hari sebelum kebernasan biji benih dapat ditentukan. Ujian Tetrazolium boleh dijadikan alternatif yang lebih pantas berbanding dengan ujian percambahan. Ujian tersebut mengukur proses pernafasan yang berlaku di mitokondria sel yang membentuk tisu biji benih. Reaksi pengurangan larutan garam Tetrazolium bawah tindakan enzim dehidrogenase menghasilkan tripenilformazan yang menunjukkan pewarnaan merah. Keseluruhan proses ini mengambil masa hanya 15 jam. Melalui penafsiran corak dan kepekatan warna yang dihasilkan pada tisu biji benih, kebernasan dan masalah utama yang mempengaruhi kualiti benih dapat ditentukan.

Ujian Tetrazolium

Ujian Tetrazolium (TZ) mengukur kadar pernafasan relatif sel berdasarkan aktiviti enzim dehidrogenase. Apabila tisu hidup, enzim ini bertindak balas dengan larutan garam TZ yang tidak berwarna, seterusnya diubah menjadi formazan merah yang memberi warna merah ke atas tisu hidup. Keupayaan biji benih untuk bercambah dapat ditunjukkan mengikut pola dan intensiti warna. Ujian TZ adalah ujian biokimia yang dapat digunakan untuk menilai keberhasilan biji benih secara pantas. Ujian TZ sesuai diaplikasi ke atas biji benih dalam kondisi berikut:

- Biji benih yang akan disemai segera setelah melalui proses penuaian.
- Biji benih dengan keadaan dormansi yang cukup lama.
- Biji benih yang menunjukkan percambahan lambat.

Hasil ujian TZ menunjukkan bahawa pada biji benih yang sihat, kotiledon dan embrionya berwarna merah. Biji benih tersebut memberikan peratusan percambahan yang tinggi dan mempunyai pertumbuhan yang baik serta cepat. Untuk biji benih yang mengalami kerosakan, pengujian TZ menunjukkan kotiledon dan endosperma yang berwarna merah kehitaman serta paksi embrio yang berwarna coklat kehitaman. Biji benih sebegini pada umumnya tidak dapat lagi bercambah (biji benih mati) atau sekiranya bercambah, pertumbuhan anak benihnya lambat atau tidak normal. Ujian TZ pada dasarnya tidak dapat menguji keabnormalan biji benih, tetapi hanya dapat menguji sama ada biji benih tersebut bernas atau tidak.

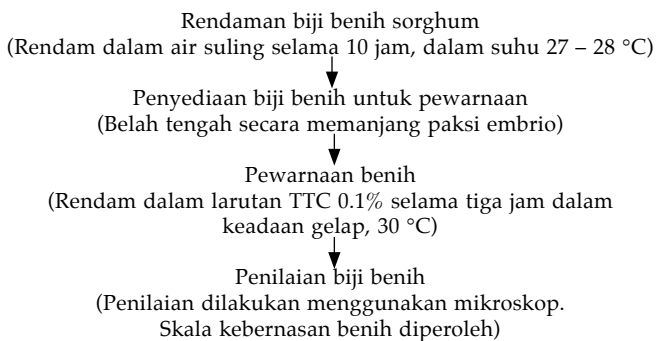
Larutan Tetrazolium

Bahan kimia yang digunakan ialah larutan Tetrazolium (TZ) yang mana bahan aktifnya ialah 2,3,5-trifenil tetrazolium klorida (TTC) dengan pH 6.5 – 7.5. Secara lazimnya, semua tisu hidup mampu mengubah bahan kimia tersebut daripada tidak berwarna kepada berwarna merah melalui reaksi pemindahan hidrogen. Larutan TZ akan menyerap masuk ke dalam semua tisu sama ada hidup atau mati. Namun, hanya tisu hidup sahaja yang akan memungkinkan pembentukan formazan dan seterusnya berubah ke warna merah. Tisu mati tidak berwarna merah kerana tiada berlakunya proses respirasi. Tetrazolium yang tereduksi bersifat tidak larut, kekal di dalam sel yang memberikan warna merah. Namun begitu, pada sel yang telah mati di mana aktiviti enzim pada sel tersebut berkurangan, menyebabkan Tetrazolium teroksidasi yang masuk ke dalam sel itu tidak memberikan warna merah.

Secara kebiasaannya, kepekatan larutan TZ yang digunakan ialah 1%. Hasil kajian di MARDI mendapati kesesuaian kepekatan larutan TZ untuk biji benih sorghum adalah pada julat 0.1 – 1%. Walau bagaimanapun, kepekatan larutan TZ boleh diubah suai mengikut kesesuaian biji benih.

Prosedur ujian Tetrazolium

Protokol ujian TZ adalah berbeza-beza mengikut jenis biji benih yang digunakan. Rujukan untuk kesesuaian biji benih menggunakan ujian TZ ini adalah daripada protokol yang telah ditetapkan oleh *International Seed Testing Association (ISTA)* mengikut kesesuaian jenis biji benih tersebut. Berikut adalah protokol ujian TZ untuk biji benih sorghum (*Carta alir 1*).



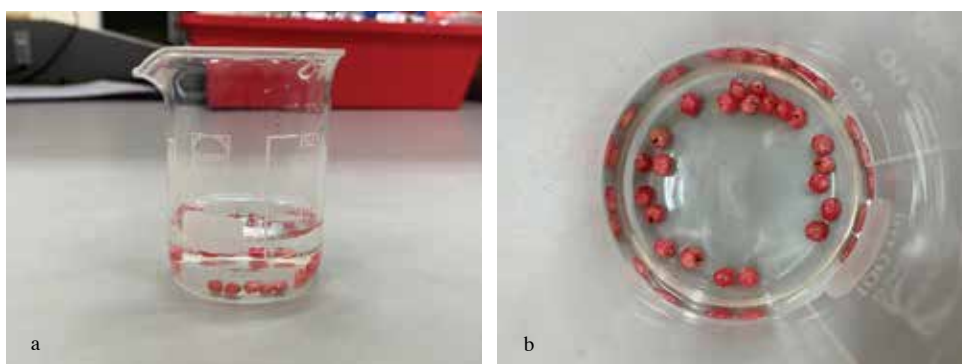
Carta alir 1. Protokol ujian Tetrazolium pada biji benih sorghum

1. Rendaman biji benih sorghum

Biji benih yang telah direndam biasanya lebih mudah untuk dibuat belahan dan dapat dipotong dengan lebih mudah berbanding dengan biji benih kering. Rendaman untuk biji benih sorghum dilakukan dengan air suling selama 10 jam pada suhu 27 – 28 °C (*Gambar 1*). Selain itu, rendaman juga dapat menghasilkan pewarnaan yang lebih sekata dan memudahkan untuk proses penilaian.

2. Penyediaan biji benih untuk pewarnaan

Belahan sebelum pewarnaan perlu dilakukan pada beberapa jenis varieti sorghum bagi memudahkan penetrasi larutan TZ dan memudahkan proses penilaian. Belahan memanjang dibuat melalui bahagian tengah paksi embrio dan $\frac{1}{4}$ panjang endosperma (*Gambar 2*).



Gambar 1. Biji benih semasa proses rendaman selama 10 jam melalui pandangan (a) sisi dan (b) atas



Gambar 2. Pemotongan biji benih sorghum secara memanjang

3. Pewarnaan biji benih

Biji benih sorghum direndam dalam larutan TZ 0.1% selama tiga jam, berkeadaan gelap dengan suhu 30 °C. Tempoh tersebut memadai untuk mewarnai biji benih sepenuhnya untuk tujuan proses penilaian menggunakan mikroskop. Pewarnaan yang terlampau pekat harus dielakkan kerana menyukarkan perbezaan pola warna pada biji benih yang diuji (Gambar 3).

4. Penilaian

Setiap biji benih sorghum dinilai secara visual berdasarkan pola dan intensiti pewarnaan menggunakan mikroskop digital (Dino-Lite) yang dipaparkan pada komputer (Gambar 4).

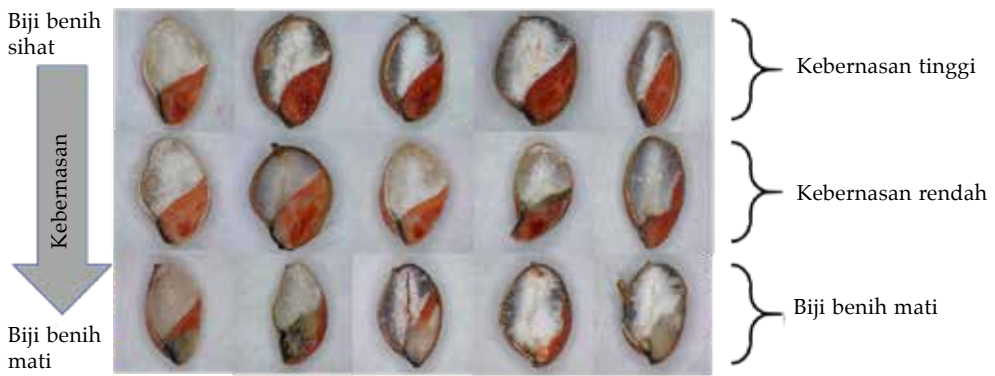
Seterusnya, skala kebernasan (Gambar 5) diwujudkan bagi menilai tahap kebernasan biji benih sorghum. Tahap kebernasan biji benih sorghum dapat dikategorikan berdasarkan pola dan intensiti warna pada struktur biji benih (Gambar rajah 1).



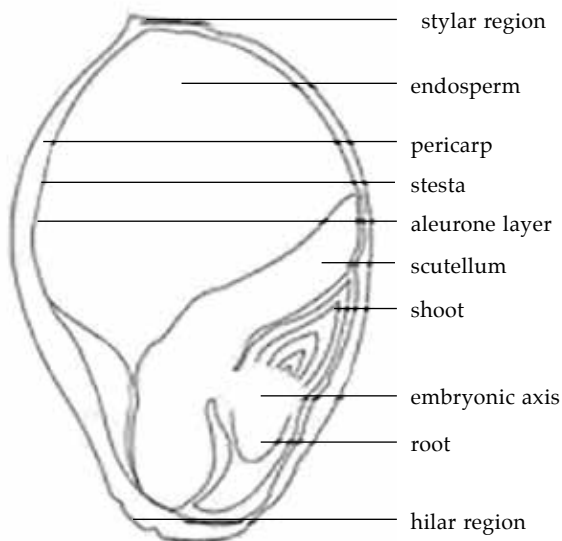
Gambar 3. Pewarnaan biji benih sorghum dalam larutan TZ selepas tiga jam berkeadaan gelap



Gambar 4. Penilaian menggunakan mikroskop



Gambar 5. Skala kebernasan biji benih sorghum



Gambar rajah 1. Struktur biji benih sorghum

- *Kebernasan tinggi*
Embrio berwarna merah pekat dan memperlihatkan bahagian *scutellum*, *shoot*, *root* melalui proses pewarnaan yang lengkap.
- *Kebernasan rendah*
Embrio berkembang berwarna merah cair dan beberapa bahagian *scutellum*, *shoot*, *root* tidak berwarna gelap dan pewarnaan menjadi tidak sekata.
- *Biji benih mati*
Embrio tidak mengalami pewarnaan dan tidak diwarnakan sepenuhnya.

Kesimpulan

Ujian Tetrazolium (TZ) dapat menentukan kebernasan biji benih berdasarkan pola dan intensiti pewarnaan tisu biji benih yang terhasil. Kaedah ini lebih pantas iaitu mengambil masa 15 jam berbanding dengan ujian percambahan yang biasanya mengambil masa selama 7 – 10 hari. Penggunaan ujian TZ ini dapat menjimatkan kos dan masa yang diperlukan bagi menentukan kebernasan biji benih sebelum penanaman dilaksanakan.

Bibliografi

- ISTA (2015). ISTA Rules Full Issue. International Rules for Seed Testing, 2015 (1), 1 – 276
- Jose dan Fransisco (2019). Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. *Journal of Seed Science* Vol. 41 (3): 359 – 366
- Starfinger, Uwe dan Karrer, Gerhard (2016). A standard protocol for testing viability with the Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC) Test. Julius-Kuhn Archiv.10.5073/jka.2016.455.18
- Thompson, K., Band, S.R. dan Hodgson, J.G. (1993). Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology* 7: 236 – 241

Ringkasan

Protokol ujian Tetrazolium (TZ) bagi mengenal pasti kebernasan biji benih sorghum secara pantas telah berjaya dihasilkan. Pendekatan secara ujian TZ adalah lebih pantas iaitu mengambil masa 15 jam berbanding dengan amalan ujian percambahan biasa yang mengambil masa selama 7 – 10 hari. Skala kebernasan yang diperolehi ke atas biji benih sorghum boleh dijadikan panduan dalam menentukan tahap kebernasan biji benih tersebut. Penggunaan ujian TZ ini dapat menjimatkan kos dan masa yang diperlukan bagi menentukan kebernasan biji benih sebelum penanaman dilaksanakan.

Summary

Rapid tetrazolium (TZ) test to determine sorghum seed viability has been generated. This quick test takes only 15 hours as compared to conventional germination test which takes 7 – 10 days. Viability scale for sorghum seed can be as a guideline in classifying its viability. This test can reduce cost and duration in determining seed viability prior to planting.

Pengarang

Faizah Salvana Abd Rahman
Pusat Penyelidikan Tanaman Industri
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM
43400 Serdang, Selangor
E-mel: fsalvana@mardi.gov.my

Muhammad Najib Othman Ghani, Halimah Hashim, Nurhazwani Mustaffer,
Amyita Witty Ugap dan Ahmad Firdaus Maznan
Pusat Penyelidikan Tanaman Industri
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM
43400 Serdang, Selangor

Zaitialia Mohlisun
Pusat Pengkomersilan Teknologi dan Bisnes
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM
43400 Serdang, Selangor