

PEDOMAN UJI MUTU LABORATORIUM



**DIREKTORAT PERBENIHAN HORTIKULTURA
DIREKTORAT JENDERAL HORTIKULTURA
KEMENTERIAN PERTANIAN
2016**

KATA PENGANTAR

Benih merupakan salah satu sarana produksi yang tidak dapat digantikan dan sangat menentukan dalam sistem produksi pertanian, termasuk tanaman hortikultura. Kualitas benih menjadi hal penting dan perlu diperhatikan oleh semua pihak. Salah satu mekanisme yang efektif untuk memproduksi benih bermutu adalah melalui sertifikasi benih. Dalam Undang – Undang Nomor 13 Tahun 2010 tentang Hortikultura dinyatakan bahwa benih yang diedarkan wajib didaftar dan memenuhi standar mutu atau persyaratan teknis minimal. Sebagai turunan undang – undang dalam rangka sertifikasi benih diterbitkan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 48/Permentan/SR.120/8/2012 tentang Produksi, Sertifikasi dan Peredaran Benih Hortikultura dan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 01/Kpts/SR.130/12/2012 tentang Pedoman Teknis Sertifikasi Benih Tanaman Hortikultura.

Namun demikian sejalan dengan dinamika ditingkat lapang maka sejumlah pemangku kepentingan di produksi benih hortikultura mengusulkan adanya perbaikan/revisi, khususnya terhadap substansi Peraturan Menteri Pertanian Nomor 01/Kpts/SR.130/12/2012. Atas dasar itu, maka dilakukan serangkaian pembahasan dan dengar pendapat pada pedoman sertifikasi yang ada dan hasilnya telah ditetapkan Keputusan Menteri Pertanian Nomor 201/Kpts/SR.130/D/11/2016 Teknis Sertifikasi Benih Tanaman Hortikultura. Pedoman ini terdiri dari sertifikasi benih tanaman buah, sayuran tahunan, obat tahunan, sayuran semusim dan obat. Persyaratan teknis minimal kelulusan sertifikasi benih yang diatur dalam pedoman ini sebanyak 84 jenis terdiri dari 47 jenis tanaman buah, sayuran tahunan dan obat tahunan, 27 jenis tanaman sayuran semusim dan 10 jenis tanaman obat.

Jakarta, November 2016
Direktur Perbenihan Hortikultura,



Ir. Sri Wijayanti Yusuf, M.Agr.Sc
NIP. 19640803 199103 1 001

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
BAB I PENGAMBILAN CONTOH BENIH	1
1. Cakupan Komoditas.....	1
2. Tujuan	2
3. Pengertian	2
4. Perlengkapan	3
5. Alur Kerja	3
6. Uji Heterogenitas	9
BAB II PENETAPAN KADAR AIR	19
A. Tujuan	19
B. Istilah dan Definisi	19
C. Peralatan	19
D. Langkah Kerja	21
E. Pelaporan	25
BAB III ANALISIS KEMURNIAN	29
A. Tujuan	29
B. Istilah/Definisi	29
C. Peralatan	30
D. Langkah Kerja	31
E. Pelaporan	34

BAB IV PENGUJIAN/ANALISIS DAYA BERKECAMBAH	41
A. Tujuan	41
B. Istilah/Definisi	41
C. Peralatan	42
D. Langkah Kerja	44
E. Pelaporan	55
F. Laporan Hasil Pengujian/Analisis Mutu Benih	58
BAB V PENGUJIAN KESEHATAN BENIH	63
Tujuan	63
Istilah/Definisi	63
Peralatan	64
Langkah Kerja	64
Amplifikasi	66
Isolasi DNA	66
Amplifikasi PCR	67
Pengujian TaqMan PCR	68
Perhitungan dan Pelaporan	68
BAB VI LAPORAN LENGKAP HASIL PENGUJIAN	69
A. Peralatan	70
B. Prosedur	70

BAB I PENGAMBILAN CONTOH BENIH

Dalam rangka pelaksanaan pengawasan mutu dan sertifikasi benih tanaman hortikultura perlu dilakukan pengambilan contoh benih dan pengujian/analisis mutu benih. Pengambilan contoh benih dimaksudkan untuk mendapatkan contoh yang mewakili kelompok benih yang akan diuji/dianalisis. Sedangkan pengujian/analisis mutu benih diperlukan untuk mengevaluasi mutu benih yang meliputi mutu fisik (penetapan kadar air dan analisis kemurnian) dan fisiologis (pengujian/analisis daya berkecambah) serta Pengujian khusus (kesehatan benih) yang dilakukan terhadap setiap kelompok benih. Pedoman teknis ini mengatur pengambilan contoh benih dan pengujian/analisis mutu benih.

A. PENGAMBILAN CONTOH BENIH

1. Cakupan Komoditas

No	Jenis Tanaman	Famili	Nama Indonesia
1	<i>Allium</i>	<i>Alliaceae</i>	Bawang
2	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthaceae</i>	Bayam
3	<i>Apium</i>	<i>Apiaceae (Umbelliferae)</i>	Seledri
4	<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern	<i>Brassicaceae</i>	Sawi/ Caisim
5	<i>Brassica oleracea</i> L.	<i>Brassicaceae</i>	Kol
6	<i>Capsicum annum</i>	<i>Solanaceae</i>	Cabai merah
7	<i>Capsicum frutescens</i>	<i>Solanaceae</i>	Cabai rawit
8	<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Semangka
9	<i>Cucumis sp</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Melon
10	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Mentimun
11	<i>Cucurbita sp</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Waluh
12	<i>Daucus carota</i> L.	<i>Apiaceae (Umbelliferae)</i>	Wortel
13	<i>Ipomea aquatic</i>	<i>Convolvulaceae</i>	Kangkung
14	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Asteraceae</i>	Selada
15	<i>Luffa acutangula</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Oyong
16	<i>Lycopersicum esculentum</i>	<i>Solanaceae</i>	Tomat
17	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Fabaceae (Leguminosae)</i>	Buncis
18	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Solanaceae</i>	Kentang

19	<i>Solanum melongena</i> L.	<i>Solanaceae</i>	Terong
20	<i>Vigna unguilata</i>	<i>Fabaceae (Leguminosae)</i>	Kacang panjang
21	<i>Zea mays</i> sp	<i>Poaceae (Gramineae)</i>	Jagung baby
22	<i>Zea mays</i> var <i>rugosa</i>	<i>Poaceae (Gramineae)</i>	Jagung manis
23	<i>Carica papaya</i>	<i>Caricaceae</i>	Pepaya
24	<i>Cucumis melo</i> L. var <i>cantalupensis</i> Naudin	<i>Cucurbitaceae</i>	Blewah
26	<i>Momordica charantia</i> L.	<i>Cucurbitaceae</i>	Paria
27	<i>Pachyrhizus erosus</i>	<i>Fabaceae</i>	Bengkoang
28	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	<i>Brassicaceae</i>	Kubis bunga
29	<i>Albelmoschus esculentus</i>	<i>Malvaceae</i>	Okra
30	<i>Glycine max</i>	<i>Fabaceae</i>	Edamame
31	<i>Tagetes erecta</i>	<i>Asteraceae</i>	Marigold

2. Tujuan

untuk mendapatkan contoh yang sesuai dengan parameter pengujian/analisis dan mewakili kelompok benih yang akan diuji/dianalisis.

3. Pengertian

- a. Contoh primer adalah sejumlah benih yang diambil dari kelompok benih dengan satu kali pengambilan.
- b. Contoh komposit adalah gabungan dan campuran dari semua contoh primer yang akan digunakan sebagai contoh kirim dan contoh duplikat.
- c. Contoh kirim adalah contoh benih yang diambil dari contoh komposit dan dikirim ke laboratorium.
- d. Contoh duplikat adalah contoh benih yang diambil dari contoh komposit dengan volume, penandaan dan penyegelan sama dengan contoh kirim dan diberi tanda "duplikat".
- e. Kelompok benih adalah benih dengan volume tertentu yang dapat diidentifikasi secara fisik dan spesifik.
- f. Penandaan adalah pemberian identitas yang spesifik pada wadah sesuai identitas kelompok benih.
- g. Petugas Pengambil Contoh benih yang selanjutnya disebut PPC adalah petugas yang memiliki kompetensi dalam melakukan pengambilan contoh benih.

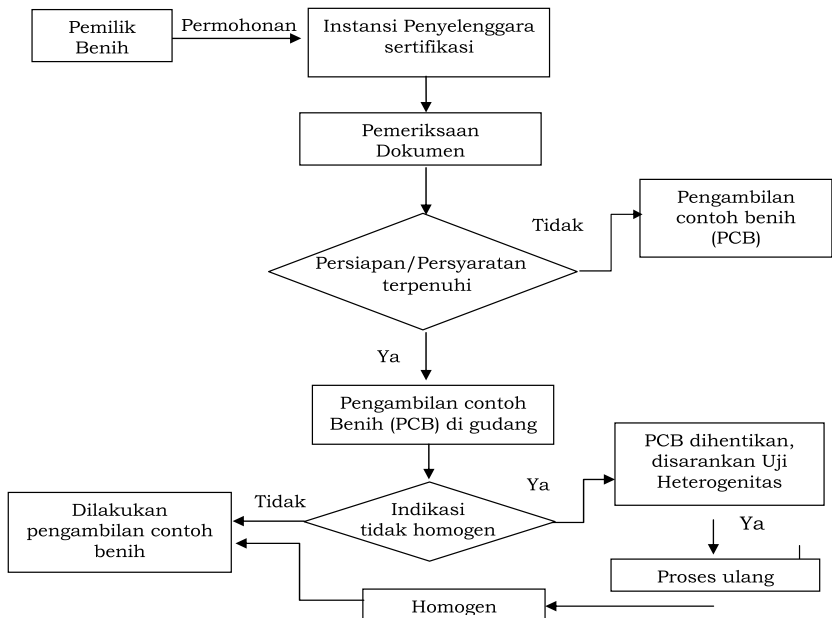
- h. Segel adalah alat untuk menjaga penutup wadah sehingga tidak dapat dibuka dan ditutup kembali tanpa merusak atau meninggalkan tanda-tanda kerusakan.

4. Perlengkapan

- a. Alat Pengambil Contoh Benih (*stick Trier, Sampler dll*)
- b. Wadah untuk contoh komposit dan contoh kirim
- c. Alat pembagi tepat (*divider*)
- d. Timbangan
- e. alat penyegel kelompok benih
- f. Spidol, stiker label, masker, sarung tangan.
- g. Surat Permohonan Pengambilan Contoh benih (*formulir Model A.1*)
- h. Daftar Periksa Pengambilan Contoh benih (*formulir Model A.2*)
- i. Pengantar Contoh Kirim benih (*formulir Model A.3*)

5. Alur Kerja

Alur Pengambilan Contoh Benih Pada Kelompok Benih



Gambar 1. Alur Pengambilan Contoh pada Kelompok Benih

- a. Permohonan
 - 1) Penyelenggara sertifikasi menerima permohonan pengambilan contoh benih dari pemilik benih sebagaimana *formulir Model A.1*. Satu formulir hanya untuk satu kelompok benih.
 - 2) Apabila permohonan pengambilan contoh benih disetujui maka pimpinan penyelenggara sertifikasi menugaskan PPC untuk melaksanakan pengambilan contoh di gudang pemilik benih. Bila tidak disetujui maka formulir dikembalikan kepada Pemilik benih untuk ditindaklanjuti.
 - 3) Berdasarkan permohonan, PPC menyiapkan satu set peralatan pengambilan contoh dan dokumen yang dibutuhkan.
 - 4) PPC bersama pemilik benih membuat jadwal pengambilan contoh benih.

- b. Persiapan/Persyaratan Pengambilan Contoh.
 - 1) PPC memastikan kondisi dan volume kelompok benih sesuai persyaratan berdasarkan daftar periksa pengambilan contoh benih (*formulir Model A.2*), yaitu :
 - a) Terdapat identitas meliputi jenis, varietas, nomor kelompok benih, nomor induk sertifikasi, blok dan tanggal panen.
 - b) Terdapat identitas disetiap wadah meliputi nomor kelompok benih, varietas, dan tanggal panen.
 - c) Memastikan pengaturan susunan kelompok benih untuk memudahkan PPC menghitung jumlah wadah dan melakukan pengambilan contoh sesuai dengan aturan yang berlaku.
 - d) Volume maksimum kelompok benih sesuai aturan pada Tabel 1 dengan toleransi kelebihan 5 %. Bila kelompok benih melebihi volume maksimum, kelompok harus dibagi menjadi beberapa kelompok, dan masing-masing diberi tanda.
 - 2) Apabila kondisi susunan wadah, penandaan dan pelabelan didalam gudang atau fasilitas gudang tidak

sesuai, maka PPC dapat menunda pengambilan contoh benih. Dalam hal ini PPC harus menjelaskan kepada pemilik benih mengenai tindakan perbaikan dan membuat jadwal baru pengambilan contoh benih.

Tabel 1. Volume Kelompok Benih, Berat Minimal Contoh Kirim dan Contoh Kerja.

No	Jenis Tanaman	Volume maksimal kelompok benih dengan Toleransi kelebihan 5% (grams)	Nama Indonesia	Berat minimal contoh kirim (gram)	Berat minimal contoh kerja Analisis Kemurnian (gram)
1	<i>Allium</i>	10 000	Bawang	80	8
2	<i>Amaranthus</i>		Bayam	10	2
3	<i>Apium</i>	10 000	Seledri	10	1
4	<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern	10 000	Sawi/ Caisim	40	4
5	<i>Brassica oleracea</i> L.	10 000	Kol	100	10
6	<i>Capsicum annum</i>	10 000	Cabai merah	150	15
7	<i>Capsicum frutescens</i>	10 000	Cabai rawit	150	15
8	<i>Citrullus lanatus</i>	20 000	Semangka	1000	250
9	<i>Cucumis sp</i>	10 000	Melon	150	70
10	<i>Cucumis sativus</i>	10 000	Mentimun	150	70
11	<i>Cucurbita sp</i>	10 000/ 20 000	Waluh	350	180
12	<i>Daucus carota</i> L.	10 000	Wortel	30	3
13	<i>Ipomea aquatica</i>	20 000	Kangkung	1000	100
14	<i>Lactuca sativa</i>	10 000	Selada	30	3
15	<i>Luffa acutangula</i>	20 000	Oyong	1000	400
16	<i>Lycopersicum esculentum</i>	10 000	Tomat	15	7
17	<i>Phaseolus vulgaris</i>	30 000	Buncis	1000	700
18	<i>Solanum tuberosum</i>	10 000	Kentang	25	10
19	<i>Solanum melongena</i> L.	10 000	Terong	150	15
20	<i>Vigna unguilata</i>	30 000	Kacang panjang	1000	400
21	<i>Zea mays sp</i>	40 000	Jagung baby	1000	900
22	<i>Zea mays var rugosa</i>	40 000	Jagung manis	1000	900
23	<i>Carica papaya</i>		Pepaya		

24	<i>Cucumis melo L. var cantalupensis Naudin</i>	10.000	Blewah	150	70
25	<i>Momordica charantia L.</i>	20.000	Paria	1.000	450
26	<i>Pachyrhizus erosus</i>		Bengkoang		
27	<i>Brassica oleracea var. botrytis</i>	10.000	Kubis bunga	100	10
28	<i>Albelmoschus esculentus</i>	20.000	Okra	1.000	400
20	<i>Carica papaya</i>		Pepaya		
30	<i>Glycine max</i>	30.000	Edamame	1.000	500
31	<i>Tagetes erecta</i>		Marigold		

c. Pengambilan Contoh Benih di Gudang

1) Rencana pengambilan contoh primer

PPC menghitung jumlah wadah dan jumlah minimal contoh primer yang harus diambil sesuai persyaratan intensitas pengambilan contoh benih berdasarkan volume yang sesuai untuk contoh kirim Pengujian/Analisis.

a) Wadah dengan kapasitas antara 15 s.d. 100 kg

Untuk benih dalam wadah ukuran 15 sampai dengan 100 kg, maka intensitas pengambilan contoh benih harus memenuhi syarat seperti Tabel 2.

Untuk Kelompok benih dengan kapasitas wadah kurang dari 15 kg, wadah dapat digabung menjadi unit pengambilan contoh benih yang tidak melebihi 100 kg, misal @ 5 kg sebanyak 20 wadah digabung menjadi 1 unit, @ 3 kg sebanyak 33 wadah digabung menjadi 1 unit atau @ 1 kg sebanyak 100 wadah digabung menjadi 1 unit. Unit pengambilan contoh benih dianggap sebagai satu wadah dan pengambilan contoh benih mengikuti Tabel 2.

Tabel 2. Intensitas Pengambilan Contoh Benih Minimal untuk Kelompok Benih dalam Wadah antara 15 s.d. 100 kg

Jumlah Wadah dalam Kelompok Benih	Jumlah Contoh Primer
1 – 4 wadah	3 contoh primer dari masing-masing wadah
5 – 8 wadah	2 contoh primer dari masing-masing wadah
9 – 15 wadah	1 contoh primer dari masing-masing wadah
16 – 30 wadah	15 contoh primer dari kelompok benih
31 – 59 wadah	20 contoh primer dari kelompok benih
60 atau lebih wadah	30 contoh primer dari kelompok benih

- b) Wadah >100 kg atau dari benih curah yang akan dikemas.

Untuk wadah >100 kg atau dari benih curah yang akan dikemas, maka cara pengambilan contoh benih seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Contoh Primer yang Diambil dari Kelompok Benih dalam Wadah Lebih dari 100 kg atau dari Benih Curah yang Akan Dikemas

Ukuran Kelompok Benih	Jumlah contoh primer yang diambil
101 – 500 kg	Minimal lima contoh primer
501 – 3000 kg	Satu contoh primer setiap 300 kg, minimal 5 contoh primer
3001 – 20000 kg	Satu contoh primer setiap 500 kg, minimal 10 contoh primer
20001 dan lebih	Satu contoh primer setiap 700 kg, minimal 40 contoh primer

- 2) Pengambilan Contoh Primer dan Penentuan Contoh Komposit, Contoh Kirim serta Contoh Duplikat
- a) PPC melakukan pengambilan contoh primer dengan menggunakan alat pengambil contoh : *trier (stick trier dan nobbe trier)*, pelican *sampler* atau tangan sesuai jenis wadah, jenis benih dan jumlah benih.
 - b) Pengambilan contoh benih pada kelompok benih di

gudang dapat dilakukan dengan cara :

(1) Pengambilan contoh benih primer dari wadah

(a) Pengambilan contoh benih dari wadah dengan *trier*.

Trier dapat digunakan secara horisontal, diagonal atau vertikal. Cara penggunaan, masukkan *trier* pada posisi tertutup kedalam wadah sampai mencapai posisi yang diperlukan, ambil benih kemudian *trier* ditarik keluar. Tampung dalam wadah.

(b) Pengambilan contoh benih dari wadah dengan tangan

Merupakan metode yang paling sesuai untuk benih yang dapat rusak dengan penggunaan *trier*, benih berukuran besar dan yang tidak memungkinkan penggunaan *trier*. Untuk benih yang menggunakan perlakuan bahan kimia dianjurkan menggunakan sarung tangan.

Pengambilan contoh benih dengan tangan dapat dilakukan pada wadah benih yang berisi benih dengan kedalaman maksimal 40 cm dari permukaan benih.

(2) Pengambilan contoh benih primer dari benih curah

Menggunakan *pelican* atau *automatic sampler*. Interval waktu pengambilan contoh primer harus konstan dan titik pengambilan contoh benih bervariasi secara acak.

c) Bila contoh primer dalam kelompok benih terlihat homogen maka contoh benih tersebut digabung dalam satu wadah menjadi contoh komposit. Jika terlihat tidak homogen maka pengambilan contoh benih dihentikan dan harus dilakukan uji

- heterogenitas.
- d) Contoh kirim diperoleh dari pengurangan contoh komposit dengan menggunakan salah satu metode yaitu menggunakan *mechanical divider*, metode paruhan yang dimodifikasi atau metode paruhan tangan. Jumlah contoh kirim sesuai dengan Tabel 1.
 - e) PPC mengambil 2 (dua) contoh benih dari contoh komposit, satu contoh benih dikirim ke laboratorium (contoh kirim) dan satu contoh benih disimpan di pemilik benih (contoh duplikat).
 - f) Contoh kirim dan contoh duplikat dikemas menggunakan kemasan kedap udara dan kedap air, bersih dan kuat yang dapat mempertahankan mutu benih. Kemasan diberi keterangan dan tanda sesuai identitas kelompok benih, kemudian disegel.
- d. Pengiriman Contoh Benih
- 1) PPC dan pemilik benih menandatangani dokumen yang diperlukan.
 - 2) Cara yang dipakai untuk pengiriman contoh kirim harus dapat mencegah kerusakan selama perjalanan. Contoh benih harus dikirim oleh petugas pengambil contoh sesegera mungkin disertai semua dokumen terkait.

6. Uji Heterogenitas

Uji Heterogenitas bertujuan untuk mengetahui heterogenitas suatu lot benih. Untuk menentukan heterogenitas yang *in-range* atau *off-range*, diperlukan 2 prosedur yaitu mencari nilai H untuk menentukan heterogenitas *in-range* sekaligus dapat pula untuk menentukan heterogenitas *off-range* dan mencari nilai R untuk mengecek kebenaran heterogenitas *off-range*.

1. Pengujian nilai H

- a. Pengambilan contoh benih
Jumlah wadah yang diambil contoh benihnya adalah sesuai dengan Tabel 4.

Tabel 4. Intensitas pengambilan contoh untuk kriteria nilai H pada heterogenitas

Jumlah wadah dalam kelompok benih	Jumlah wadah yang diambil contoh benihnya	Kriteria Nilai H untuk Analisis Kemurnian, Daya Berkecambah		Kriteria Nilai H untuk Penetapan Benih Lain berdasarkan jumlah	
		<i>non chaffy seed</i>	<i>chaffy seed</i>	<i>non chaffy seed</i>	<i>chaffy seed</i>
5	5	2,55	2,78	3.25	5.10
6	6	2,22	2,42	2.83	4.44
7	7	1,98	2,17	2.52	3.98
8	8	1,80	1,97	2.30	3.61
9	9	1,66	1,81	2.11	3.32
10	10	1,55	1,69	1.97	3.10
11-15	11	1,45	1,58	1.85	2.90
16-25	15	1,19	1,31	1.51	2.40
26-35	17	1,10	1,2	1.40	2.20
36-49	18	1,07	1,16	1.36	2.13
>50	20	0,99	1,09	1.26	2.00

Sumber : ISTA Rules

b. Pelaksanaan Pengujian

Jenis pengujian untuk mengidentifikasi heterogenitas adalah:

- 1) Persentase berat komponen kemurnian
- 2). Persentase komponen pengujian perkecambahan
- 3). Jumlah total benih atau jumlah dari spesies tunggal dalam penetapan benih lain berdasarkan jumlahnya.

Dalam laboratorium, contoh kerja diambil dari setiap wadah contoh dan dilakukan pengujian :

1). Analisis kemurnian

- a). Menghitung contoh kerja kurang lebih 1.000 butir;
- b). Memisahkan menjadi 2 (dua) fraksi yaitu benih murni dan selain benih murni;
- c). Menimbang kedua fraksi dan buat persentasenya.

2). Pengujian daya kecambah

- a). Menabur benih sebanyak 100 butir dari tiap wadah;
- b). Meletakkan dalam germinator;

- c). Melakukan pengamatan;
- d). Mencatat jumlah kecambah normal, abnormal, benih segar dan mati, kemudian buat persentasenya.

Heterogenitas dihitung dengan rumus:

$$\bar{x} = \frac{\sum X}{N}$$

$$W = \frac{\bar{x}(100 - \bar{x})}{n} f$$

$$V = \frac{N(\sum X^2) - (\sum X)^2}{N(N-1)}$$

Dimana, H : Nilai Heterogenitas

dengan V : Ragam aktual

W : Ragam

N : Jumlah wadah

\bar{X} : Persentase berat fraksi penciri

\bar{x} : Rata-rata berat fraksi penciri

n : Jumlah contoh kerja

f : Unsur variasi teoritis yang dilipatgandakan untuk menghasilkan variasi yang dapat diterima

Σ : Jumlah keseluruhan nil

Tabel 5. Faktor-faktor untuk penambahan variasi dalam lot benih benih yang digunakan untuk perhitungan W dan nilai H terakhir (f).

Pengujian	<i>non chaffy seed</i>	<i>chaffy seed</i>
Kemurnian	1,1	1,2
Daya berkecambah	1,1	1,2
Penetapan benih lain berdasarkan jumlah	1,4	2,2

Sumber : ISTA Rules

Untuk analisis kemurnian dan daya kecambah :

Dihitung X dalam 2 desimal, bila N < 10

3 desimal, bila N ≥ 10

Untuk penetapan benih lain berdasarkan jumlah bila :
Dihitung X dalam 1 desimal, bila $N < 10$
2 desimal, bila $N \geq 10$

Suatu lot benih dikatakan homogen apabila nilai H hitung $< H$ tabel.

Apabila rata-rata komponen lebih dari batas-batas berikut ini, maka nilai tersebut tidak dapat dihitung atau dilaporkan:

- (a). Komponen kemurnian lebih dari 99.8% atau kurang dari 0.2%
- (b). Daya berkecambah lebih dari 99.0% atau kurang dari 1.0%

Hasil pengujian nilai H dilaporkan sebagai berikut : \bar{x} , N, No. Contoh, nilai H hitung dan pernyataan bahwa "Nilai H tidak atau menunjukkan heterogenitas yang signifikan".

2. Pengujian Nilai R

- (a). Cara pengujian untuk mendapatkan nilai R sama dengan cara pengujian untuk memperoleh nilai H.

Rumus perhitungan nilai R :

$R = X_{\max} - X_{\min}$ (selisih data terbesar dengan data terkecil untuk penciri yang digunakan).

- (b). Membandingkan nilai R hitung dengan Tabel 8.3 (untuk pengujian berdasarkan kemurnian) dan Tabel 8.4 (untuk pengujian berdasarkan daya berkecambah).

Apabila nilai H maupun nilai R (kedua nilai tersebut) secara signifikan menunjukkan heterogenitas dari lot yang diuji, maka lot tersebut dinyatakan sebagai lot yang heterogen.

Apabila hanya salah satu yang secara signifikan menunjukkan heterogenitas lot yang diuji, maka lot tersebut dinyatakan sebagai lot yang tidak secara signifikan heterogen.

Tabel 8.3. Toleransi maksimum nilai R pada tingkat kepercayaan probabilitas 1% yang menggunakan komponen kemurnian sebagai penciri

Rata-rata komponen dan komplemennya		Batas toleransi (N)			Rata-rata komponen dan komplemennya		Batas toleransi (N)		
		5-9	10-19	20			5-9	10-19	20
99,9	0,1	0,4	0,4	0,5	88,0	12,0	4,0	4,6	5,1
99,8	0,2	0,5	0,6	0,7	87,0	13,0	4,1	4,8	5,3
99,7	0,3	0,7	0,8	0,9	86,0	14,0	4,2	4,9	5,3
99,6	0,4	0,8	0,9	1,0	85,0	15,0	4,4	5,0	5,7
99,5	0,5	0,9	1,0	1,1	84,0	16,0	4,5	5,2	5,8
99,4	0,6	1,9	1,1	1,2	83,0	17,0	4,6	5,3	6,0
99,3	0,7	1,0	1,2	1,3	82,0	18,0	4,7	5,4	6,1
99,2	0,8	1,1	1,3	1,4	81,0	19,0	4,8	5,5	6,2
99,1	0,9	1,2	1,3	1,5	80,0	20,0	4,9	5,7	6,3
99,0	1,0	1,2	1,4	1,6	78,0	22,0	5,1	5,9	6,6
98,5	1,5	1,5	1,7	1,9	76,0	24,0	5,2	6,0	6,8
98,0	2,0	1,7	2,0	2,2	74,0	26,0	5,4	6,2	6,9
97,5	2,5	1,9	2,2	2,5	72,0	28,0	5,5	6,3	7,1
97,0	3,0	2,1	2,4	2,7	70,0	30,0	5,6	6,5	7,3
96,5	3,5	2,2	2,6	2,9	68,0	32,0	5,7	6,6	7,4
96,0	4,0	2,4	2,8	3,1	66,0	34,0	5,8	6,7	7,5
95,5	4,5	2,5	2,9	3,3	64,0	36,0	5,9	6,8	7,6
95,0	5,0	2,7	3,1	3,5	62,0	38,0	5,9	6,9	7,7
94,0	6,0	2,9	3,4	3,8	60,0	40,0	6,0	6,9	7,8
93,0	7,0	3,1	3,6	4,0	58,0	42,0	6,0	7,0	7,8
2,0	8,0	3,3	3,8	4,3	56,0	44,0	6,1	7,0	7,9
91,0	9,0	3,5	4,0	4,5	54,0	46,0	6,1	7,0	7,9
90,0	10,0	3,7	4,2	4,8	52,0	48,0	6,1	7,1	7,9
89,0	11,0	3,8	4,4	5,0	50,0	50,0	6,1	7,1	7,9

Sumber : ISTA Rules

Tabel 8.4. Toleransi maksimum nilai R pada tingkat kepercayaan probabilitas 1% yang menggunakan komponen daya berkecambah sebagai penciri

Rata-rata komponen dan komplemennya		Batas toleransi (N)			Rata-rata komponen dan komplemennya		Batas toleransi (N)		
		5-9	10-19	20			5-9	10-19	20
99	1	5	6	6	74	26	21	23	25
98	2	7	8	8	73	27	21	23	26
97	3	8	9	10	72	28	21	24	26
96	4	10	11	12	71	29	21	24	26
95	5	11	12	13	70	30	22	24	26
94	6	11	13	14	69	31	22	24	27
93	7	12	14	15	68	32	22	25	27
92	8	13	14	16	67	33	22	25	27
91	9	14	15	17	66	34	22	25	27
90	10	14	16	17	65	35	22	25	27
89	11	15	17	18	64	36	23	25	28
88	12	15	17	19	63	37	23	25	28
87	13	16	18	20	62	38	23	26	28
86	14	16	18	20	61	39	23	26	28
85	15	17	19	21	60	40	23	26	28
84	16	17	19	21	59	41	23	26	28
83	17	18	20	22	58	42	23	26	28
82	18	18	20	22	57	43	23	26	28
81	19	19	21	23	56	44	23	26	29
80	20	19	21	23	55	45	23	26	29
79	21	19	22	24	54	46	23	26	29
78	22	20	22	24	53	47	23	26	29
77	23	20	22	24	52	48	23	26	29
76	24	20	23	25	51	49	23	26	29
75	25	20	23	25	50	50	24	26	29

Sumber : ISTA Rules

Yth. Pimpinan
di

Bersama ini kami mengajukan permohonan pengambilan contoh benih, sebagai berikut:

- 1. Jenis Tanaman :
- 2. Varietas :
- 3. Nomor Kelompok Benih :
- 4. Nomor Induk sertifikasi; blok :
- 5. Tanggal Panen :
- 6. Kelas Benih :
- 7. Volume Kelompok Benih :
- 8. Jumlah Wadah :
- 9. Volume per Wadah :
- 10. Jenis Wadah :
- 11. Jenis Perlakuan Benih :
- 12. Alamat Pengambilan Contoh :
- 13. Tanggal Pengambilan :

Contoh benih tersebut untuk diuji di laboratorium, dengan parameter: *)

- 1. Penetapan Kadar Air
- 2. Analisis Kemurnian
- 3. Pengujian/Analisis Daya Berkecambah
- 4. Pengujian Khusus

Demikian permohonan kami, terima kasih.

Keterangan: *) Beri tanda \surd pada kotak yang sesuai dengan pengujian yang diminta.

.....,

Stempel dan ttd

(.....)

DAFTAR PERIKSA PENGAMBILAN CONTOH

1. Apakah kelompok benih yang akan diambil contohnya sesuai dengan informasi pada lembar permohonan terutama :
 - Jenis tanaman () ya () tidak
 - Varietas () ya () tidak
 - Nomor kelompok benih () ya () tidak
 - Nomor induk sertifikasi, blok () ya () tidak
 - Tanggal panen () ya () tidak
 - Volume Kelompok benih () ya () tidak
 - Jumlah wadah () ya () tidak
 - Jenis wadah () ya () tidak
2. Apakah volume Kelompok benih tidak melebihi volume maksimum Kelompok benih? () ya () tidak
3. Apakah Kelompok benih tersebut terpisah dari kelompok benih yang lain? () ya () tidak
4. Apakah jenis wadah sama untuk semua Kelompok benih? () ya () tidak
5. Apakah semua bagian Kelompok benih memperoleh kesempatan yang sama untuk diambil contohnya? () ya () tidak
6. Apakah Kelompok benih tersebut telah diberi tanda atau identitas? () ya () tidak
 - Apabila ya :
 - a) Apakah informasi pada tanda atau identitas sama dengan informasi yang diberikan pada permohonan? () ya () tidak
 - b) Apakah mempunyai identifikasi yang spesifik? () ya () tidak
 - c) Apakah setiap wadah diberi penandaan atau tanda atau identitas? () ya () tidak
 - d) Apakah tanda atau identitas pada wadah cukup lengkap? () ya () tidak
 - Apabila tidak: Apakah tersedia tanda atau identitas atau peralatan untuk labelling/penandaan dari wadah-wadah tersebut selama atau sesudah pengambilan contoh? () ya () tidak
7. Apakah Kelompok benih tersebut siap disegel? () ya () tidak
 - Apabila ya :
 - a. Apakah segelnya layak dan sesuai ? () ya () tidak
 - b. Apakah segel dapat dibuka untuk pengambilan contoh, apakah segel dan peralatannya tersedia untuk menyegel wadah kembali ? () ya () tidak
 - Apabila tidak :
 - Apakah tersedia segel dan peralatannya untuk menyegel wadah setelah pengambilan contoh ? () ya () tidak

8. Apakah tersedia segel dan peralatan untuk menutup lubang pada () ya () tidak wadah setelah pengambilan sampel ?

Apabila salah satu jawaban dari nomor 1 – 6 tersebut jawabannya tidak, maka pengambilan contoh tidak dapat dilakukan.

Tanggal Pengambilan Contoh :

Kode PPC :
Tanda tangan

Pemilik benih/ yang mewakili,
Tanda tangan

Nama PPC

Nama Pemilik benih/ yang mewakili

TANDA TERIMA CONTOH KIRIM

- 1. Nomor :
- 2. Jenis Tanaman :
- 3. Varietas :
- 4. Kelas Benih :
- 5. Nomor Kelompok Benih :
- 6. Nomor Induk Sertifikasi :
- 7. Tanggal Panen :
- 8. Produsen/Perusahaan :
- 9. Alamat Produsen/Perusahaan :
- 10. Jenis Perlakuan Benih :
- 11. Berat Contoh Kirim :
- 12. Contoh benih tersebut untuk diuji di laboratorium, dengan parameter:
 - a. Penetapan Kadar Air *)
 - b. Analisis Kemurnian
 - c. Pengujian/Analisis Daya Berkecambah

Keterangan: *) Beri tanda \surd pada kotak yang sesuai dengan pengujian yang di minta.

Yang Menerima,

Tanggal.....

Yang Menyerahkan,
Petugas Pengambil Contoh

(.....)

(.....)

BAB II PENETAPAN KADAR AIR

A. Tujuan

Penetapan kadar air bertujuan untuk menentukan kandungan kadar air dalam benih yang dinyatakan dalam persen dengan metode oven suhu konstan atau *moisture meter*.

B. Istilah dan Definisi

- 1) Penetapan kadar air dengan metode oven adalah persentase kadar air yang terkandung dalam benih yang diukur berdasarkan berat air yang hilang karena pemanasan oven suhu konstan terhadap berat awal contoh benih.
- 2) Penetapan kadar air dengan *moisture meter* adalah persentase kadar air yang terkandung dalam benih yang diukur berdasarkan sifat kimia fisik maupun elektrik yang terkandung dalam benih dengan menggunakan *moisture meter*.
- 4) Penghancuran halus adalah hasil penghancuran dengan persyaratan minimal 50% material harus lolos saringan 0,50 mm dan maksimal 10% tertinggal pada saringan 1,00 mm.
- 5) Penghancuran kasar adalah hasil penghancuran dengan persyaratan minimal 50% harus lolos saringan 4,00 mm dan maksimal 55% yang dapat lolos saringan 2,00 mm.
- 6) Pemotongan adalah pengecilan ukuran benih dengan menggunakan alat pemotong yang menghasilkan ukuran benih ≤ 7 mm dan seragam.
- 7) Contoh kerja adalah contoh benih yang diperlukan untuk pengujian/ analisis di laboratorium diperoleh dari pengurangan contoh kirim.

C. Peralatan

- 1) **Alat Penghancur Benih (*Grinding Mills*)**
 - a) Terbuat dari bahan yang tidak menyerap air
 - b) Mudah dibersihkan pada seluruh bagian
 - c) Alat tidak atau sedikit menimbulkan panas dengan toleransi panas pada benih tidak melebihi 10°C

- 2) Oven
 - a) Oven listrik
 - b) Suhu harus dapat diatur dan stabil
 - c) Dianjurkan menggunakan oven yang dilengkapi dengan blower
 - d) Suhu oven harus kembali ke ke suhu yang diatur semula dalam waktu tidak lebih dari 30 menit setelah benih dimasukkan ke dalam oven

- 3) Cawan
 - a) Terbuat dari bahan logam tidak mudah berkarat, kaca atau porselen
 - b) Harus memiliki tepian yang tinggi dan dasar yang rata sehingga mudah dibersihkan
 - c) Tutup cawan harus dapat dipasang rapat, tapi mudah untuk dibuka dan ditutup

- 4) Desikator
Mampu mendinginkan cawan dengan cepat dan berisi desikan yang efektif

- 5) Timbangan
 - a) Minimal mempunyai tiga desimal
 - b) Terdapat pelindung terhadap pergerakan udara

- 6) Saringan
 - a) Lubang pada saringan terbuat dari kawat
 - b) Ukuran saringan yang diperlukan:
 - (1) 4,00 mm dan 2,00 mm (untuk komoditas yang membutuhkan penghancuran kasar)
 - (2) 1,00 mm dan 0,50 mm (untuk komoditas yang membutuhkan penghancuran halus)

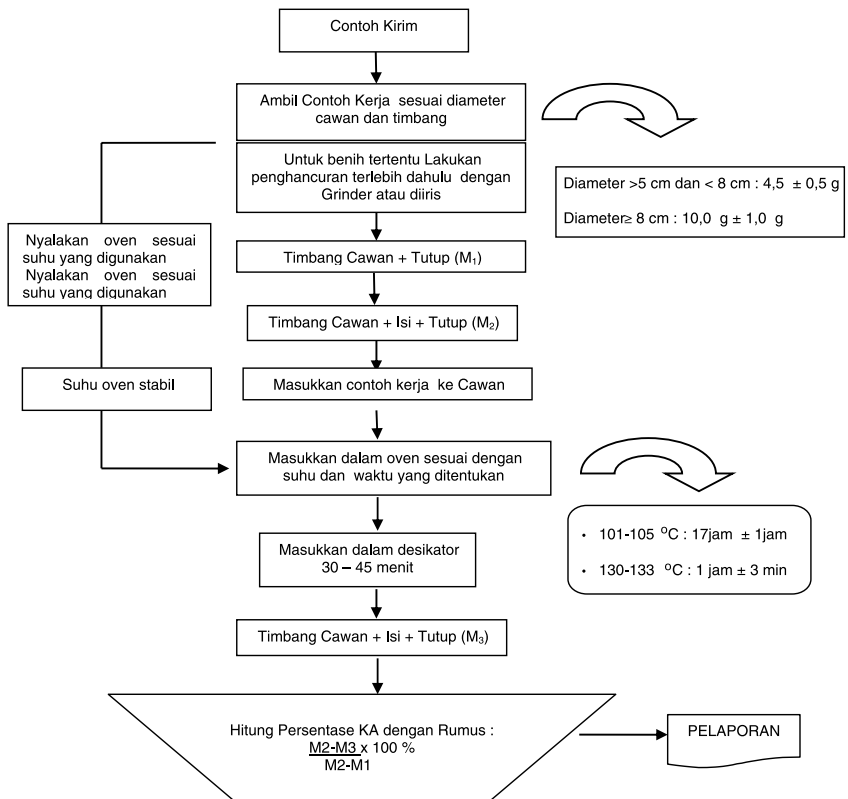
- 7) *Alat Pengukur Kadar Air (Moisture meter)*
 - a) Contoh benih yang diukur diusahakan seminimal mungkin terjadi kontak dengan udara luar
 - b) *Alat Pengukur Kadar Air (Moisture meter)* yang digunakan untuk mengukur kadar air harus dikalibrasi terhadap metode oven yang merupakan metode langsung (sesuai aturan ISTA).
Persyaratan kalibrasi moisture meter sebagai berikut:
 - (1) Kalibrasi harus dilaksanakan minimal satu kali dalam satu tahun

- (2) Kalibrasi dilaksanakan untuk masing-masing jenis tanaman yang dapat diukur kadar airnya sesuai dengan tipe *moisture meter* yang digunakan
- (3) Program kalibrasi dan pengecekan rutin *moisture meter* harus dibuat dan dilaksanakan
- (4) Contoh pengecekan diuji dengan *moisture meter* sesuai dengan petunjuk kerja *moisture meter* tersebut, dan secara bersamaan ditetapkan kadar airnya dengan metode oven suhu konstan.

D. Langkah Kerja

1) Metode Oven Suhu Konstan

Alur Pengujian/Analisis



Gambar 1. Alur Penetapan Kadar Air dengan Metode Oven Suhu Konstan

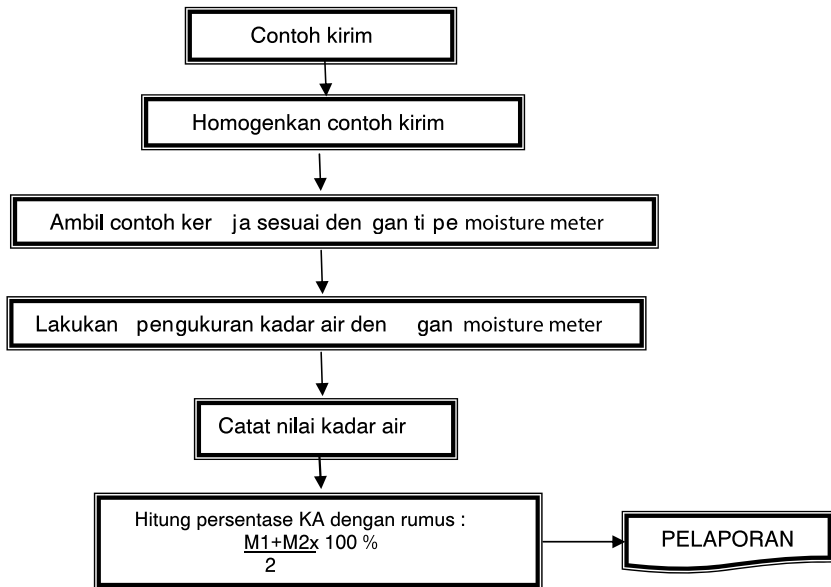
- a) Ambil contoh kerja untuk penetapan kadar air metode oven dengan berat contoh kerja $4,5 \pm 0,5$ gram untuk cawan berdiameter $5 < \text{diameter} < 8$, dan $10,0 \pm 1,0$ gram untuk cawan berdiameter ≥ 8 .
- b) Siapkan bahan dan peralatan yang diperlukan antara lain contoh benih, sendok, wadah penampung, sikat, kartu pengujian/analisis, cawan dan tutupnya, skalpel.
- c) Isi kartu pengujian/analisis dengan nomor contoh benih, tanggal dan identitas lainnya.
- d) Hidupkan oven dan atur suhunya sesuai dengan Tabel 1.
- e) Siapkan contoh kerja untuk proses penghancuran/pemotongan, proses tersebut tidak boleh lebih dari 4 menit untuk pemotongan dan 2 menit untuk penghancuran (Tabel 1).
- f) Siapkan 2 (dua) cawan, beri nomor dan catat nomornya.
- g) Timbang dan catat berat cawan beserta tutupnya (M_1) untuk ulangan 1.
- h) Bukawadah atau kantung plastik. Aduk contoh benih dengan sendok, ambil tiga sub contoh benih pada posisi yang berbeda dan timbang contoh kerja sesuai diameter cawan kemudian masukkan ke dalam cawan.
- j) Timbang dan catat berat cawan + contoh benih dan tutupnya (M_2).
- k) Ulangi langkah g s.d.i untuk ulangan 2.
- m) Masukkan cawan yang berisi contoh benih ke dalam oven dengan posisi cawan terbuka (tutup cawan diletakkan disamping atau di bawah cawan).
- n) Atur waktu sesuai periode pengeringan masing-masing jenis tanaman. Waktu pengeringan dimulai ketika suhu oven telah sesuai persyaratan.
- o) Catat suhu oven setelah proses pengeringan berakhir.
- p) Buka oven, tutup cawan yang berisi contoh benih dengan sesegera mungkin kemudian keluarkan cawan dari oven.
- r) Masukkan cawan ke dalam desikator selama 30 – 45 menit.
- s) Timbang contoh benih termasuk cawan dan tutupnya kemudian dicatat (M_3).
- t) Hitung persentase kadar air.

Tabel 1. Penetapan Kadar Air Benih Tanaman Buah dan Sayur dengan Metode Oven Suhu Konstan

No	Jenis Tanaman	Famili	Nama Indonesia	Penghancuran/ Pemotongan	Metode	
					Suhu (°C)	Waktu
1	<i>Allium</i>	<i>Alliaceae</i>	Bawang	Tidak	Rendah (101-105)	17 ± 1 jam
2	<i>Apium</i>	<i>Apiaceae</i> (<i>Umbelliferae</i>)	Seledri	Tidak	Tinggi (130-133)	1 jam ± 3 menit
3	<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern	<i>Brassicaceae</i>	Sawi/ Caisim	Tidak	Rendah (101-105)	17 ± 1 jam
				Tidak	Tinggi ^{*)} (130-133)	½ jam ^{*)}
4	<i>Brassica sp</i>	<i>Brassicaceae</i>	Kol, Kubis bunga	Tidak	Rendah (101-105)	17 ± 1 jam
5	<i>Capsicum sp</i>	<i>Solanaceae</i>	Cabai merah, cabai rawit, paprika	Tidak	Rendah (101-105)	17 ± 1 jam
6	<i>Carica papaya</i>	<i>Caricaceae</i>	Pepaya			
7	<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Semangka	Penghancuran kasar	Tinggi (130-133)	1 jam ± 3 menit
8	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Mentimun	Tidak	Tinggi (130 – 133)	1 jam ± 3 menit
9	<i>Cucurbita sp</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Waluh	Tidak	Tinggi (130-133)	1 jam ± 3 menit
10	<i>Daucus carota L.</i>	<i>Apiaceae</i> (<i>Umbelliferae</i>)	Wortel	Tidak	Tinggi (130-133)	1 jam ± 3 menit
11	<i>Glycine</i>	<i>Fabaceae</i>	Edamame	Penghancuran kasar	Rendah (101-105)	17 ± 1 jam
12	<i>Ipomea aquatica</i>	<i>Convolvulaceae</i>	Kangkung	Tidak ^{*)}	Tinggi ^{*)} (130-133)	2½ jam ^{*)}
13	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Asteraceae</i>	Selada	Tidak	Tinggi (130-133)	1 jam ± 3 menit
14	<i>Luffa acutangula</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Oyong	Penghancuran Kasar ^{*)}	Rendah ^{*)} (101-105)	17 jam ± 1 Jam ^{*)}
15	<i>Lycopersicum esculentum</i>	<i>Solanaceae</i>	Tomat	Tidak	Tinggi (130-133)	1 jam ± 3 menit
17	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Fabaceae</i> (<i>Leguminosae</i>)	Buncis	Penghancuran Kasar	Tinggi (130-133)	1 jam ± 3 menit
18	<i>Solanum melongena L.</i>	<i>Solanaceae</i>	Terong	Tidak	Rendah (101-105)	17 ± 1 jam
19	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Fabaceae</i> (<i>Leguminosae</i>)	Kacang panjang	Penghancuran Kasar	Tinggi (130 – 133)	1 jam ± 3 menit
20	<i>Zea mays sp</i>	<i>Poaceae</i> (<i>Gramineae</i>)	Jagung baby, jagung manis	Penghancuran Halus	Tinggi (130 – 133)	4 jam ± 12 menit

^{*)} Hasil validasi metode Balai Besar PPMBTPH

2) Penetapan Kadar Air dengan *Moisture Meter*



Gambar 3. Alur Penetapan Kadar Air dengan *Moisture Meter*

Langkah Kerja:

- Siapkan bahan dan peralatan yang diperlukan, yaitu sendok, contoh benih, wadah penampung, plastik, sikat dan kartu pengujian/analisis.
- Hidupkan *moisture meter* sesuai dengan petunjuk penggunaan alat.
- Isi kartu pengujian/analisis dengan nomor contoh benih, tanggal dan identitas lainnya.
- Buka kantong berisi contoh benih dan homogenkan dengan cara diaduk dengan sendok atau dengan membolak-balik kantong benih.
- Ambil 3 (tiga) bagian sub contoh dari posisi yang berbeda dengan berat contoh kerja sesuai tipe *moisture meter*.
- Pengambilan contoh kerja benih tidak boleh lebih dari 30 detik.

- g) Lakukan pengukuran kadar air benih sesuai tipe *moisture meter* untuk ulangan 1.
- h) Catat hasil pengukuran yang ditunjukkan pada alat.
- i) Ulangi langkah 4 s.d 7 untuk ulangan 2.
- j) Bersihkan *moisture meter* setelah digunakan.
- k) Hitung persentase kadar air.

E. Pelaporan

- 1) Penghitungan hasil kadar air metode oven suhu konstan
 Persentase untuk kadar air setiap ulangan dilaporkan minimal tiga desimal sedangkan nilai akhir dilaporkan dalam satu desimal, dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{M_2 - M_3}{M_2 - M_1} \times 100\%$$

Keterangan:

- M_1 = berat cawan dan tutup (dalam gram minimal tiga desimal)
- M_2 = berat cawan, tutup dan isi sebelum pengeringan (dalam gram minimal tiga desimal)
- M_3 = berat cawan, tutup dan isi sesudah pengeringan (dalam gram minimal tiga desimal)

- 2) Penghitungan hasil kadar air dengan *moisture meter* Presentase kadar air dilaporkan dalam satu desimal dengan rumus sebagai berikut :

$$\frac{M1 + M2}{2}$$

Keterangan:

- M1 = hasil pengukuran kadar air ulangan pertama (1)
- M2 = hasil pengukuran kadar air ulangan kedua (2)

- 3) Toleransi Hasil Pengujian
 - a) Penetapan kadar air dapat dilanjutkan untuk dilaporkan apabila perbedaan dua ulangan tidak lebih dari 0,2 %. Apabila perbedaan dua ulangan lebih dari 0,2 % maka penetapan kadar air harus diulang.
 - b) Apabila perbedaan antara dua ulangan tidak lebih dari 0,2% pada pengujian/analisis kedua, hasil pengujian/analisis dapat dilanjutkan untuk dilaporkan.
 - c) Apabila perbedaan antar ulangan pada hasil pengujian/analisis kedua > 0,2%, maka dihitung rata-rata hasil pengujian/Analisis pertama dan kedua. Jika selisih rata-rata antara dua pengujian/analisis hasilnya $\leq 0,2\%$ maka nilai kadar air yang dilaporkan adalah rata-rata dari empat ulangan. Jika selisih rata-rata kedua pengujian/analisis > 0,2%, hasil kadar air tidak dapat dilanjutkan dan dianggap gagal.
 - d) Lakukan investigasi penyebab kegagalan.
 - e) Jika kegagalan dikarenakan prosedur dan atau alat maka digunakan contoh kirim yang sama dengan catatan belum dilakukan analisis kemurnian.
 - f) Jika kegagalan bukan pada prosedur dan atau alat maka dilakukan pengambilan contoh benih ulang.
 - g) Lakukan verifikasi hasil pengujian/analisis.

- 4) Cara penulisan dalam laporan hasil
 - a) Persentase kadar air dinyatakan dalam satu desimal.
 - b) Jika kondisi benih berkecambah, maka dalam laporan harus diberi catatan "Ditemukan benih berkecambah dalam contoh kirim".
 - c) Jika ada benih busuk dalam contoh kirim harus diberi catatan "Ditemukan benih busuk dalam contoh kirim".
 - d) Tulis laporan pada Kartu Pengujian/Analisis (*formulir* Model B.1).
 - e) Cantumkan keterangan metode dan tipe alat yang digunakan.

BAB III ANALISIS KEMURNIAN

A. Tujuan

- 1) Menentukan persentase komposisi (benih murni, benih tanaman lain dan kotoran benih) berdasarkan berat contoh benih yang diuji sesuai dengan komposisi di dalam lot benih.
- 2) Mengidentifikasi berbagai spesies benih dan kotoran benih pada contoh benih.

B. Istilah/Definisi

- 1) *Achene* adalah buah kering tidak merekah, berbiji tunggal, terbentuk dari satu karpel bebas dengan kulit benih berbeda dari kulit buah, terkadang terdiri dari lebih dari satu karpel.
- 2) *Caryopsis* adalah Buah rerumpunan tanpa pembungkus yang *testanya* bersatu dengan *perikarp*.
- 3) *Floret* adalah *lemma* dan *palea* dengan *pistil* dan *stamen* yang tertutup atau *caryopsis* masak pada *Poaceae*, istilah *floret* merujuk pada *floret* yang *fertil* dengan atau tanpa adanya *lemma steril*.
- 4) *Kotiledon* adalah daun pertama atau sepasang daun pada *embrio* dan kecambah.
- 5) *Mericarp* adalah bagian dari *schizocarp*.
- 6) *Multiple seed units* adalah *spikelets* atau bagian dari *spikelet* dengan lebih dari satu *floret*.
- 7) *Pedicle* adalah tangkai dari masing-masing bunga tunggal dalam *inflorescence*.
- 8) *Pericarp* adalah kulit buah, dinding dari *ovary* matang atau buah.
- 9) *Radikula* adalah akar rudimenter embrio, berkembang menjadi akar primer setelah muncul melalui kulit benih selama perkecambahan.
- 10) *Schizocarp* adalah buah kering yang terpisah menjadi dua unit atau lebih (*mericarp*) pada saat matang.

- 11) *Spikelet* adalah unit *inflouresence* rerumputan terdiri dari satu *floret* atau lebih yang terdapat pada bagian bawah dengan salah satu atau *glume steril*. Sesuai tujuan dari aturan istilah *spikelet* termasuk sebagai *floret fertil* dengan satu atau lebih *fertil* tambahan atau *floret steril* yang lengkap atau *glume*.
- 12) *Testa* adalah kulit benih.
- 13) *Trace* (TR) adalah persentase berat komponen kurang dari 0,05%.
- 14) *Chaffy* adalah suatu unit penyebaran berdasarkan struktur dan teksturnya :
 - (a) cenderung lengket/menempel/melekat satu sama lain atau pada objek lain (kantong, peralatan pengambilan contoh seperti *divider*, dan lain-lain).
 - (b) menyebabkan benih lain terperangkap atau sebaliknya benih tersebut terperangkap pada benih tanaman lain.
 - (c) tidak bisa dengan mudah dibersihkan, dicampur dan diambil contoh benihnya.
Contoh benih digolongkan *chaffy* apabila total seluruh struktur *chaffy* (termasuk *inert matter chaffy*) sepertiganya atau lebih.
- 15) *Sclerotia* adalah jenis cendawan berstruktur multiseluler yang memiliki satu atau lebih morfologi regular dan berperan sebagai bentuk reproduktif dari cendawan tersebut.
- 16) *Smut balls* adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh cendawan tertentu dimana benih dilapisi oleh spora cendawan tersebut.
- 17) *Nematoda galls* adalah suatu penyakit pada benih yang menyebabkan pembengkakan jaringan yang disebabkan oleh nematoda.

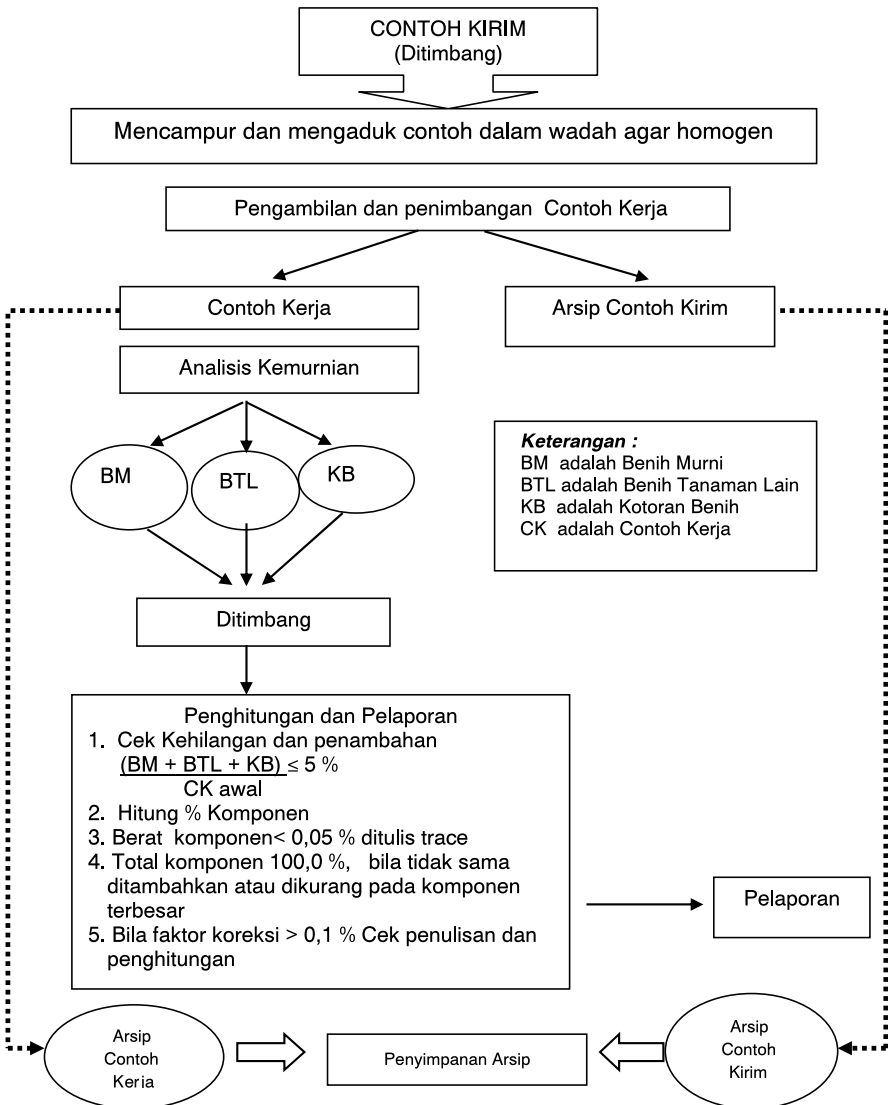
C. Peralatan

- 1) *Alat Pembagi Tepat (Conical divider, elektrik, Soil divider)*
- 2) Lup
- 3) Timbangan analitik
- 4) Wadah
- 5) Spatula
- 6) Meja kerja kemurnian

- 7) Saringan
- 8) Mikroskop stereo
- 9) Pinset

D. Langkah Kerja

Alur Pengujian/Analisis



Gambar 6. Alur Pengujian/Analisis Kemurnian

- 1) Untuk memperoleh contoh kerja analisis kemurnian dapat dilakukan pengurangan contoh kirim dengan metode pengurangan secara mekanik. Berat minimal contoh kerja sesuai dengan Tabel 1.

Tabel 1. Berat Minimal Contoh Kirim dan Contoh Kerja.

No	Jenis Tanaman	Famili	Nama Indonesia	Berat minimal contoh kirim (gram)	Berat minimal contoh kerja Analisis Kemurnian (gram)
1	<i>Abelmoschus</i>	<i>Malvaceae</i>	Okra	1000	140
2	<i>Allium</i>	<i>Alliaceae</i>	Bawang	80	8
3	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthaceae</i>	Bayam	10	2
4	<i>Apium</i>	<i>Apiaceae (Umbelliferae)</i>	Seledri	10	1
5	<i>Brassica juncea (L.) Czern</i>	<i>Brassicaceae</i>	Sawi/ Caisim	40	4
6	<i>Brassica oleracea L.</i>	<i>Brassicaceae</i>	Kol	100	10
7	<i>Carica papaya</i>	<i>Caricaceae</i>	pepaya		
8	<i>Capsicum sp</i>	<i>Solanaceae</i>	Cabai merah, cabai rawit	150	15
9	<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Semangka	1000	250
10	<i>Cucumis sp</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Melon, Mentimun	150	70
11	<i>Cucurbita sp</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Waluh	350	180
12	<i>Daucus carota L.</i>	<i>Apiaceae (Umbelliferae)</i>	Wortel	30	3
13	<i>Ipomea aquatica</i>	<i>Convolvulaceae</i>	Kangkung	1000	100
14	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Asteraceae</i>	Selada	30	3
15	<i>Luffa acutangula</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Oyong	1000	400
16	<i>Lycopersicum esculentum</i>	<i>Solanaceae</i>	Tomat	15	7
17	<i>Momordica charantia</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Paria	1000	450
18	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Fabaceae (Leguminosae)</i>	Buncis	1000	700
19	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Solanaceae</i>	Kentang	25	10
20	<i>Solanum melongena L.</i>	<i>Solanaceae</i>	Terong	150	15
21	<i>Vigna unguilata</i>	<i>Fabaceae (Leguminosae)</i>	Kacang panjang	1000	400
22	<i>Zea mays sp</i>	<i>Poaceae (Gramineae)</i>	Jagung baby, jagung manis	1000	900

- 2) Contoh kerja ditimbang dalam gram dengan minimal jumlah desimal yang diperlukan sesuai dengan Tabel 2.

Tabel 2. Derajat Ketelitian Dalam Penimbangan Contoh Kerja dan Komponen Analisis Kemurnian

Berat Contoh Kerja dan Komponen (gram)	Jumlah minimal desimal penimbangan
< 1,000	4
1,0000 - 9,999	3
10,00 - 99,99	2
100,0 - 999,9	1
> 1000	0

- 3) Memisahkan contoh kerja menjadi tiga komponen yaitu benih murni, kotoran benih dan benih tanaman lain. Kriteria ketiga komponen tersebut adalah sebagai berikut:

a) Benih murni:

(1) Benih yang sesuai dengan pernyataan pemohon atau secara dominan ditemukan di dalam contoh benih termasuk semua varietas dan kultivar dari spesies tersebut.

(2) Benih muda, benih berukuran kecil, benih keriput, benih terserang penyakit atau berkecambah tetapi benih tersebut masih bisa dikenali sebagai benih yang dimaksud, kecuali sudah berubah bentuk seperti *sclerotia*, *smut balls* atau *nematoda galls*:

(a) Unit benih utuh untuk masing-masing komoditas dijelaskan dalam nomor definisi benih murni (PSDN) pada Tabel 3.

(b) Pecahan unit benih dengan ukuran lebih besar dari $\frac{1}{2}$ ukuran benih aslinya.

b) Benih Tanaman Lain

Unit benih tanaman spesies lain yang ditemukan selain benih murni. Pembedaan karakteristik untuk pengklasifikasian benih tanaman lain atau kotoran benih dijelaskan pada definisi benih murni (Tabel 3.) Untuk *multiple seed units* (MSU) harus dipisahkan dan unit tunggal dikelompokkan menurut prinsip

pada *Definisi Benih Murni*, Benih Tanaman Lain dan Kotoran Benih.

c) Kotoran Benih

- (1) Benih hampa
 - (2) Bagian dari unit benih yang pecah atau rusak dan berukuran kurang dari setengah ukuran aslinya.
 - (3) Bagian yang tidak digolongkan dalam definisi benih murni.
 - (4) Benih dari *Fabaceae* (kacang panjang, buncis, dll) dengan kulit benih yang terkelupas seluruhnya.
 - (5) Pada *Fabaceae*, bagian kotiledon yang terpisah digolongkan sebagai kotoran benih, tanpa tergantung pada ada atau tidak adanya *radikula-axis plumula* dan tidak tergantung ukuran *testa* yang menempel.
 - (6) *Floret steril* yang tidak menempel, *lemma*, *palea*, batang, daun, kulit batang, bunga, tanah, pasir, batu, nematoda puru, *ergot*, *sklerotia*, dan *smut balls* serta semua material bukan benih.
 - (7) Dalam fraksi berat, *florets* yang pecah dan ukuran *caryopsisnya* kurang dari 1/2 ukuran asli dan semua material kecuali benih murni dan benih tanaman lain.
- 4) Menimbang setiap komponen dalam satuan gram dengan minimal jumlah desimal sama dengan contoh kerja dan hasilnya dicatat di kartu pengujian/analisis
 - 5) Hasil analisis kemurnian disimpan sebagai arsip contoh kerja sampai batas waktu yang telah ditentukan.

E. Pelaporan

- 1) Menghitung Pertambahan atau Kehilangan berat selama pengujian. Menjumlahkan berat semua komponen yang ditemukan, kemudian dibandingkan dengan berat contoh kerja awal. Jika terdapat penyimpangan lebih dari 5% berat contoh kerja awal, maka harus dilakukan pengujian/analisis ulang.

2) Penghitungan

Menghitung persentase masing-masing komponen berdasarkan berat semua komponen yang ditemukan (bukan berat awal contoh kerja), kemudian dibulatkan dalam satu desimal dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ BM} = \frac{\text{BM}}{\text{BM} + \text{BTL} + \text{KB}} \times 100\%$$

$$\% \text{ BTL} = \frac{\text{BTL}}{\text{BM} + \text{BTL} + \text{KB}} \times 100\%$$

$$\% \text{ KB} = \frac{\text{KB}}{\text{BM} + \text{BTL} + \text{KB}} \times 100\%$$

Ket:

BM = Benih murni

BTL= Benih tanaman lain

KB = Kotoran benih

- 3) Menjumlahkan persentase semua komponen termasuk yang *trace* (lebih kecil dari 0,05%). Jumlah total harus 100,0%, jika jumlah tersebut tidak 100,0% (99,9% atau 100,1%) maka harus dilakukan penambahan atau pengurangan sebesar 0,1% pada nilai tertinggi. Jika koreksinya lebih dari 0,1% maka harus diperiksa kesalahan pada penghitungan dan penulisan.
- 4) Mencantumkan Hasil analisis kemurnian dalam persentase dengan satu desimal (formulir model B.2). Apabila ditemukan hasil nihil dari suatu komponen harus ditulis dengan angka 0,0 pada kolom yang disediakan (kolom-kolom pada kartu pengujian/analisis tidak boleh dibiarkan kosong). Untuk pengisian data label, istilah *trace* bisa diganti 0,0.

Tabel 2. Definisi Benih Murni (*Pure Seed Definition Numbers/PSDN*) dan Daftar Benih *Chaffy* Berdasarkan Jenis Tanaman serta Berat Contoh Kerja Analisis Kemurnian

No	Jenis Tanaman	Famili	PSDN	Nama Indonesia	Berat Contoh Kerja Minimal Analisis kemurnian (gram)	Ket
1	<i>Abelmoschus</i>	<i>Malvaceae</i>	10	Okra	140	<i>non chaffy</i>
2	<i>Allium</i>	<i>Alliaceae</i>	10	Bawang	80	<i>non chaffy</i>
3	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthaceae</i>	10	Bayam	2	<i>non chaffy</i>
4	<i>Apium</i>	<i>Apiaceae</i> (<i>Umbelliferae</i>)	15	Seledri	1	<i>chaffy</i>
5	<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern	<i>Brassicaceae</i>	11	Sawi/ Caisim	4	<i>non chaffy</i>
6	<i>Brassica oleracea</i> L.	<i>Brassicaceae</i>	11	Kol	10	<i>non chaffy</i>
7	<i>Capsicum sp</i>	<i>Solanaceae</i>	10	Cabai merah, cabai rawit	15	<i>non chaffy</i>
8	<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	10	Semangka	250	<i>non chaffy</i>
9	<i>Cucumis sp</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	10	Melon, melon	70	<i>non chaffy</i>
10	<i>Cucurbita sp</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	10	Waluh	180	<i>non chaffy</i>
11	<i>Daucus carota</i> L.	<i>Apiaceae</i> (<i>Umbelliferae</i>)	15	Wortel	3	<i>non chaffy</i>
12	<i>Ipomea aquatica</i>	<i>Convolvulaceae</i>	10	Kangkung	100	<i>non chaffy</i>
13	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Asteraceae</i>	4	Selada	3	<i>chaffy</i>
14	<i>Luffa acutangula</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	10	Oyong	400	<i>non chaffy</i>
15	<i>Lycopersicum esculentum</i>	<i>Solanaceae</i>	10	Tomat	7	<i>chaffy</i>
16	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Fabaceae</i> (<i>Leguminosae</i>)	11	Buncis	700	<i>non chaffy</i>
17	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Solanaceae</i>	10	Kentang	10	<i>non chaffy</i>
18	<i>Solanum melongena</i>	<i>Solanaceae</i>	10	Terong	15	<i>non chaffy</i>
19	<i>Vigna unguilata</i>	<i>Fabaceae</i> (<i>Leguminosae</i>)	11	Kacang panjang	400	<i>non chaffy</i>
20	<i>Zea mays sp</i>	<i>Poaceae</i> (<i>Gramineae</i>)	40	Jagung baby, jagung manis	900	<i>non chaffy</i>

Tabel 3. Nomor Definisi Benih Murni

No Definisi	Kriteria Benih Murni
4	Achene, dengan atau tanpa beak, kelopak yang termodifikasi – berambut untuk dispersal atau braktea kecuali bila secara jelas tidak terdapat benih didalamnya.
	Bagian dari achene yang berukuran lebih besar dari ½ ukuran benih aslinya kecuali jika jelas terlihat tidak terdapat benih didalamnya.
	Benih dengan pericarp atau testa terkelupas sebagian atau seluruhnya.
	Bagian dari benih yang berukuran lebih besar dari ½ ukuran benih aslinya dengan pericarp atau testa terkelupas sebagian atau seluruhnya.
10	Benih, dengan atau tanpa <i>testa</i> .
	Bagian dari benih berukuran lebih besar dari ½ ukuran asli, dengan atau tanpa <i>testa</i> .
11	Benih, dengan sebagian <i>testa</i> tetap melekat.
	Bagian dari benih yang berukuran lebih besar dari ½ ukuran asli, sepanjang ada bagian <i>testa</i> yang melekat.
	<i>Fabaceae</i> : kotiledon yang terbelah tetapi tetap menempel satu sama lain didalam <i>testa</i>
	Benih dan bagian dari benih yang seluruhnya tanpa <i>testa</i> dianggap sebagai kotoran benih.
	Untuk <i>Fabaceae (Leguminosae)</i> : kotiledon yang terpisah dianggap sebagai kotoran benih tanpa melihat ada tidaknya poros radikula-plumula dan/atau lebih dari ½ <i>testa</i> masih melekat.
	Schizocarp/mericarp, dengan atau tanpa pedicel (berapapun panjangnya) kecuali bila terlihat jelas tidak terdapat benih didalamnya.
15	Bagian dari mericarp yang berukuran lebih besar dari ½ ukuran aslinya, kecuali bila terlihat jelas tidak terdapat benih didalamnya.
	Benih dengan pericarp atau <i>testa</i> terkelupas sebagian atau seluruhnya.
	Bagian dari benih dengan ukuran lebih besar ½ ukuran aslinya dengan pericarp terkelupas sebagian atau seluruhnya.
	Catatan: Buah dengan bagian pedicel lebih panjang dari shizocarp atau mericarp dilaporkan menurut 3.7 (lihat juga 3.5.2.8).
40	Caryopsis
	Bagian dari caryopsis lebih besar ½ ukuran aslinya.

Cara pengisian formulir model B.2

- a) Nama ilmiah dan nama Indonesia dari spesies benih murni misalnya *Capsicum annum* / cabai merah
- b) Persentase berdasarkan berat dari benih murni, kotoran benih dan benih tanaman lain, ditulis dalam satu desimal.
- c) Jenis kotoran benih.
- d) Hasil penetapan benih tanaman lain, seperti jumlah dan nama benih yang ditemukan sesuai nama ilmiah/nama Indonesia dan diurutkan berdasarkan urutan abjad.
- e) Apabila berat contoh kerja yang diuji untuk analisa kemurnian sama atau lebih kecil 10% dari berat yang tercantum dalam Tabel 2 kolom 6, maka dalam laporan hasil uji tidak perlu pernyataan berat contoh kerja.
- f) Apabila berat contoh kerja yang diuji menyimpang dari ketentuan dalam Tabel 2 kolom 6, contoh kerja aktual yang ditimbang dilaporkan dalam laporan hasil uji menggunakan salah satu ketentuan berikut ini:
 1. Jika berat contoh kerja lebih dari 10% dari Tabel 2 kolom 5, maka dilaporkan: "Kemurnian gram".
 2. Jika berat contoh kerja diperkirakan 2500 butir, dilaporkan : "Kemurnian gram (setara 2500 butir)".
 3. Jika contoh kirim untuk analisis kemurnian beratnya kurang dari Tabel 2 kolom 6 dilaporkan: "Berat contoh kirim hanya gram".

BAB IV

PENGUJIAN/ANALISIS DAYA BERKECAMBAH

A. Tujuan

Untuk menentukan potensi perkecambahan maksimal suatu lot benih, yang selanjutnya dapat digunakan untuk membandingkan mutu benih antar lot yang berbeda serta untuk menduga nilai pertanaman di lapang.

B. Istilah dan Definisi

- 1) Akar primer adalah akar utama kecambah yang berkembang dari radikula embrio.
- 2) Akar sekunder adalah akar selain akar primer.
- 3) Akar dengan pertumbuhan terhambat adalah akar yang utuh tetapi terlalu pendek dan lemah, tidak seimbang dengan pertumbuhan struktur kecambah lainnya.
- 4) Daun primer adalah daun pertama (sepasang daun pertama) setelah kotiledon.
- 5) Dikotiledon adalah klasifikasi kelompok tanaman yang embrionya memiliki dua kotiledon.
- 6) Embrio adalah jaringan bakal tumbuhan yang terdapat pada benih, terdiri dari axis dan kotiledon yang menempel.
- 7) Endosperm adalah jaringan makanan yang kaya nutrisi berasal dari fertilisasi dan disimpan saat masak, pada beberapa benih sebagai jaringan penyimpanan untuk cadangan makanan.
- 8) Epikotil adalah bagian poros kecambah yang terletak di antara kotiledon dan daun primer.
- 9) Fitotoksik adalah zat yang bersifat racun terhadap tanaman.
- 10) Geotropisme negatif adalah pertumbuhan ke atas (contoh: pada batang yang normal).
- 11) Hipokotil adalah bagian poros kecambah yang terletak di antara akar primer dan kotiledon.
- 12) Infeksi primer adalah terdapatnya organisme pembawa penyakit dan aktif di dalam benih itu sendiri.
- 13) Infeksi sekunder adalah organisme pembawa penyakit menyebar dari benih atau kecambah lain.
- 14) Kecambah adalah tanaman muda yang berkembang dari embrio dalam benih.

- 15) Busuk adalah kerusakan jaringan organik yang biasanya karena keberadaan mikroorganisme (mikroba).
- 16) Koleoptil adalah selaput yang menyelubungi dan melindungi ujung daun pertama pada embrio dan bibit muda di beberapa monokotiledon.
- 17) Kotiledon adalah satu atau sepasang daun pertama pada embrio dan kecambah.
- 18) Mesokotil adalah bagian poros kecambah yang berada di antara pelekatan titik skutelum dan koleoptil pada tanaman monokotiledon.
- 19) Monokotiledon adalah klasifikasi kelompok tanaman yang embrionya memiliki satu kotiledon.
- 20) Perkecambahan epigeal adalah tipe perkecambahan dimana kotiledon dan tunas dibawa ke atas permukaan tanah melalui pemanjangan hipokotil.
- 21) Perkecambahan hipogeal adalah tipe perkecambahan dimana kotiledon atau strukturnya yang sama (misalnya skutelum) tetap di dalam tanah bersama benih. Pada dikotil, tunas terangkat ke atas tanah melalui pemanjangan epikotil, atau pada beberapa monokotil melalui pemanjangan mesokotil.
- 22) Radikula adalah calon akar embrio yang berkembang menjadi akar primer.
- 23) Rambut akar adalah suatu struktur berbentuk tabung yang terdapat dipermukaan akar.
- 24) *Skutelum* adalah struktur pada embrio yang merupakan bagian kotiledon pada beberapa Poaceae yang berfungsi untuk menyerap nutrisi dari endosperma ke embrio.
- 25) *Stubby root* adalah akar yang pendek dan berbentuk seperti gada sebagai salah satu ciri gejala fitotoksis.
- 26) *Stunted root* adalah akar dengan ujung yang hilang atau rusak, tidak memperhatikan panjang akarnya.
- 27) *Terminal bud* adalah pucuk tunas yang ditutupi oleh beberapa daun yang berdiferensiasi.

C. Peralatan

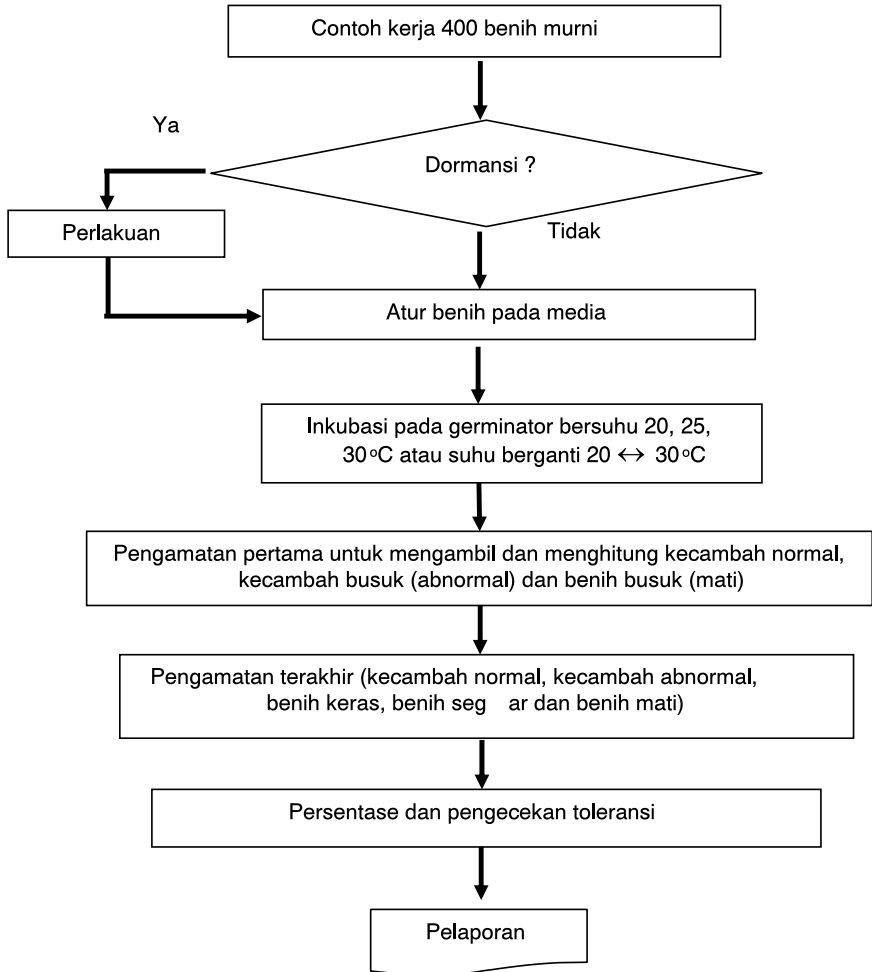
- 1) Germinator
 - a) Bersuhu konstan (20, 25 atau 30) $\pm 2^{\circ}\text{C}$ atau suhu berganti 20 \leftrightarrow 30 (20 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 16 jam dan 30 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 8 jam dengan perpindahan suhu tidak lebih dari 3 jam).

- b) Untuk menjamin kelembaban digunakan germinator yang memiliki kelembaban tinggi atau media perkecambahan dalam boks tertutup atau kantong plastik transparan.
- c) Tersedia sumber cahaya, baik alami ataupun buatan.

2) Media dan Air

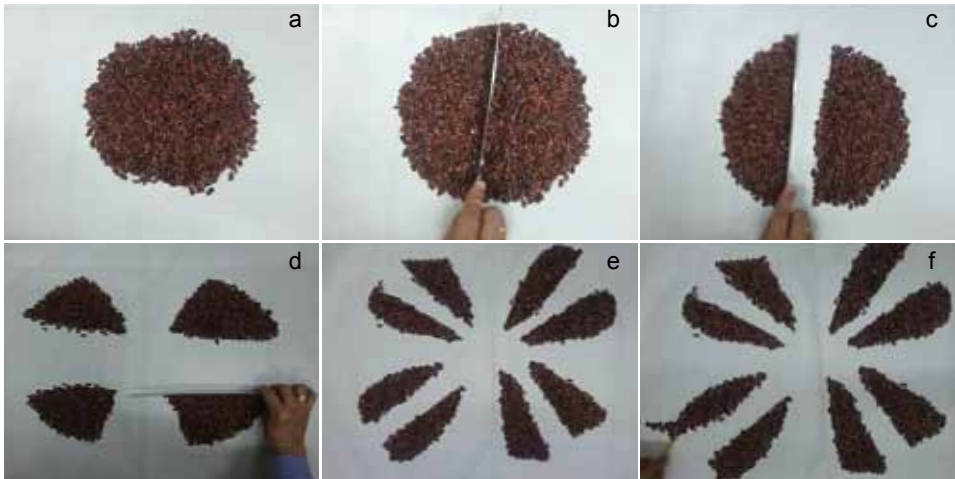
- a) Media pertumbuhan yang digunakan dalam uji daya berkecambah harus memiliki pori-pori yang cukup untuk udara dan air sebagai tempat untuk mendukung pertumbuhan sistem perakaran dan penyediaan air untuk pertumbuhan kecambah. Media dapat berupa kertas atau pasir.
- b) Media kertas dimana akar harus tumbuh di atas kertas tersebut dan tidak menembus kertas. Kertas cukup kuat digunakan selama pengujian/analisis.
- c) Media pasir dengan butiran berukuran seragam dan partikel berbentuk bulat. Disyaratkan 90 % partikel lolos pada saringan berukuran 2,0 mm.
- d) Media yang akan digunakan harus bebas dari benih, cendawan, bakteri atau bahan beracun yang dapat mempengaruhi perkecambahan benih, pertumbuhan atau evaluasi kecambah.
- e) Media pertumbuhan harus mempunyai nilai pH antara 6.0 – 7.5 dan harus memiliki tingkat salinitas yang tidak lebih dari 40 ms/m. Atau apabila media sudah terbukti tidak bersifat toksik berdasarkan hasil uji fitotoksisitas.

D. Langkah kerja



Gambar 1. Alur Pengujian/Analisis Daya Berkecambah

- 1) Pengambilan Contoh Kerja
 - a) Sub-sampel berupa benih murni yang diperoleh dari hasil analisis kemurnian atau fraksi yang mewakili contoh kirim.
 - b) Contoh kerja Pengujian/Analisis daya berkecambah berjumlah 400 butir (4 x 100 atau 8 x 50 atau 16 x 25 tergantung ukuran media dan benih).
 - c) Pengambilan contoh kerja dilakukan secara acak dengan menggunakan metode paruhan tangan (Gambar 2).



Keterangan : a. contoh kerja digundukkan; b. Dengan penggaris benih, gundukkan tersebut dibagi dua; c. Hasil pembagian diberi jarak; d. Setiap gundukkan dibagi dua lagi hingga menjadi 4 bagian; e. Setiap bagian dibagi 2 lagi sehingga menjadi 8 bagian; f. Setiap bagian diambil contoh kerjanya sesuai dengan jumlah benih tiap ulangan.

Gambar 2. Cara Pengambilan Contoh Kerja Uji Daya Berkecambah dengan Metode Paruhan Tangan

- 2) Pematihan Dormansi
 - a) Bila benih diduga dormansi sebelum dilakukan pengujian/ analisis maka pematihan dormansi dilakukan pada pengujian/ analisis awal sesuai dengan Tabel 3 kolom 7.
 - b) Bila tidak ada informasi bahwa benih dalam masa dormansi, maka benih langsung ditabur.

- 3) Pengujian Daya Berkecambah

Beberapa metode uji daya berkecambah yang dapat digunakan sebagai berikut:

 - a) Uji Antar Kertas Digulung (AKG) atau Between Paper (BP)
 - (1) Jumlah kertas untuk setiap gulungan tergantung ketebalan kertas dan jenis benih.
 - (2) Kertas direndam air hingga basah seluruhnya, kemudian ditiriskan hingga air yang tidak terserap keluar dari kertas sehingga cukup lembab dengan ciri ketika ditekan ke

- arah samping tidak ada kelebihan air yang keluar dari kertas.
- (3) Benih diatur pada setengah lembar kertas dan lipat sisanya hingga menutupi benih kemudian gulung tidak ketat.
 - (4) Masukkan gulungan dalam kantong plastik untuk menjaga kelembaban, kemudian masukkan ke dalam germinator dengan suhu yang sesuai.
- b) Uji Pada Kertas (PK) atau Top of Paper (TP)
- (1) Letakkan kertas di dalam wadah seperti boks transparan.
 - (2) Atur Potong kertas sesuai dengan bentuk dan ukuran wadah yang akan digunakan.
 - (3) Jumlah kertas untuk setiap ulangan tergantung ketebalan kertas dan jenis benih.
 - (4) Kertas direndam air hingga basah seluruhnya, kemudian ditiriskan hingga air yang tidak terserap benih di atas kertas lembab tersebut sebanyak 100, 50 atau 25 tergantung ukuran benih dan wadah.
 - (5) Tutup boks dengan tutup transparan dan masukkan ke germinator dengan suhu yang sesuai.
- c) Uji dengan media pasir (P)
- (1) Tempatkan pasir steril pada boks.
 - (2) Lembabkan pasir dengan menambahkan air hingga mencapai kelembaban yang cukup.
 - (3) Untuk memastikan aerasi, aduk-aduk pasir dan jangan dipadatkan.
 - (4) Atur benih 25, 50 atau 100 dalam setiap boks sesuai ukuran boks dan tutup dengan 1 – 2 cm lapisan pasir.
 - (5) Tutup boks dengan tutup transparan untuk menjaga kelembaban dan ketika kecambah mulai menyentuh tutup boks, tutup tersebut dibuka.
 - (6) Letakan boks dalam ruangan dengan suhu yang sesuai. Pada saat pengujian/analisis, apabila pasir terlihat kering maka dapat dilakukan penyemprotan secara merata. Penyemprotan dilakukan sedemikian rupa sehingga seluruh ulangan memiliki kondisi yang relatif sama.

- (7) Untuk pemakaian media pasir yang lebih dari satu kali harus dilakukan pengecekan media kembali.
- d) Uji dengan Kertas Kipas (Pleated Paper)
 - (1) Kertas dilipat seperti kipas.
 - (2) Lembabkan kertas dengan air.
 - (3) Letakkan kertas pada boks transparan sesuai dengan ukuran kertas.
 - (4) Tabur benih diantara lipatan kertas dengan jarak tertentu.
 - (5) Satu kertas lipat adalah satu ulangan (50 atau 100 butir sesuai dengan ukuran benih dan ukuran kertas kipas).
 - (6) Letakkan boks pada germinator dengan suhu yang sesuai.
- 4) Evaluasi Kecambah
 - a) Evaluasi dilakukan setidaknya dua kali sesuai Tabel 3 kolom 5 dan 6. Apabila daya berkecambah maksimum telah dicapai sebelum akhir periode pengujian maka pengujian dapat diakhiri.
 - b) Evaluasi kecambah sesuai dengan kelompok kecambah sesuai Tabel 3 kolom 8.
 - c) Evaluasi pertama sesuai Tabel 3 kolom 5 dilakukan untuk mengambil dan menghitung kecambah normal, kecambah busuk yang digolongkan dalam abnormal dan benih busuk yang digolongkan dalam benih mati.
 - d) Evaluasi terakhir dilakukan sesuai Tabel 3 kolom 6 atau sebelumnya bila benih telah menunjukkan perkecambahan maksimum. Sebaliknya bila masih banyak benih sehat yang akan berkecambah atau kecambah yang memiliki kemungkinan tumbuh normal, maka perkecambahan diperpanjang hingga setengah dari waktu pengujian/analisis. Atas permintaan pemohon, pengujian/analisis dapat dihentikan setelah mencapai persentase kecambah normal tertentu.
 - e) Evaluasi tambahan dapat dilakukan antara evaluasi pertama dan terakhir bila benih banyak terserang cendawan. Hal ini untuk menyelamatkan kecambah normal.

f) Pada evaluasi terakhir mengelompokkan kecambah dalam kecambah normal, abnormal, benih keras, benih segar dan mati. Dengan ciri – ciri sebagai berikut :

1. Ciri - ciri kecambah normal:

(1) Kecambah sempurna: kecambah dengan semua struktur esensialnya berkembang baik, lengkap, seimbang (proporsional) dan sehat.

(a) Sistem perakaran berkembang baik dengan akar primer yang panjang dan atau akar sekunder yang cukup (tergantung jenis benih).

(b) Pada tipe perkecambahan epigeal, hipokotil tumbuh lurus dan memanjang, sedang pada tipe perkecambahan hipogeal, epikotil berkembang baik, dan pada kecambah padi, jagung, gandum dan sorgum mesokotil tumbuh memanjang.

(c) Satu kotiledon pada monokotiledon atau dua kotiledon pada dikotiledon yang biasanya berwarna hijau dan berbentuk seperti daun.

(d) Satu atau dua daun primer yang berwarna hijau.

(e) Terlihat ada tunas pucuk.

(f) Pada kecambah padi, jagung, gandum dan sorgum, koleoptil berkembang baik, lurus dan berisi daun hijau menuju ujung koleoptil dan seringkali telah muncul menembus ujung koleoptil.

(2) Kecambah dengan sedikit kerusakan atau kekurangan: kecambah yang memiliki cacat ringan pada struktur esensialnya, namun bagian lainnya menunjukkan perkembangan yang baik dan serupa dengan perkembangan kecambah sempurna pada pengujian/analisis yang sama.

(a) Sedikit kerusakan pada akar primer yang tidak mempengaruhi jaringan penghubung atau pertumbuhan agak terhambat.

- (b) Akar primer mengalami kerusakan atau tidak berkembang tetapi akar sekunder tumbuh dengan baik dan berjumlah cukup pada kecambah jagung.
 - (c) Hipokotil, epikotil atau mesokotil hanya sedikit mengalami kerusakan yang tidak mempengaruhi jaringan penghubung.
 - (d) Sedikit kerusakan pada kotiledon dan atau daun primer yaitu $\frac{1}{2}$ atau lebih luas area yang dapat berfungsi normal (aturan 50 %). Tetapi aturan ini tidak berlaku apabila jaringan di sekitar tunas pucuk mengalami nekrotik atau busuk.
 - (e) Hanya satu kotiledon dan atau daun primer yang tumbuh normal pada dikotiledon.
 - (f) Terdapat 3 atau lebih kotiledon dan atau daun primer pada kecambah yang seharusnya hanya memiliki 2 kotiledon atau daun primer.
 - (g) Kotiledon yang menyatu.
 - (h) Sedikit kerusakan pada koleoptil.
 - (i) Khusus pada kecambah jagung, kerusakan pada koleoptil seperti terbelah lebih dari $\frac{1}{3}$, bengkok, ujung koleoptil tidak ada, terbelah pada bagian bawah atau bagian belakang, tidak mempengaruhi penilaian kecambah bila daun primer telah muncul, berbentuk sempurna atau rusak di bagian ujung kurang dari $\frac{1}{3}$ bagian.
 - (j) Koleoptil berpilin longgar atau membentuk loop karena terperangkap di dalam lemma-palea atau kulit buah.
 - (k) Panjang daun primer di dalam koleoptil lebih dari $\frac{1}{2}$ panjang koleoptil.
- (3) Kecambah dengan infeksi sekunder: kecambah yang sesuai dengan salah satu kategori di atas, tapi terinfeksi oleh cendawan atau bakteri yang berasal dari sumber lain, tidak dari benih tersebut.

2. Ciri kecambah abnormal:
 - (1) Kecambah rusak, yaitu kecambah dengan satu atau lebih struktur esensialnya tidak ada atau rusak parah. Kecambah atau struktur esensial yang berubah bentuk atau tidak proporsional, yaitu pertumbuhan lemah atau mengalami gangguan fisiologis.
 - (2) Kecambah busuk, yaitu kecambah yang salah satu struktur esensialnya terkena penyakit atau busuk akibat infeksi primer sehingga menghambat perkembangannya menjadi kecambah normal.
 - (3) Kode abnormalitas kecambah adalah sebagai berikut :
 - 0 Abnormalitas keseluruhan
 - 00 Kecambah:
 - 00/01 berubah bentuk
 - 00/02 retak
 - 00/03 munculnya kotiledon dari kulit benih sebelum akar primer
 - 00/04 terdiri dari kecambah kembar yang menyatu
 - 00/05 ada penebalan disekeliling endosperma
 - 00/06 berwarna kuning atau putih
 - 00/07 mengecil dan memanjang
 - 00/08 transparan
 - 00/09 membusuk akibat infeksi primer
 - 00/10 menunjukkan gejala fitotoksik
 - 00/11 tidak seimbang
 - 00/12 pada Poaceae, endosperm yang terlepas
 - 1 Abnormalitas pada sistem perakaran
 - 11 Akar primer:
 - 11/01 kerdil
 - 11/02 pendek dan menebal
 - 11/03 pertumbuhan terhambat
 - 11/04 tidak ada
 - 11/05 pecah yang dalam atau patah
 - 11/06 terbelah dari ujung atau terbelah hingga dalam

- 11/07 terperangkap dalam kulit benih
- 11/08 menunjukkan geotropisme negatif
- 11/09 mengkerut
- 11/10 mengecil dan memanjang
- 11/11 transparan
- 11/12 membusuk akibat infeksi primer

Catatan : akar sekunder yang menunjukkan satu atau lebih kerusakan diatas termasuk abnormal dan tidak dapat menggantikan akar primer yang abnormal jika keberadaan beberapa akar sekunder (contoh: Cucumis) menentukan kriteria kecambah.

12 Akar seminal:

- 12/01 kerdil
- 12/02 pendek dan menebal
- 12/03 pertumbuhan terhambat
- 12/04 tidak ada
- 12/05 menunjukkan geotropisme negatif
- 12/06 transparan
- 12/07 busuk akibat infeksi primer

2 Abnormalitas dari sistem tunas

21 Hipokotil, epikotil atau mesokotil:

- 21/01 pendek dan tebal
- 21/02 tidak membentuk umbi (hanya pada Cyclamen)
- 21/03 mengalami keretakan yang dalam atau patah
- 21/04 terbelah
- 21/05 tidak ada
- 21/06 bengkok atau membentuk lingkaran
- 21/07 membentuk spiral
- 21/08 terpilin ketat
- 21/09 mengkerut
- 21/10 mengecil dan memanjang
- 21/11 transparan
- 21/12 membusuk akibat infeksi primer
- 21/13 menunjukkan fototropisme negatif

- 22 Tunas pucuk dan jaringan disekitarnya:
 - 22/01 berubah bentuk
 - 22/02 rusak
 - 22/03 tidak ada
 - 22/04 mengalami nekrotik (kematian jaringan)
 - 22/05 busuk karena infeksi primer

Catatan: tanpa melihat keberadaan tunas samping/auxillary buds (contoh: Pisum) muncul dari ketiak (axils) kotiledon atau daun primer, kecambah dianggap abnormal jika pucuk utama gagal berkembang secara normal.

- 3 Abnormalitas kotiledon dan daun primer
- 31 Kotiledon (terapkan aturan 50 %):
 - 31/01 bergelombang atau keriting
 - 31/02 berubah bentuk
 - 31/03 pecah atau rusak
 - 31/04 terbelah atau tidak ada
 - 31/05 warna pudar atau nekrotik
 - 31/06 transparan
 - 31/07 membusuk akibat infeksi primer
 - 31/08 menyatu pada kedua sisi

Catatan: Terlepas dari ketetapan 50 %, kecambah dimasukkan ke dalam kategori abnormal jika:

- (a) kerusakan atau busuk pada kedua titik menempelnya kotiledon sampai poros kecambah atau didekat tunas pucuk.
- (b) Jika satu titik tempat menempelnya kotiledon nekrotik atau busuk dan kotiledon yang lain tidak utuh

- 32 Khusus untuk Allium spp. Kotiledon :
 - 32/01 pendek dan tebal
 - 32/02 bengkok atau membentuk lingkaran
 - 32/03 membentuk spiral
 - 32/04 tidak menunjukkan bentuk 'lutut' yang nyata
 - 32/05 mengkerut

32/06 mengecil dan memanjang

33 Daun primer (gunakan aturan 50 %):

33/01 berubah bentuk

33/02 rusak

33/03 tidak ada

33/04 mengalami pemudaran warna

33/05 nekrotik

33/06 berbentuk normal, tapi berukuran kurang dari seperempat ukuran normal (hanya untuk Phaseolus)

33/07 busuk karena infeksi primer

4 Abnormalitas kotiledon dan daun primer

41 Koleoptil:

41/01 pendek gemuk atau berubah bentuk

41/02 patah

41/03 hilang

41/04 tidak sempurna atau tidak memiliki ujung

41/05 bengkok yang nyata atau berbentuk loop

41/06 berbentuk spiral

41/07 terpilin kuat

41/08 terbelah lebih dari satu per tiga panjang dari ujung

41/09 mengecil dan memanjang

41/10 busuk karena infeksi primer

41/11 terbelah selain dari ujung

41/12 terperangkap dalam lemma atau testa

Catatan: Kecambah dengan koleoptil yang terperangkap dibawah lemma atau kulit benih dianggap normal apabila bagian lainnya berkembang normal. Bila pertumbuhan kecambah terlihat kerdil, maka kecambah dianggap abnormal

Hanya untuk Jagung:

kecambah dikatakan abnormal jika bersamaan dengan kerusakan pada daun primer, koleoptil memiliki cacat berikut:

- (a) Jika daun primer telah muncul saat evaluasi:
- Koleoptil terbelah lebih dari sepertiga panjang dari bagian ujung.
 - Koleoptil bengkok secara nyata (sangat jelas).
 - Ujung koleoptil rusak atau hilang.
 - Koleoptil terbelah pada lokasi dibawah bagian ujung.
- (b) Jika daun primer belum muncul saat evaluasi:
- Ujung koleoptil rusak atau tidak ada.
 - Koleoptil terbelah lebih dari sepertiga panjang dari bagian ujung.
 - Daun menembus di bawah bagian ujung koleoptil.

42 Daun primer:

42/01 panjang kurang dari setengah koleoptil

42/02 tidak ada

42/03 tersobek atau berubah bentuk

42/04 menembus keluar dari bagian bawah koleoptil

42/05 kuning atau putih (tidak berklorofil)

42/06 busuk karena infeksi primer

3. Benih keras adalah benih yang hingga akhir pengujian/ analisis daya berkecambah masih tetap keras karena tidak dapat menyerap air.
4. Benih segar adalah benih yang mampu menyerap air tetapi gagal berkecambah (karena adanya dormansi) pada kondisi perkecambahan yang diberikan tetapi masih bersih, kuat dan terlihat memiliki potensi untuk tumbuh menjadi kecambah normal.
5. Benih mati adalah benih yang hingga akhir pengujian/ analisis tidak keras, tidak segar atau tidak menunjukkan sedikitpun pertumbuhan. Benih mati biasanya lunak, berubah warna, seringkali bercendawan dan tidak ada tanda-tanda pertumbuhan.

- h) *Multigerm* seed unit (unit benih dengan embrio majemuk) yaitu dua kecambah dihasilkan dari satu benih.

Bila sebuah unit menghasilkan lebih dari satu kecambah normal, hanya satu yang dihitung untuk penetapan persentase daya berkecambah.

E. Pelaporan

1) Penghitungan

- a) Menghitung jumlah dan persentase kecambah normal, abnormal, benih keras, benih segar dan benih mati yang diperoleh pada tiap ulangan.
- b) Menghitung rata-rata persentase kecambah normal, abnormal, benih keras, benih segar, benih mati dari ulangan, kemudian dilakukan pembulatan:
 - (1). Persentase kecambah normal dibulatkan ke angka terdekat. Nilai 0.5 dibulatkan ke atas (menjadi 1).
 - (2). Hitung nilai interger (bilangan bulat) dari persentase yang tersisa, jumlahkan nilai yang diperoleh. Jika jumlahnya 100, perhitungan telah selesai, bila jumlah kurang atau lebih dari 100, maka dilanjutkan ke poin 3.
 - (3). Untuk persentase kecambah abnormal, benih keras, benih segar dan benih mati:
 - (a). Kategori yang memiliki nilai desimal terbesar diantara empat kategori tersebut dibulatkan ke atas. Gunakan nilai tersebut sebagai hasil akhir yang akan dilaporkan, sedangkan kategori lain hanya diambil nilai intergernya.
 - (b). Jumlahkan semua persentase. Apabila jumlahnya 100 maka perhitungan selesai, bila tidak maka langkah 3) (a) dan (b) diulang.
 - (4). Bila terdapat nilai desimal yang sama, maka prioritas pembulatan ke atas berturut-turut adalah kecambah abnormal, benih keras, benih segar dan benih mati.

2) Pengecekan Toleransi

- a) Hasil uji dapat dilanjutkan untuk dilaporkan bila selisih persentase terbesar dan terkecil antar ulangan tidak lebih dari batas yang diperbolehkan (toleran), sebagaimana pada Tabel

.....

Rata-rata persentase kecambah		Toleransi	Rata-rata persentase kecambah		Toleransi
51-100 %	0-50 %		51-100 %	0-50 %	
99	2	5	87-88	13-14	13
98	3	6	84-86	15-17	14
97	4	7	81-83	18-20	15
96	5	8	78-80	21-23	16
95	6	9	73-77	24-28	17
93-94	7-8	10	67-72	29-34	18
91-92	9-10	11	56-66	35-45	19
89-90	11-12	12	51-55	46-50	20

- b) Apabila hasil uji di luar batas toleransi antar ulangan (Tabel), maka dilakukan uji/analisis ulang
- c) Pengujian/analisis ulang dilakukan dengan menggunakan metode yang sama atau berbeda, tergantung pada investigasi penyebab ketidaksesuaian sebagai berikut:
- (1) Bila diduga benih dalam kondisi dorman (benih segar $\geq 5\%$) harus dilakukan pematangan dormansi pada pengujian/analisis ulang atau diverifikasi menggunakan uji cepat viabilitas/uji tetrazolium (Lampiran).
 - (2) Bila pengujian/analisis menampilkan perkecambahan yang kurang memuaskan, hasil uji meragukan atau evaluasi sulit dilakukan karena fitotoksisitas atau penyebaran cendawan atau bakteri. Uji ulang dapat dilakukan dengan metode yang sama atau berbeda. Hasil uji yang dilaporkan adalah hasil uji yang memberikan hasil terbaik.
 - (3) Bila diketahui adanya kesalahan pada kondisi pengujian/analisis maka uji/analisis ulang dilakukan dengan metode yang sama atau berbeda, sebagai contoh: suhu yang tidak sesuai, kekeringan media, waktu pengamatan

tidak sesuai, kesalahan pada evaluasi kecamabah atau pada penghitungan. Hasil yang dilaporkan adalah hasil uji ulang.

- (4) Bila selisih data terbesar dan terkecil antar ulangan melebihi kisaran toleransi pada Tabel 1 kemudian uji ulang dilakukan dengan metode yang sama, maka dicek toleransi antar kedua pengujian (Tabel 2). Jika hasil uji ulang toleran dengan hasil uji pertama maka nilai rata-rata kedua pengujian/analisis tersebut dilaporkan dalam laporan hasil uji.
- (5) Jika kedua pengujian tidak toleran maka dilakukan pengujian ulang menggunakan contoh duplikat.

Tabel 2. Toleransi Antar Dua Pengujian/Analisis @ 400

Persentase rata-rata dua Pengujian/Analisis		Toleransi
51-100 %	0-50 %	
98 – 99	2 – 3	2
95 – 97	4 – 6	3
91 – 94	7 – 10	4
85 – 90	11 – 16	5
77 – 84	17 – 24	6
60 – 76	25 – 41	7
51 – 59	42 – 50	8

- 3) Cara penulisan hasil laporan uji daya berkecambah :
 - a) Hasil uji dicantumkan pada kartu hasil pengujian/analisis daya berkecambah (formulir Model B.3).
 - b) Kategori abnormalitas ditulis di catatan dengan menggunakan kode sesuai dengan urutan penulisan dari yang terbanyak ditemukan.
 - c) Semua kategori dilaporkan dalam angka bulat.
 - d) Dalam laporan hasil Pengujian/Analisis (formulir Model B3), harus dicantumkan pada kolom-kolom yang sesuai setidaknya hal-hal sebagai berikut :

- (1) Waktu pengujian/analisis meliputi waktu perpanjangan, tetapi tidak termasuk waktu untuk perlakuan pematangan dormansi.
- (2) Persentase yang dihitung: kecambah normal, abnormal, benih keras, benih segar dan benih mati. Jika suatu kategori tidak ditemukan, harus dilaporkan sebagai '0'.
- (3) Bila pelanggan meminta pengujian/analisis dihentikan setelah mencapai persentase kecambah normal tertentu sebelum selesainya pengujian/analisis, maka hanya persentase kecambah normal yang dilaporkan dan kategori lain ditulis 'T'.
- (4) Metode perkecambahan, setidaknya dicantumkan media dan suhu.
- (5) Perlakuan atau metode yang digunakan untuk pematangan dormansi.
- (6) Persentase perkecambahan yang diperoleh dalam waktu yang telah ditetapkan jika periode perkecambahan diperpanjang, pernyataan yang harus dimasukkan sebagai berikut: "Setelah periode yang ditetapkan selama hari, terdapat% kecambah normal".

F. Laporan Hasil Pengujian/Analisis Mutu Benih

Hasil pengujian mutu benih yang meliputi penetapan kadar air, analisis kemurnian dan pengujian/analisis daya berkecambah dilaporkan pada laporan hasil pengujian (formulir Model B.4).

Tabel 3. Metode Uji Daya Berkecambah Tanaman Hortikultura

No.	Jenis Tanaman Media		Metode				Pematahan Dormansi	Kelompok Kecambah	
			Suhu (°C)	Evaluasi I (Hari)	Evaluasi Akhir (Hari)				
1	2		3	4	5	6	7	8	
1.	<i>Allium fistulosum</i>	Daun bawang	PK; AKG; P	20; 15	6	12	Pendinginan pendahuluan	A	A-1-1-1-1
2.	<i>Allium</i> sp.	Bawang merah	PK; AKG; P	20; 15	6	12	Pendinginan pendahuluan	A	A-1-1-1-1
3.	<i>Amaranthus</i> sp.	Bayam	TP	20↔30; 20; 25*	4/5	14	KNO ₃ ; Pendinginan pendahuluan	E	A-2-1-1-1
4.	<i>Apium graveolens</i>	Seledri	PK	20↔30; 25	10	21	KNO ₃ ; Pendinginan pendahuluan, penyinaran	E	A-2-1-1-1
5.	<i>Brassica oleracea</i>	Kol	AKG; PK	20↔30; 25*	5	10	KNO ₃ ; Pendinginan pendahuluan	E	A-2-1-1-1
6.	<i>Brassica rapa</i>	Sawi	AKG; PK	20↔30; 25*	5	7	KNO ₃ ; Pendinginan pendahuluan	E	A-2-1-1-1
7.	<i>Capsicum</i> spp.	Cabai	PK; AKG; P	20↔30; 25*	7	14	KNO ₃ ;	E	A-2-1-1-1
8.	<i>Carica papaya</i>	Pepaya	Referen :IPB, Sumanah	30	14	21	-	E	
9.	<i>Citrullus lunatus</i>	Semangka	AKG; KK; P	20↔30; 25	5	14	-	E	A-2-1-1-2
10.	<i>Cucumis melo</i>	Melon	KK; AKG; P	20↔30; 25	4	8	-	E	A-2-1-1-2
11.	<i>Cucumis sativus</i>	Mentimun	PK; AKG; P	20↔30; 25	4	8	-	E	A-2-1-1-2
12.	<i>Cucurbita moschata</i>	Waluh	KK; AKG; PK	20↔30; 25	4	8	-	E	A-2-1-1-2
13.	<i>Daucus Carota</i>	Wortel	PK; AKG	20↔30; 20	7	14	-	E	A-2-1-1-1
14.	<i>Glycine max</i>	Kedelai sayur	AKG; P	20↔30; 25	5	8	-	E	A-2-1-1-1
15.	<i>Ipomea aquatica</i>	Kangkung	AKG; P	30	4	10	-	E	A-2-1-1-1
16.	<i>Lactuca sativa</i>	Selada	TP; AKG	20; 25*	4	7	Pendinginan pendahuluan	E	A-2-1-1-1
17.	<i>Luffa acutangula</i>	Oyong/ gambas	AKG; P	30	4	14	-	E	A-2-1-1-2
18.	<i>Momordica charantica</i>	Paria	AKG; P	20↔30; 30	4	14	-	E	A-2-1-1-2
19.	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Buncis	AKG; P	20↔30; 25; 20	5	9	-	F	A-2-1-2-2

20.	<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomat	PK; AKG; P	20↔30; 25*	5	14	KNO ₃	E	A-2-1-1-1
21.	<i>Solanum melongena</i>	Terong	PK; AKG; P	20↔30; 25*	7	14	-	E	A-2-1-1-1
22.	<i>Vigna unguiculata</i>	Kacang panjang	AKG; P	20↔30; 25	5	8	-	F	A-2-1-2-2
23	<i>Zea mays</i>	Jagung	AKG; P	20↔30; 25; 20	4	7	-	D	A-1-2-3-2

Keterangan :

Kolom 3 : media dan cara pengecambahan (AKG = Uji Antar Kertas Digulung; PK = Uji Pada Kertas; P = Pasir)

Kolom 4 : suhu yang digunakan ($\pm 2^{\circ}\text{C}$)

* : Hasil validasi metode

Kolom 5 : perkiraan waktu yang tepat untuk evaluasi kecambah I. Dapat ditunda bila pada hari yang ditentukan dalam tabel belum ada kecambah normal

Kolom 6 : pelaksanaan evaluasi terakhir bila Pengujian/Analisis belum diakhiri sebelumnya atau bila tidak diperlukan perpanjangan Pengujian/Analisis

Kolom 7 : metode pematangan dormansi

Kolom 8 : tipe dan kelompok perkecambahan :

Huruf A, B, C, D, E, F, G : Tipe perkecambahan

Angka pertama : monokotil (1), dikotil (2)

Angka ke dua : perkecambahan epigeal (1), hipogeal (2)

Angka ke tiga : perkembangan tunas tanpa perpanjangan epikotil (1), dengan perpanjangan epikotil (2), tunas pucuk di dalam koleoptil (3), hipokotil seperti tabung (4)

Angka ke empat : akar primer harus ada (1), akar sekunder dapat menggantikan akar primer (2), beberapa akar seminal dapat menggantikan akar primer (3)

BAB V PENGUJIAN KESEHATAN BENIH

Tujuan

Mendeteksi dan mengidentifikasi cendawan terbawa benih pada benih Semangka dan Melon, karena pada kedua komoditas ini tercantum standar maksimal untuk Cendawan terbawa benih *Colletotrichum lagenarium* (Tabel 1)

Tabel 1. Standar minimal keberadaan penyakit tular benih pada benih semangka dan melon berdasarkan pedoman teknis sertifikasi benih tanaman hortikultura (nomor : 01/Kpts/SR.130/12/2012)

Komoditas	Parameter	Satuan	Kelas Benih			
	Kesehatan (maks)		BD	BP	BR	Hibr
Semangka	Anthraknose (<i>C. lagenarium</i>)	%	0,0	0,2	0,5	0,5
Melon	Anthraknose (<i>C. lagenarium</i>)	%	0,0	0,2	0,5	0,5

Istilah dan definisi

1. Kesehatan benih

Kesehatan benih terutama ditandai oleh ada tidaknya penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti cendawan, bakteri, virus dan penyakit yang disebabkan oleh hewan seperti cacing dan serangga, atau secara fisiologis karena adanya kekurangan unsur mikro.

2. Inkubasi

Pemeliharaan benih dalam suatu lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan patogen, sehingga dapat terlihat dengan mudah adanya gejala serangan atau bentuk/susunan patogen.

3. Masa inkubasi

Waktu antara meletakkan benih di dalam *agar*, kertas *blotter* atau sebagainya, sampai dengan saat tercatat adanya infeksi atau keadaan kesehatan benih tersebut.

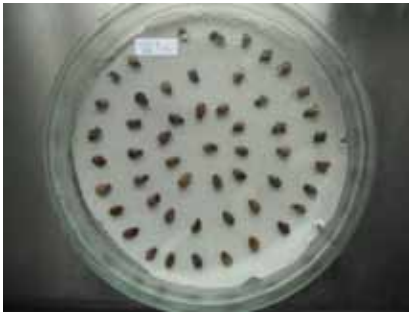
4. **Perlakuan pendahuluan**
Semua perlakuan laboratoris baik secara fisik maupun kimia yang diberikan kepada contoh kerja sebelum inkubasi. Perlakuan ini diberikan untuk mempermudah inkubasi.
5. **Pengujian kesehatan benih**
Pemeriksaan pada benih dengan menggunakan metode khusus untuk mengetahui adanya mikroorganisme atau penyakit pada benih.
6. **Patogen**
Penyebab penyakit atau faktor yang dapat menyebabkan terjadinya penyakit. Penyebab penyakit (biotik) dapat berupa cendawan, virus, bakteri, nematoda dan sebagainya.
7. **Inokulum**
Bahan yang mengandung atau bagian dari bibit penyakit yang dapat ditularkan, dapat berupa miselium, spora, konidia, sel-sel bakteri, zarah-zarah virus dan sebagainya.

Peralatan

Mikroskop stereo, Mikroskop compound, Laminar flow, Autoklaf, Peralatan gelas dan peralatan Molekuler (PCR)

Langkah Kerja

- a. *Metode dengan inkubasi (Metode blotter test)*
Empat ratus (400) Benih ditabur pada petri yang dialasi tiga lembar kertas filter lembab. Jarak antara tiap-tiap benih dibuat sedemikian rupa hingga tidak saling bersinggungan satu sama lain (Gambar 1.). Kemudian petridish tersebut disimpan di lemari inkubator bersuhu (20 ± 2) °C pada 24 jam pertama, kemudian benih diinkubasi pada suhu -20°C pada 24 jam kedua dan kembali ke inkubator suhu $(20 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari (hingga masa inkubasi selesai) . Setelah masa inkubasi selesai benih diperiksa dengan menggunakan mikroskop stereo dan compound.



Gambar 1.
Metode Blotter test

b. Metode dengan Inkubasi (Metode Agar)

Empat ratus (400) benih dicuci dengan NaOCl 1% selama 1 menit kemudian ditabur pada cawan Petri yang berisi agar padat. Jarak antara tiap-tiap benih dibuat sedemikian rupa hingga tidak saling bersinggungan satu sama lain (Gambar 2.). Kemudian petridish tersebut disimpan di lemari inkubator bersuhu (20 ± 2)°C selama 5 hari (sampai masa inkubasi selesai). Setelah masa inkubasi selesai benih diperiksa dengan menggunakan mikroskop stereo dan compound.



Gambar 2. Metode Agar test / PDA

c. Metode Molekuler (dengan PCR)

Isolasi dan ekstraksi.

Pada metode ini menggunakan metode isolasi yaitu langsung dari benih, dari kecambah sebanyak 400 butir yang dilaksanakan secara individual (satu kecambah dari satu benih)

Pengujian PCR untuk mendeteksi cendawan *Colletotrichum* sp. dilakukan dgn menggunakan primer spesifik pada tingkat genus yaitu : COL1/COL2 dengan urutan basa AAC CCT TTG TGA ACR TAC CTA / TTA CTA CGC AAA GGA GGC. primer spesifik pada tingkat spesies yaitu CcInt/ITS4 dengan urutan basa TCT CCC CGT CCG CGG GTG G / TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC.

Amplifikasi.

Program amplifikasi terdiri atas 30 siklus dengan tahapan predenaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, suhu 58°C selama 30 detik untuk *annealing* ,ekstensi (sintesis untai DNA baru) pada suhu 72°C selama 1 menit, kemudian diteruskan tahap pasca *extention* 72°C selama 10 menit.

Visualisasi Hasil PCR. Amplifikasi DNA hasil PCR dilakukan dengan elektroforesis gel Agarosa 3 %. Setelah larutan Agarosa tersebut hangat, kemudian ditambahkan Gel Red sebanyak 5 µl per 100ml. Larutan tersebut kemudian dituang ke dalam cetakan dan didiamkan selama satu jam. Setelah terbentuk gel, maka sebanyak 3 µl marker DNA dan 5 µl DNA hasil PCR dimasukkan masing-masing ke dalam sumur gel dan dilakukan elektroforesis. Elektroforesis dilakukan selama 1 jam dengan voltase sebesar 100V. DNA yang telah dielektroforesis kemudian divisualisasi di bawah UV transiluminator.

d. Metode Molekuler (dengan Real Time PCR)

Isolasi DNA

1. Pengujian dilaksanakan terhadap 400 butir, dilaksanakan secara individual (satu daun dari 1 kecambah) dihaluskan menjadi bubuk dengan bantuan nitrogen cair.
2. Bubuk dipindahkan ke mikrotube ukuran 15 ml hingga tertera pada ukuran 2 ml.
3. Tambahkan 5 ml buffer lisis (150 mM EDTA, 50 mM Tris pH 8, 1% lauroyl sarkosin, 500 mg/ml pronase E).
4. Vorteks selama 5 detik.
5. Sentrifugasi pada 10.000 rpm (12.900 g) selama 20 menit.

6. Pindahkan supernatan pada mikrotube baru dan asam nukleat diendapkan dengan 0.7 volume larutan PEG/NaCl (20% PEG 8000 dan 2.5 M NaCl).
7. Sampel diinkubasi dalam es selama 5-15 menit.
8. Sampel disentrifugasi selama 5 menit pada 4000 g.
9. Supernatan dibuang dan DNA disuspensikan kembali dengan 2 ml buffer TE.
10. Kelebihan protein dan RNA dihilangkan dengan menambahkan ammonium asetat 2.5 M, inkubasi dalam es selama 20 menit, dan sentrifugasi pada 9000 g selama 15 menit.
11. Supernatan dipindahkan ke tabung mikro baru dan ditambahkan 0.6 volume isopropanol untuk mengendapkan DNA.
12. Tabung mikro diletakkan pada suhu 25°C selama beberapa menit (jika endapan DNA segera terlihat) sampai 30 menit (jika DNA tidak segera terlihat),
13. Sampel disentrifugasi pada 4000 g selama 5 menit.
14. Supernatan dibuang, pellet DNA disuspensikan dengan 1 ml buffer TE.
15. DNA diendapkan sekali lagi dengan PEG/NaCl, kemudian sekali lagi dengan ammonium asetat diikuti dengan isopropanol seperti pada langkah sebelumnya (langkah 6-12).
16. Sampel disentrifugasi pada 7000 rpm selama 10 menit.
17. Supernatan dibuang, pellet DNA disuspensikan dengan 0.5 mL buffer TE, dan diencerkan sampai konsentrasi 50-100 ng/ml.

Amplifikasi PCR

1. Reaksi amplifikasi dilakukan dalam 25 ml volume yang mengandung 2 ml (25-60 ng) cetakan DNA, 1 ml primer co-m337F1/R1 (F1: AAAGGGGTGGGCTCGAAAG, R1: ACGGGCGGTGTGTACAAAG) (20 mM), 2.5 ml 10x buffer PCR (150 mM tris -HCl, 500 mM Tris-HCl, pH 8.0 dengan 25 mM MgCl₂), 0.2 ml dNTPs, 100 mM, dan 0.15 ml AmpliTaq DNA polimerase (5 u/ml).
2. DNA genom diamplifikasi menggunakan primer berdasarkan protokol berikut: 5 menit 95°C, 35 siklus dari 1 menit 95°C (denaturisasi), 20 detik 55°C (annealing), dan 1 menit 72°C (ekstensi), kemudian diakhiri

dengan 5 menit 72°C.

3. Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis dengan 1.5% gel agarose dalam buffer TBE (89 mM Tris base, 89 mM boric acid, 2 mM EDTA pH 8.0).
4. Visualisasi setelah pewarnaan dengan ethidium bromida (0.5 mg/l) dibawah sinar UV. Pita akan terlihat pada ukuran 337 bp.

Pengujian TaqMan PCR

1. 25 ml PCR mixture yang terdiri dari 1 ml DNA genom, 0.2 mM spesifik taqMan probe CCAGCATC, 0.3 mM primer spesifik (F1: ATACCTTCGGTGGGCTGAG, R1: GGGTCGCTGATGACCATTAC) dan 12.5 ml universal master mix.
2. Real-time PCR dilakukan dengan protokol: 2 menit 50°C, 10 menit 95°C dan kemudian 40 siklus untuk 15 detik 95°C dan 1 menit 60°C. Siklus *threshold*(Ct) adalah jumlah siklus pada peningkatan terjadinya fluoresensi signifikan, dimana nilai Ct dibawah 40 dianggap sebagai hasil positif.

Perhitungan dan Pelaporan

a. Perhitungan

Hasil pengujian dinyatakan dalam persentase jumlah benih yang terinfeksi dengan rumus:

$$\% \text{ Infeksi} = \frac{\text{Jumlah Benih yang terinfeksi}}{\text{Jumlah Benih yang ditabur (diuji PCR)}} \times 100 \%$$

Jumlah Benih yang ditabur/Uji PCR = 400 butir

b. Pelaporan hasil

Dalam pelaporan selain dicantumkan nama latin patogen dan persentase infeksi, juga dicantumkan metode pengujian yang digunakan (termasuk perlakuan pendahuluan yang dilaksanakan/sebelum benih diinkubasi), jumlah benih atau bagian benih yang diuji/diperiksa, serta waktu pengujian, jumlah contoh kirim, tanggal panen, perlakuan untuk mengatasi penyakit yang menyerang benih tersebut yang dapat diterapkan kepada lot benih yang bersangkutan.

BAB VI
LAPORAN LENGKAP HASIL PENGUJIAN

Model B.3

LAPORAN HASIL PENGUJIAN/ANALISIS MUTU BENIH
KADAR AIR, KESUBURAN, DAYA BERKECAMBAH

1. Kepada Yth :
2. Alamat :
3. Jenis Tanaman :
4. Varietas :
5. Kelas Benih :
6. Berat Contoh Kirim :
7. Tanggal Panen :
8. Tanggal Penerimaan di Lab. :
9. Tanggal Pengujian/Analisis :
10. Tanggal Selesai Pengujian/Analisis :

KADAR AIR (%)	KEMURNIAN				DAYA BERKECAMBAH					
	Berat Contoh Kerja Gram	Benih Murni (%)	Benih Ten Lain (%)	Kotoran Benih (%)	Jangka Waktu Peng. (hari)	Kec. Normal (%)	Kec. Abnormal (%)	Benih Keras (%)	Benih Segar (%)	Benih Mati (%)
Metode : 1. STA Rules :9.0.9.2 2. Metode Lain:	Metode : 1. STA Rules :3.1.3.7 2. Metode Lain:				1. ISTA Rules : 5.1.5.9			2. Metode Lain:		
	Biji Gulma: gram %				Ket : Suhu : Media : Abnormalitas : Lainnya :					

Catatan

.....
.....

Lampiran 1. Verifikasi Benih Segar Melalui Uji Tetrazolium

A. Peralatan

1. Inkubator suhu 20 dan 30°C
2. Alat Pemotong (Skalpel, cutter, silet) dan pinset
3. Lap dan / mikroskop
4. Garam 2,3,5-trifenil totrazollum klorida
5. Air, akuades atau larutan buffer fosfat untuk melarutkan 2,3,5-trifenil totrazollum kloridasehingga larutan TZmemiliki pH 6,5-7,5
6. Larutan Buffer fosfat dibuat dengan cara:
 - a. Larutkan 9,078 gram KH_2PO_4 dalam 1 liter akuades (larutan 1)
 - b. Larutkan 11,876 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dalam 1 liter akuades (larutan 2)
 - c. Campurkan larutan 1 dan 2 dalam perbandingan 2 : 3 sebaiknya percampuran dilakukan hanya jika akan membuat larutan TZ

B. Prosedur

1. Perlakuan Pendahuluan serta konsentrasi larutan TZ dan waktu perendaman seperti dalam Tabel 11

Tabel 11. Prosedur pengujian tetrazolium pada tanaman hortikultura

Spesies	Pelembaban (20°)		Persiapan sebelum pewarnaan	Pewarnaan (30°)		Persiapan evaluasi	Jaringan non viable yang diperbolehkan	Keterangan
	Tipe	Waktu minimum (jam)		Prosentase larutan (%)	Waktu optimum (jam)			
1	A	2	3	4	5	6	7	
1	A	18	Potong sisi linear benih (hanya irisan tipis) dan secara longitudinal 2/3 kearah endosperm dekat bagian tengah benih antara radikula dan kotiledon	1	18	Potong longitudinal pada sisi yang datar melalui endosperm untuk membuka embrio	Tidak ada, termasuk endosperm kecuali nekrosis kecil pada bagian luar endosperm yang tidak berhubungan dengan lubang embrio	
2	A	18	Tusuk benih dekat mikrofil	1	20	Potong benih secara longitudinal melalui bagian tengah benih untuk membuka embrio	1/3 radikula diukur dari ujung, 1/3 dari ujung distal kotiledon	
3	A	18	Potong 1/4 bagian ujung distal benih	1	18	Potong benih secara membujur	-	

4	<i>Brassica</i> spp.	A	18	Iris kulit benih melintang pada salah satu sisi luar kotiledon, jangan sampai hipokotil dan radikula terpotong. Kupas kulit benih dengan tekanan lembut.	1,0	1	3	Amati embrio	1/3 radikula, diukur dari ujung radikula, 1/3 agak nekrosis pada kotiledon, yang tidak berhubungan dengan hipokotil	-
5	<i>Capsicum</i> spp	A	18	Potong dengan irisan kecil kulit benih didekat dasar benih, hanya untuk membuka rongga embrio	1,0	1	6	Potong benih pada sisi datar menjadi 2 bagian dan amati embrio dan endosperm	-	-
6	<i>Cucurbita</i>	A	18	Potong secara melintang 1/3 bagian ujung distal benih, kupas kulit benih, buka embrio	1	1	18	-	1/3 radikula diukur dari ujung radikula, 1/2 daerah distal kotiledon	-
7	<i>Daucus</i>	A	18	Potong secara membujur hingga 1/2 endosperm pada daerah ujung distal	1	1	18	Pisahkan menjadi dua bagian, amati embrio dan endosperm	-	-

8	<i>Glycine max</i>	AK	18 -	1	6	Kupas kulit benih untuk membuka embrio	2/3 radikula, diukur dari ujung radikula, ½ distal kotiledon	Jika viabilitas benih keras ditentukan, kulit benih dapat diiris pd ujung distal kotiledon dan rendam dalam air (4jam)
9	<i>Lactuca</i>	A	18	1	6 -	Buka embrio dengan tekanan lembut pada <i>achene</i> dan kulit benih	1/3 radikula diukur dari ujung radikula; ½ bagian akhir distal kotiledon, jika pendek; 1/3 bagian daerah ujung distal, jika menyebar	-
10	<i>Lycopersicon esculentum</i>	A	18	1	18	Potong 1/3 bagian antara radikula dan kotiledon sampai endosperma	Potong benih pada sisi datar atas menjadi dua bagian, amati permukaan potongan	Kadang-kadang pewarnaan 42 jam memberikan warna yang lebih gelap dan jelas
11	<i>Phaseolus</i>	AK	18 -	1	18	Kupas kulit benih untuk membuka embrio	2/3 radikula diukur dari ujung radikel, ½ daerah distal kotiledon, ¼ distal plumula	Jika viabilitas benih keras ditentukan, kulit benih dapat diiris pd ujung distal kotiledon dan rendam dalam air (4jam)

12	<i>Solanum</i>	A	18	Potong diantara radikula dan kotiledon sampai endosperm	1	18	Potong benih menjadi dua bagian pada sisi yang datar	Amati permukaan potongan	Kadang-kadang berwarna 42 jam memberikan pewarnaan yang lebih jelas dan lebih gelap
13	<i>Zea mays</i>	A	18	Potong membujur melalui embrio dan $\frac{3}{4}$ endosperm	1	2	Amati permukaan potongan	Akar primer, $\frac{1}{3}$ daerah dari <i>extremities of scutellum</i>	Jaringan yang tidak berwarna pada pusat skutellum menunjukkan kerusakan akibat pemanasan.

Keterangan. A : Direndam dalam air AK : Dilembabkan antar kertas