



KEMENTERIAN PERTANIAN
DIREKTORAT JENDERAL TANAMAN PANGAN
BALAI BESAR PENGEMBANGAN PENGUJIAN MUTU
BENIH TANAMAN PANGAN DAN HORTIKULTURA

JALAN RAYA TAPOS, KOTAK POS 20 TAPOS – DEPOK (16457)

TELEPON/FAKSIMILE : (021) 8755046

WEBSITE : bbppmbtph.tanamanpangan.pertanian.go.id

EMAIL : bbppmbtph@pertanian.go.id

NOTA DINAS
NOMOR: 2511/LB.010/C.9/12/2025

Yth. : Direktur Jenderal Tanaman Pangan
Dari : Kepala Balai Besar PPMBTPH
Hal : Usulan Rekomendasi Hasil Penguatan Metode Pengujian Mutu Benih
Tanaman Pangan Tahun 2025
Lampiran : 3 Naskah Akademik
Tanggal : 10 Desember 2025

Bersama ini disampaikan usulan 3 (tiga) rekomendasi hasil Penguatan Metode Pengujian Mutu Benih Tanaman Pangan tahun 2025 yang merupakan salah satu indikator kinerja Balai Besar PPMBTPH. Judul hasil penguatan metode tersebut adalah:

- a. Penguatan Metode Pematahan Dormansi untuk Mendukung Mutu Benih Padi Varietas Super Genjah
- b. Validasi Metode Uji Nematoda *Aphelenchoides besseyi* terbawa Benih Padi
- c. Pemeriksaan CVL/ Tipe Simpang dalam Sertifikasi Benih Padi di Lapangan dan Laboratorium

Usulan lengkap rekomendasi tersebut kami lampirkan dalam bentuk naskah akademik.

Atas perhatian Bapak, diucapkan terimakasih.



Andi Muhammad Idil Fitri

Tembusan:
Direktur Perbenihan Tanaman Pangan

Lampiran Nota Dinas Kepala Balai Besar,
Nomor : 2511/LB.010/C.9/12/2025
Tanggal : 10 Desember 2025

NASKAH AKADEMIK

1. Penguatan Metode Pematahan Dormansi Untuk Mendukung Mutu Benih Padi Varietas Super Genjah

A. Latar Belakang

Ketersediaan pangan global saat ini sedang menghadapi tantangan besar. Perubahan iklim El Nino dan La Nina, konflik geopolitik, serta kebijakan pembatasan ekspor dari negara lain menjadi faktor utama yang menyebabkan turunnya ketersediaan pangan dunia. Pertumbuhan penduduk yang berdampak pada pembangunan industri dan pemukiman sangat berpengaruh terhadap pengembangan sektor pertanian, khususnya produksi padi karena menyebabkan alih fungsi lahan sawah menjadi lahan non pertanian. Hal ini akan mengancam kemandirian dan ketahanan pangan nasional. Sehubungan dengan hal tersebut dan dalam mewujudkan swasembada pangan, maka selain mengelola lahan eksisting untuk pemenuhan pangan, pemerintah mengupayakan perluasan lahan sawah melalui optimasi lahan (OPLAH) dan cetak sawah rakyat (CSR) dengan memanfaatkan dan mengelola sumber daya lahan dan air, serta pemberdayaan petani dalam meningkatkan kesejahteraan petani.

Peningkatan produksi padi diharapkan dapat menjawab tantangan meningkatnya kebutuhan pangan nasional dari tahun ke tahun. Adapun peningkatan produksi padi dapat dicapai dengan meningkatkan indeks pertanaman dan produktivitas padi yang berkelanjutan dan efisien.

Peningkatan indeks pertanaman menjadi salah satu strategi utama dalam optimalisasi produktivitas pertanian, khususnya dalam sistem budidaya padi. Untuk mencapai tujuan tersebut, diperlukan penggunaan benih padi varietas super genjah yang memiliki masa tanam lebih singkat, sehingga petani dapat mempercepat siklus tanam dan meningkatkan frekuensi panen dalam setahun. Dengan demikian, ketersediaan benih yang siap tanam dalam waktu singkat menjadi faktor krusial dalam mendukung keberlanjutan produksi.

Benih bermutu merupakan komponen penting dalam keberhasilan program peningkatan produksi pangan nasional. Namun, tantangan utama dalam penerapan varietas ini adalah belum diketahui berapa lama masa dormansi fisiologis pada benih baru panen. Dormansi tersebut menyebabkan benih sulit berkecambah pada pengujian laboratorium maupun saat ditanam langsung, sehingga menghambat proses sertifikasi dan distribusi benih.

Pada sistem sertifikasi benih, hasil pengujian daya berkecambah merupakan indikator utama penentuan mutu. Dormansi yang belum patah menyebabkan hasil uji daya berkecambah di bawah standar, padahal viabilitas benih sebenarnya tinggi. Oleh karena itu, diperlukan perlakuan pematangan dormansi agar hasil pengujian mencerminkan mutu benih yang sesungguhnya.

Berbagai metode telah dikembangkan untuk mematahkan dormansi, antara lain perlakuan kimia (KNO_3 , HNO_3), perlakuan fisik (pemanasan), maupun perlakuan fisiologis (perendaman air dan after-ripening). Namun, hingga saat ini belum ada metode pematangan dormansi standar yang ditetapkan dalam Kepmentan 993/HK.150/C/05/2018 khusus untuk benih padi varietas super genjah dan genjah.

Balai Besar PPMBTPH melalui kegiatan Penguatan Metode Tahun Anggaran 2025 melaksanakan kajian untuk menentukan metode paling efektif dalam mematahkan dormansi benih padi super genjah. Hasil penguatan metode ini diharapkan dapat menjadi acuan pengujian bagi laboratorium BPSB di seluruh Indonesia guna mempercepat pelayanan sertifikasi benih dan menjamin mutu hasil uji daya berkecambah.

B. Tujuan

Tujuan dari penguatan metode ini yang adalah untuk mendapatkan metode pematangan dormansi benih padi varietas sangat genjah/genjah yang lebih efektif dan efisien guna mendukung peningkatan mutu pengujian benih.

C. Manfaat

Kegiatan penguatan metode ini mendukung peningkatan produksi padi nasional, mempercepat proses sertifikasi benih, meningkatkan akurasi dan mutu pengujian benih di laboratorium, menyediakan standar acuan nasional bagi pengujian benih padi genjah/super genjah dan meningkatkan efisiensi distribusi dan ketersediaan benih bermutu

D. Pelaksanaan

Penguatan metode ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Desember 2025 di Laboratorium Balai Besar Pengembangan Pengujian Mutu Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura, Depok Provinsi Jawa Barat.

Bahan uji yang digunakan dalam kegiatan pengembangan metode ini adalah benih padi sebanyak 7 (tujuh) varietas varietas dengan rincian pada Tabel 1.

Tabel 1. Rincian bahan uji yang digunakan dalam kegiatan penguatan metode

No	Varietas	Umur Panen (kelas)*	Asal / Produsen	Lokasi Asal / Produksi	Tanggal Panen	Tanggal Mulai Uji	Kadar Air Awal (%)	Musim Tanam
1	Cakrabuana (1)	±104 hari setelah semai (sangat genjah)	Balai Besar Perakitan dan Modernisasi Pertanian Tanaman Padi (BRMP Tanaman Padi)	Subang, Jawa Barat	26 Desember 2024	8 Januari 2025	11,9	Musim Hujan
2	BK Situbondo 01 Agritan	±100 hari setelah semai (sangat genjah)	BRMP Tanaman Padi	Subang, Jawa Barat	29 Desember 2024	10 Januari 2025	11,8	Musim Hujan
3	BK Situbondo 02 Agritan	±107 hari setelah semai (genjah)	BRMP Tanaman Padi	Subang, Jawa Barat	3 Januari 2025	10 Januari 2025	13,0	Musim Hujan
4	Padjajaran	±105 hari setelah semai (genjah)	Dinas Pertanian Provinsi Sumatera Selatan	Kabupaten Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan	13 Maret 2025	28 Maret 2025	11,9	Musim Hujan
5	M70D	±104 hari setelah semai (sangat genjah)	PT. Semangat Bersama Entrepreneurship	Kabupaten Karawang, Jawa Barat	5 Mei 2025	16 Mei 2025	10,9	Peralihan Hujan–Kemarau
6	Cakrabuana (2)	±104 hari setelah semai (sangat genjah)	CV. DIC Jaya Mandiri	Kabupaten Subang, Jawa Barat	2 Mei 2025	16 Mei 2025	11,4	Peralihan Hujan–Kemarau
7	Inpari Sidenuk	±107 hari setelah semai (genjah)	CV. Fiona Benih Mandiri	Kabupaten Subang, Jawa Barat	5 Mei 2025	11 Juni 2025	12,5	Peralihan Hujan–Kemarau
8	Inpari 33	±103 hari setelah semai (sangat genjah)	Kelompok Tani Gangsa	Kabupaten Majalengka, Jawa Barat	8 September 2025	1 Oktober 2025	9,8	Musim Kemarau

Karakteristik fisiologis yang dievaluasi adalah kadar air benih dan daya berkecambah benih. Kadar air benih diukur pada benih yang telah melalui proses pengolahan. Metode pengukuran kadar air yang digunakan adalah dengan metode oven, benih sebanyak 10 gram yang telah dihancurkan dioven pada suhu $130\pm 3^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam (ISTA Rules 2025). Pengujian kadar air benih dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Analisa persentase kecambah normal dilakukan dengan metode kertas digulung (between-paper) dengan menggunakan kertas CD. Pengecambahan dilakukan dalam alat pengecambah (germinator). Pengamatan hitungan pertama dilakukan pada hari ke-5 setelah tabur, dan pengamatan hitungan kedua dilakukan pada hari ke-14 setelah tabur. Setiap pengujian diulang sebanyak tiga kali dengan jumlah sampel per ulangan adalah 100 butir.

Evaluasi metode efektif pematangan dormansi yang digunakan pada penguatan metode ini terdiri dari lima taraf, yaitu:

1. perendaman dalam air selama 24 jam (ISTA Rules 2025)
2. pemanasan dengan oven pada suhu 50°C selama 24 jam (ISTA Rules 2025)
3. perendaman dalam HNO_3 0,1 M selama 24 jam (ISTA Rules 2025)
4. perendaman dalam larutan KNO_3 3% selama 24 jam (Acuan Kepmentan 993 tahun 2018)
5. Kontrol (tanpa perlakuan) (Acuan ISTA)

Metode pematangan dormansi dianggap efektif apabila mampu menghasilkan persentase kecambah normal $\geq 80\%$ sesuai dengan persyaratan teknis minimal (PTM) benih padi yang tercantum Kepmentan No. 642/Kpts/HK.150/D/X/2024. Benih disimpan dalam kemasan wadah boks plastik di ruang simpan kamar ($T=25-30^{\circ}\text{C}$, $\text{RH}=65-85\%$). Evaluasi kecambah normal dilakukan dengan interval waktu pengecambahan satu minggu sekali.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak tunggal (RAT) dengan tiga ulangan. Analisa data dilakukan dengan sidik ragam (ANOVA) dengan menggunakan Minitab. Apabila ada pengaruh pada taraf nyata 5%, maka dilakukan uji lanjut DMRT (pembandingan nilai tengah) dengan selang kepercayaan 95-99% menggunakan metode Tukey.

E. Hasil Kegiatan

Hasil pengujian menunjukkan adanya variasi daya berkecambah antar varietas dan antar perlakuan selama periode pengamatan. Secara umum, daya berkecambah meningkat seiring lamanya waktu penyimpanan setelah panen, sejalan dengan proses *after-ripening* yang mengurangi pengaruh dormansi fisiologis.

Pada varietas Cakrabuana (1), BK Situbondo 01 Agritan, dan BK Situbondo 02 Agritan, pengujian perendaman benih dalam HNO_3 0,1 M selama 24 jam tidak dapat dilakukan pada minggu ke-2 hingga ke-3 setelah panen karena penggunaan konsentrasi larutan yang tidak sesuai (1 M), yang menyebabkan seluruh benih tidak menunjukkan perkecambahan.

Perlakuan yang diberikan memberikan respons yang berbeda-beda antar varietas. Secara keseluruhan, perlakuan KNO_3 3% menunjukkan efektivitas paling tinggi dalam mempercepat pematangan dormansi, diikuti oleh HNO_3 0,1 M dan perendaman air. Sementara itu, perlakuan pemanasan 50°C memberikan hasil yang bervariasi tergantung varietas, dan kontrol selalu menunjukkan laju peningkatan paling lambat, mencerminkan kondisi dormansi alami benih.

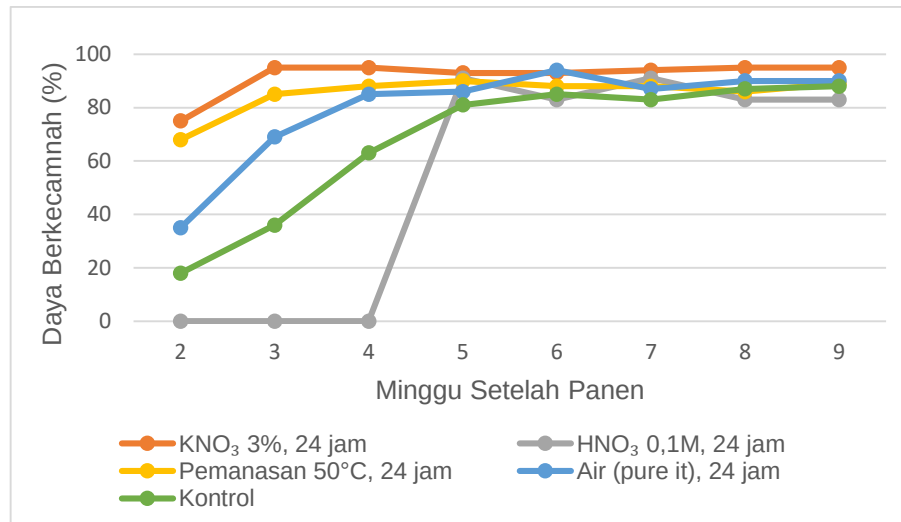
Masa dormansi ditentukan berdasarkan data kontrol, di mana dormansi dianggap masih aktif jika daya berkecambah kontrol terus meningkat dari minggu ke minggu, dan dianggap patah apabila nilai daya berkecambah kontrol sudah stagnan dan tidak berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya.

Analisis pembahasan berikut disusun berdasarkan urutan varietas yang diuji. Setiap varietas dibahas secara konsisten meliputi efektivitas masing-masing perlakuan pada setiap minggu pengamatan, minggu mulai patahnya dormansi, serta interpretasi fisiologis dari hasil yang diperoleh. Hasil uji lanjut dinyatakan berdasarkan kolom yang menyatakan minggu setelah panen pada masing-masing tabel.

Tabel 2. Hasil uji penguatan metode pematangan dormansi benih padi varietas Cakrabuana tanggal panen 26 Desember 2024

Perlakuan	Rata-rata Daya Berkecambah* (%)							
	Minggu ke-...setelah panen							
	2	3	4	5	6	7	8	9
KNO_3 3%, 24 jam	75a	95a	95a	93a	93ab	94a	95a	95a
HNO_3 0,1M, 24 jam	x	x	x	91a	83c	91a	83b	83b
Pemanasan suhu 50°C , 24 jam	68a	85b	88a	90a	88abc	88a	86ab	89ab
Air (pure it), 24 jam	35b	69c	85a	86a	94a	87a	90ab	90ab
Kontrol	18c	36d	63b	81a	85bc	83a	87ab	88b

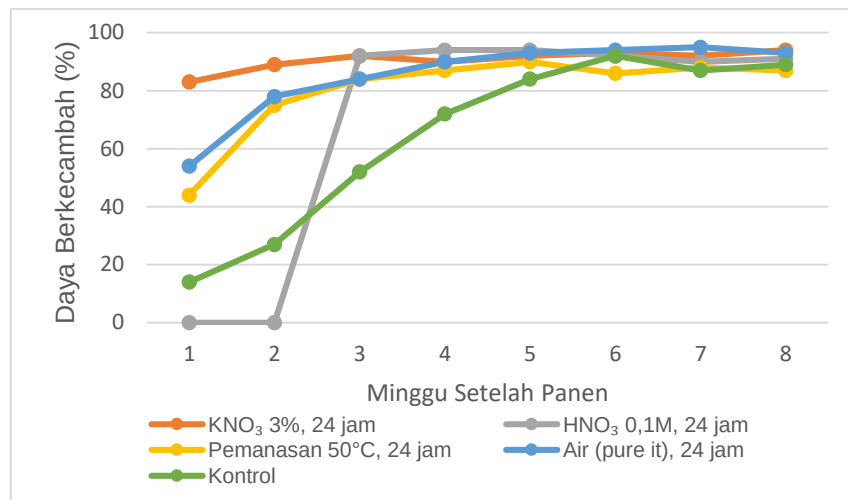
*Rata-rata DB dengan notasi yang berbeda artinya berbeda nyata



Grafik 1. Daya Berkecambah Benih Padi Varietas Cakrabuana 1

Berdasarkan hasil analisis menggunakan metode Tukey pada taraf kepercayaan 95%, perlakuan ini tergolong dalam kelompok yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lain, khususnya terhadap kontrol dan perlakuan perendaman air. Hal ini menegaskan bahwa perlakuan KNO₃ mampu mempercepat proses *after ripening* atau pematangan dormansi alami secara signifikan (Tabel 2.). Dengan demikian, benih sudah mencapai tingkat viabilitas optimal sejak minggu ke-3 setelah panen, yang menunjukkan bahwa dormansi fisiologis telah terurai lebih cepat melalui perlakuan tersebut dibandingkan pematangan alami tanpa perlakuan (Grafik1.).

Perlakuan air dan HNO₃ memberikan hasil sedang, sedangkan pemanasan kurang efektif. Dormansi dianggap mulai patah pada minggu ke-5, ditandai dengan kontrol yang stagnan dan tidak meningkat lagi. Hal ini mengindikasikan dormansi fisiologis kuat yang responsif terhadap perlakuan kimia. Varietas Cakrabuana memiliki *after ripening* sampai dengan 4 minggu, namun dengan perlakuan pematangan dormansi KNO₃ 3%, 24 jam dan pemanasan suhu 50°C, 24 jam.dapat patah dormansinya pada minggu ke-3.



Grafik 2. Daya Berkecambah Benih Padi Varietas BK Situbondo 01 Agritan

Tabel 3. Hasil uji penguatan metode pematangan dormansi benih padi varietas BK Situbondo 01 Agritan tanggal panen 29 Desember 2024

Perlakuan	Rata-rata Daya Berkecambah* (%)							
	Minggu ke-...setelah panen							
	2	3	4	5	6	7	8	9
KNO ₃ 3%, 24 jam	83a	89a	92a	90a	92ab	93a	92a	94a
HNO ₃ 0,1M, 24 jam	X	X	92a	94a	94a	92a	90a	91a
Pemanasan suhu 50°C, 24 jam	44c	75b	84a	87a	90ab	86a	88a	87a
Air (pure it), 24 jam	54b	78ab	84a	90a	93ab	94a	95a	93a
Kontrol	14d	27c	52b	72b	84b	92a	87a	89a

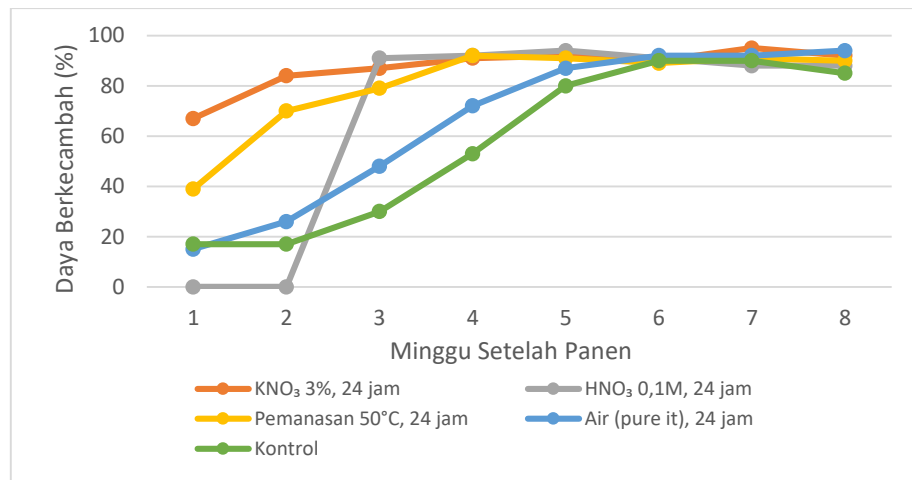
*Rata-rata DB dengan notasi yang berbeda artinya berbeda nyata

Daya berkecambah meningkat signifikan pada minggu ke-4 untuk perlakuan KNO₃ dan HNO₃, mencapai >80%. Perlakuan KNO₃ menunjukkan hasil tertinggi hingga 94% pada minggu ke-9 (Grafik 2.). Berdasarkan hasil dari analisis Tukey menunjukkan bahwa perlakuan KNO₃ telah mencapai nilai yang tinggi secara signifikan mulai minggu ke-2, sehingga pematangan dormansi dengan perlakuan dapat dicapai lebih awal melalui perlakuan KNO₃ (Tabel 3.). Varietas Situbondo 01 Agritan memiliki *after ripening* sampai dengan 5 minggu, namun dengan perlakuan pematangan dormansi KNO₃ 3%, dapat patah dormansinya pada minggu ke-2.

Tabel 4. Hasil uji penguatan metode pematangan dormansi benih padi varietas BK Situbondo 02 Agritan tanggal panen 3 Januari 2025

Perlakuan	Rata-rata Daya Berkecambah* (%)							
	Minggu ke-...setelah panen							
	2	3	4	5	6	7	8	9
KNO ₃ 3%, 24 jam	67a	84a	87b	91a	92a	90a	95a	92a
HNO ₃ 0,1M, 24 jam	X	X	91a	92a	94a	91a	88a	88a
Pemanasan suhu 50°C, 24 jam	39b	70b	79b	92a	91a	89a	91a	90a
Air (pure it), 24 jam	15c	26c	48c	72b	87a	92a	92a	94a
Kontrol	17c	17d	30d	53c	80a	90a	90a	85a

*Rata-rata DB dengan notasi yang berbeda artinya berbeda nyata



Grafik 3. Daya Berkecambah Benih Padi Varietas BK Situbondo 02 Agritan

Berdasarkan hasil analisis menggunakan metode *Tukey Pairwise Comparisons* pada taraf kepercayaan 95%, perlakuan KNO₃ 3% selama 24 jam menunjukkan pengaruh paling konsisten terhadap peningkatan daya berkecambah sejak minggu ke-3 setelah panen. Nilai daya berkecambah mencapai 84% (a) pada minggu ke-3 dan meningkat hingga 95% (a) pada minggu ke-8, yang secara statistik tidak berbeda nyata dari minggu ke-9. Hal ini menunjukkan bahwa proses after ripening (pematangan fisiologis benih setelah panen

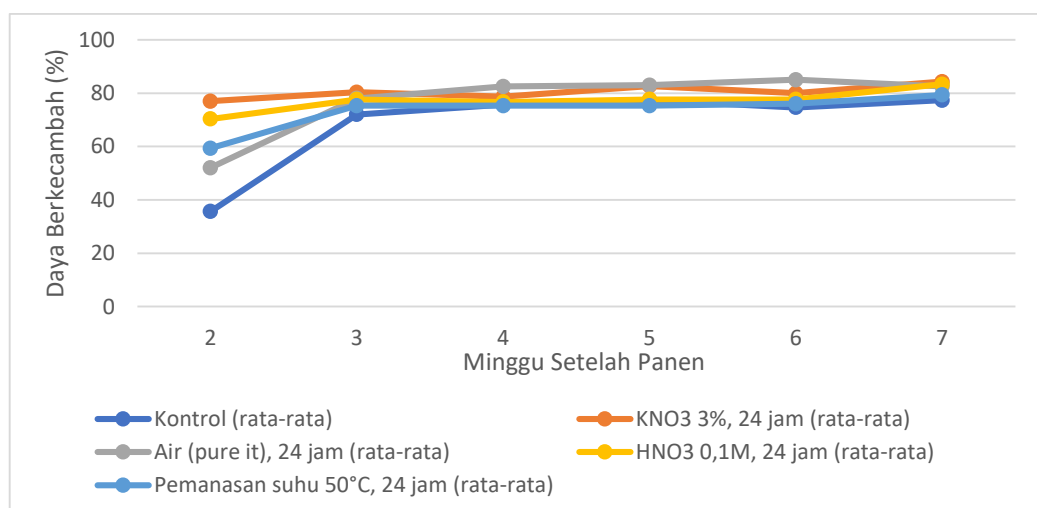
yang menurunkan dormansi alami) sudah berlangsung efektif mulai minggu ke-3 dan dapat dipercepat melalui perlakuan KNO_3 3% (Tabel 4.)

Dormansi pada kontrol bertahan hingga minggu ke-6 sebelum mencapai DB sebesar 80% (Grafik 3.). Pola peningkatan daya berkecambah menunjukkan dormansi sedang yang lebih cepat patah dibanding BK Situbondo 01. Hal ini menandakan perbedaan tingkat dormansi antar subvarietas dengan genetik serupa. Varietas Situbondo 02 Agritan memiliki *after ripening* sampai dengan 5 minggu, namun dengan perlakuan pematangan dormansi KNO_3 3%, dapat patah dormansinya pada minggu ke-3.

Tabel 5. Hasil uji penguatan metode pematangan dormansi benih padi varietas Padjajaran tanggal panen 13 Maret 2025

Perlakuan	Rata-rata Daya Berkecambah* (%)					
	Minggu ke-...setelah panen					
	2	3	4	5	6	7
KNO_3 3%, 24 jam	77a	80a	80a	83a	83a	84a
HNO_3 0,1M, 24 jam	70ab	78a	79a	82a	80a	83ab
Pemanasan suhu 50°C , 24 jam	59bc	76a	77a	78a	78a	83ab
Air (pure it), 24 jam	50c	75a	76a	77a	76a	79ab
Kontrol	36d	72a	75a	75a	75a	77b

*Rata-rata DB dengan notasi yang berbeda artinya berbeda nyata



Grafik 4. Daya Berkecambah Benih Padi Varietas Padjajaran

Berdasarkan Tabel 5, Perlakuan KNO_3 3% (24 jam) adalah yang paling efektif dalam mempercepat pematangan dormansi, dan secara statistik berbeda nyata dibanding kontrol hingga minggu ke-3. Setelah minggu ke-4, perbedaan antar perlakuan tidak lagi signifikan karena proses *after-ripening* telah membantu meningkatkan daya berkecambah benih pada semua perlakuan. Peningkatan nilai daya berkecambah pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Grafik 4.

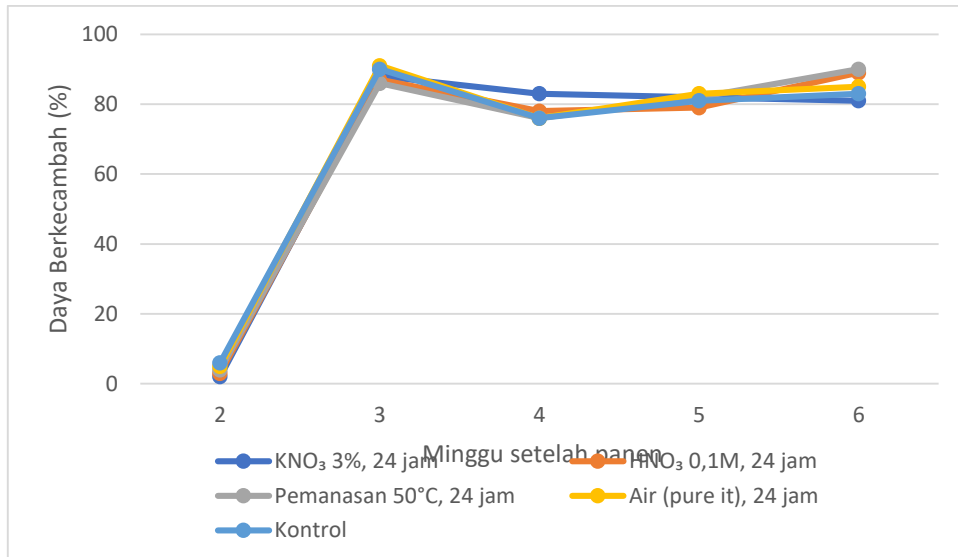
Meskipun perlakuan KNO_3 menunjukkan hasil terbaik, daya berkecambah benih varietas Padjajaran tidak mencapai ambang mutu tinggi ($\geq 80\%$) hingga minggu ke-7. Hal ini mengindikasikan bahwa benih kemungkinan memiliki mutu fisiologis yang relatif rendah, yang dapat disebabkan oleh kondisi panen, penyimpanan, atau kematangan benih saat dipanen.

Namun, adanya peningkatan daya berkecambah sejak minggu ke-2 setelah panen menandakan bahwa proses *after-ripening* sudah mulai terjadi, sehingga perlakuan kimia seperti KNO_3 dapat dilakukan efektif mulai minggu ke-3 setelah panen untuk mempercepat pematangan dormansi dan memperoleh daya kecambah optimal. Varietas Padjajaran memiliki *after ripening* sampai dengan 4 minggu, namun dengan perlakuan pematangan dormansi KNO_3 3%, dapat patah dormansinya pada minggu ke-2.

Tabel 6. Hasil uji penguatan metode pematangan dormansi benih padi varietas Cakrabuana (2) tanggal panen 2 Mei 2025

Perlakuan	Rata-rata Daya Berkecambah* (%)				
	Minggu ke-...setelah panen				
	2	3	4	5	6
KNO_3 3%, 24 jam	88a	87a	86a	91a	90a
HNO_3 0,1M, 24 jam	83a	78a	76a	76b	76b
Pemanasan suhu 50°C , 24 jam	82a	79a	82a	83ab	81b
Air (pure it), 24 jam	81a	89a	90a	85ab	83ab
Kontrol	65b	78a	81a	80b	80b

*Rata-rata DB dengan notasi yang berbeda artinya berbeda nyata



Grafik 5. Daya Berkecambah Benih Padi Varietas Cakrabuana (2)

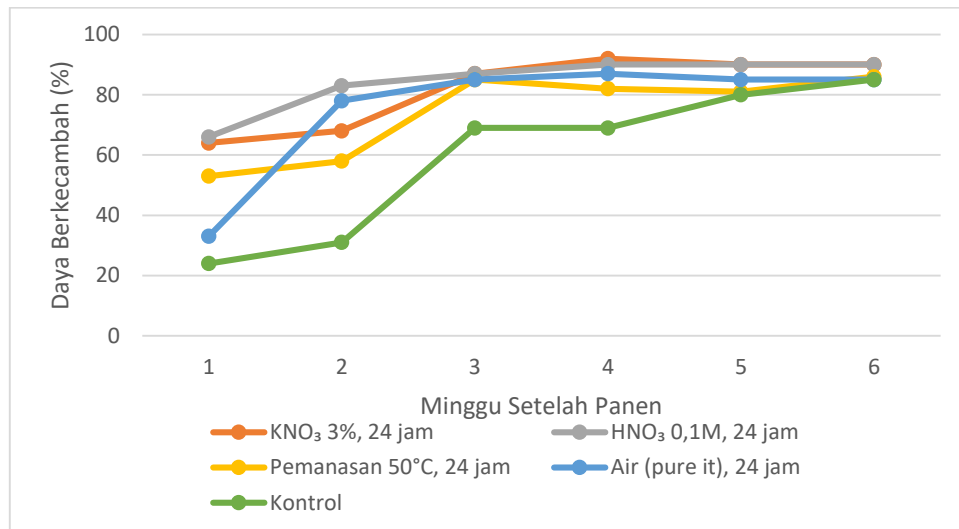
Berdasarkan hasil analisis dan uji Tukey (Tabel 6.), dapat disimpulkan bahwa KNO₃ 3% selama 24 jam merupakan perlakuan terbaik dan paling konsisten dalam meningkatkan daya berkecambah benih padi varietas Cakrabuana (2). Tidak terdapat perbedaan nyata yang besar antara KNO₃, HNO₃, pemanasan, dan air hingga minggu ke-4, namun pada minggu ke-5 dan ke-6, KNO₃ tetap menunjukkan nilai tertinggi dengan perbedaan signifikan dibanding HNO₃ dan kontrol. Karena nilai DB sudah di atas 80% sejak minggu ke-2, maka proses *after-ripening* pada varietas ini tergolong cepat (minggu ke-3), dan perlakuan pematangan dormansi dapat dilakukan segera setelah panen.

Dengan demikian, benih padi varietas Cakrabuana (2) memiliki mutu fisiologis yang relatif tinggi, karena daya berkecambahnya telah melebihi batas standar mutu benih ($\geq 80\%$) bahkan sejak dua minggu setelah panen. Hal ini menunjukkan bahwa dormansi varietas Cakrabuana bersifat lemah dan dapat dengan cepat diatasi melalui perlakuan ringan seperti KNO₃ atau bahkan penyimpanan singkat setelah panen. Peningkatan nilai daya berkecambah pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Grafik 5.

Tabel 7. Hasil uji penguatan metode pematangan dormansi benih padi varietas M70D tanggal panen 2 Mei 2025

Perlakuan	Rata-rata Daya Berkecambah* (%)					
	Minggu ke-...setelah panen					
	2	3	4	5	6	7
KNO ₃ 3%, 24 jam	64a	68ab	87a	92a	90a	90a
HNO ₃ 0,1M, 24 jam	66a	83a	87a	90a	90a	90a
Pemanasan suhu 50°C, 24 jam	53b	58b	85a	82a	81b	86a
Air (pure it), 24 jam	33c	78ab	85a	87a	85b	85a
Kontrol	24c	31c	69b	69b	80b	85a

*Rata-rata DB dengan notasi yang berbeda artinya berbeda nyata



Grafik 6. Daya Berkecambah Benih Padi Varietas M70D

Dari hasil uji dan analisis statistik, dapat disimpulkan bahwa perlakuan KNO₃ 3% selama 24 jam merupakan metode paling efektif untuk mempercepat pematangan dormansi benih varietas M70D, diikuti oleh perlakuan HNO₃ 0,1M 24 jam. Secara statistik, kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata satu sama lain pada sebagian besar waktu pengamatan, tetapi berbeda nyata dibanding kontrol. Daya berkecambah benih varietas M70D sudah mencapai >85% sejak minggu ke-4, menandakan bahwa after-ripening dapat terjadi relatif cepat setelah panen, terutama dengan perlakuan kimia. Karena daya berkecambah sudah stabil pada kisaran 90% hingga minggu ke-7, maka dapat

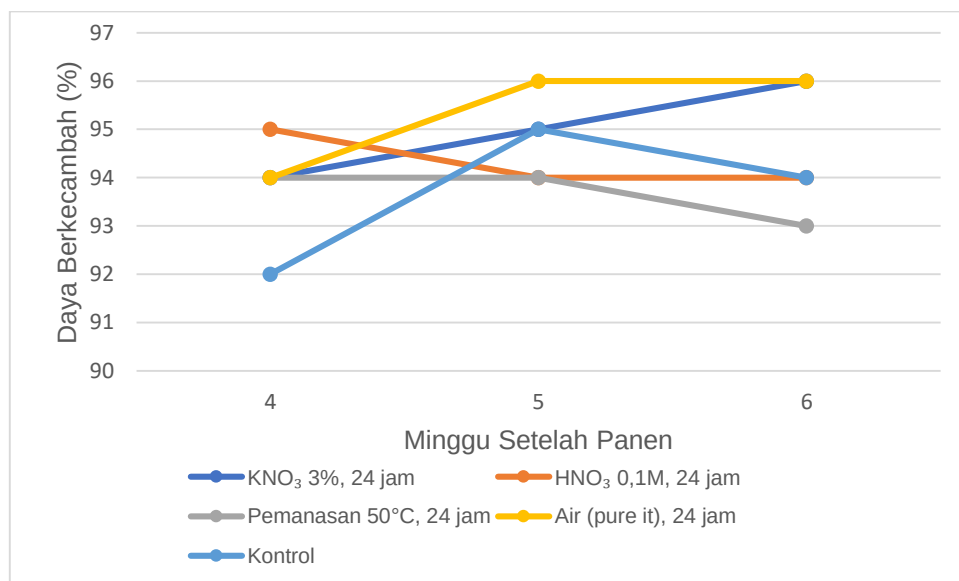
disimpulkan bahwa benih varietas ini memiliki mutu fisiologis yang tinggi dan tingkat dormansi yang sedang hingga rendah.

Dengan demikian, perlakuan KNO_3 3% (24 jam) direkomendasikan sebagai metode efektif untuk mempercepat pematangan dormansi benih varietas M70D, dan dapat diterapkan mulai sekitar tiga minggu setelah panen untuk hasil optimal. Peningkatan nilai daya berkecambah pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Grafik 6. Varietas M70D memiliki *after ripening* sampai dengan 5 minggu, namun dengan perlakuan pematangan dormansi perendaman HNO_3 0,1M selama 24 jam dapat patah dormansinya pada minggu ke-3.

Tabel 8. Hasil uji penguatan metode pematangan dormansi benih padi varietas Inpari Sidenuk tanggal panen 5 Mei 2025

Perlakuan	Minggu ke-...setelah panen		
	4	5	6
KNO_3 3%, 24 jam	94a	95a	96a
HNO_3 0,1M, 24 jam	95a	94a	94a
Pemanasan suhu 50°C , 24 jam	94a	94a	93a
Air (pure it), 24 jam	94a	96a	96a
Kontrol	92a	95a	94a

*Rata-rata DB dengan notasi yang berbeda artinya berbeda nyata



Grafik 7. Daya Berkecambah Benih Padi Varietas Inpari Sidenuk

Dari hasil pengujian dan analisis statistik pada Tabel 8, dapat disimpulkan bahwa daya berkecambah benih varietas Inpari Sidenuk sudah mencapai >90% sejak minggu ke-4 setelah panen, dan terus stabil hingga minggu ke-6. Tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan, yang menunjukkan bahwa varietas ini memiliki dormansi sangat lemah atau bahkan tidak mengalami dormansi fisiologis yang berarti. Perlakuan kimia dan fisik dapat tetap dilakukan untuk memastikan keseragaman perkecambahan, tetapi secara praktis tidak diperlukan karena mutu benih sudah optimal. Pada varietas Sidenuk tidak dapat diambil kesimpulan karena tidak terdapat data pada minggu ke-2 dan ke-3. Peningkatan nilai daya berkecambah pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Grafik 7.

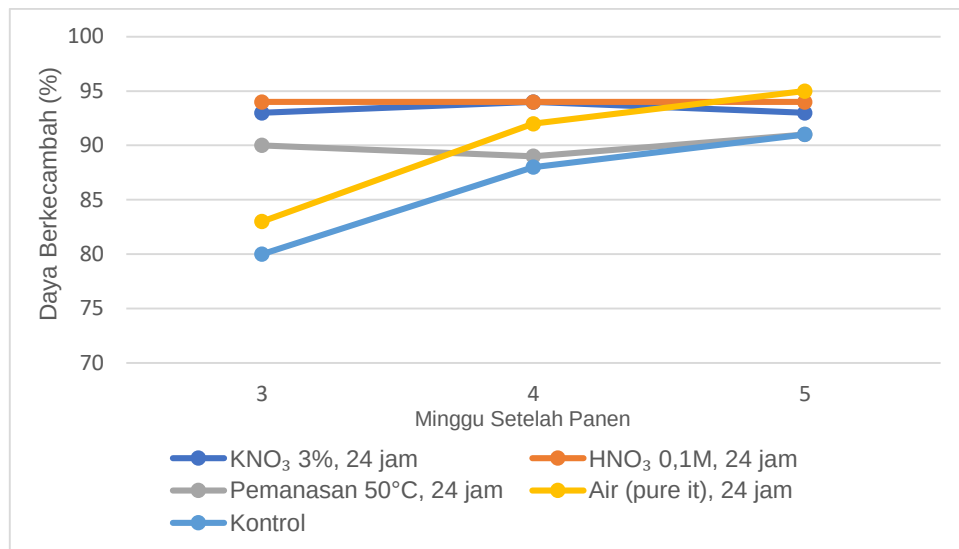
Tabel 9. Hasil uji penguatan metode pematangan dormansi benih padi varietas Inpari 33 tanggal panen 8 September 2025

Perlakuan	Rata-rata Daya Berkecambah* (%)		
	Minggu ke-...setelah panen		
	3	4	5
KNO ₃ 3%, 24 jam	93a	94a	93a
HNO ₃ 0,1M, 24 jam	94a	94ab	94a
Pemanasan suhu 50°C, 24 jam	90ab	89ab	91a
Air (pure it), 24 jam	83ab	92ab	95a
Kontrol	80b	88b	91a

*Rata-rata DB dengan notasi yang berbeda artinya berbeda nyata

Dari hasil pengamatan dan analisis statistik pada Tabel 9., dapat dilihat bahwa semua perlakuan menunjukkan daya berkecambah tinggi ($\geq 90\%$) sejak minggu ke-3 hingga ke-5, yang berarti dormansi varietas Inpari 33 tergolong ringan. Tidak terdapat perbedaan nyata antarperlakuan pada minggu ke-4 dan ke-5, menunjukkan bahwa *after-ripening* alami sudah cukup untuk mematahkan dormansi.

Pada varietas Sidenuk tidak dapat diambil kesimpulan karena tidak terdapat data pada minggu ke-2 dan ke-3. Peningkatan nilai daya berkecambah pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Grafik 8.



Grafik 8. Daya Berkecambah Benih Padi Varietas Inpari Sidenuk

Perbedaan masa dormansi antara Cakrabuana 1 dan Cakrabuana 2 diduga dipengaruhi oleh waktu panen dan kadar air awal benih. Benih Cakrabuana 1 berasal dari Balai Besar Perakitan dan Modernisasi Pertanian Tanaman Padi (BRMP Tanaman Padi) dengan tanggal panen 26 Desember 2024 pada musim hujan dan kadar air awal 11,9%, sedangkan Cakrabuana 2 berasal dari CV. DIC Jaya Mandiri, Kabupaten Subang, dengan tanggal panen 2 Mei 2025 pada peralihan musim hujan ke kemarau dan kadar air awal 11,4%.

Kondisi lingkungan pada saat panen dan pengeringan awal sangat berpengaruh terhadap intensitas dormansi benih. Panen pada musim hujan umumnya menghasilkan biji dengan kadar air lebih tinggi dan laju pengeringan yang lebih lambat, sehingga kandungan *abscisic acid* (ABA) dalam embrio bertahan lebih lama dan menunda hilangnya dormansi (Copeland & McDonald, 2001). Sebaliknya, panen pada kondisi cuaca lebih kering seperti pada Cakrabuana 2 mempercepat proses *after-ripening*, yang menurunkan kadar ABA dan meningkatkan aktivitas giberelin (GA), sehingga dormansi lebih cepat hilang (Baskin & Baskin, 2014).

Selain itu, perbedaan kecil pada kadar air awal (11,9% vs. 11,4%) dapat memengaruhi kecepatan stabilisasi metabolik benih selama penyimpanan. Benih dengan kadar air lebih tinggi cenderung mengalami penundaan pada transisi fisiologis menuju dormansi rendah karena aktivitas respirasi masih berlangsung pada tingkat mikro (Bewley et al., 2013). Faktor lokasi panen dan perbedaan iklim mikro lapang juga dapat memengaruhi pembentukan hormon penghambat dormansi selama fase pemasakan biji. Dengan demikian, meskipun secara genetik kedua benih tersebut identik, faktor waktu panen,

kondisi lingkungan saat pengeringan, serta kadar air awal benih merupakan penyebab utama perbedaan masa dormansi antara Cakrabuana 1 dan Cakrabuana 2.

Perlakuan KNO_3 3% terbukti paling efektif dalam mempercepat pematangan dormansi pada sebagian besar varietas padi. Efektivitas ini berkaitan dengan peran ion nitrat (NO_3^-) sebagai molekul sinyal yang berpengaruh terhadap metabolisme hormon, terutama dengan menurunkan kadar asam absisat (ABA) dan meningkatkan sensitivitas terhadap giberelin (GA). Mekanisme tersebut memicu aktivitas enzim hidrolitik seperti α -amilase yang berperan dalam pemecahan cadangan makanan dan meningkatkan respirasi embrio (Murti et al., 2024; Karaca, 2025). Selain itu, nitrat juga dapat merangsang pembentukan nitric oxide (NO), senyawa sinyal yang berkontribusi dalam regulasi keseimbangan redoks dan aktivasi proses fisiologis pemecahan dormansi (Narmadha et al., 2022).

Sementara itu, perlakuan HNO_3 memberikan efek melalui mekanisme *scarification* kimia, yaitu melunakkan atau mengikis lapisan luar biji (perikarp) sehingga meningkatkan permeabilitas terhadap air dan oksigen. Peningkatan imbibisi ini memungkinkan embrio memulai aktivitas metabolik yang mendorong munculnya radikula (Yang et al., 2022; Salazar, 2019). Mekanisme serupa juga dilaporkan oleh Alwan dan Nurza (2020), di mana perlakuan asam kuat seperti HNO_3 mampu menurunkan hambatan fisik kulit biji dan mempercepat proses perkecambahan pada spesies berkulit keras.

Dengan demikian, baik perlakuan KNO_3 maupun HNO_3 menunjukkan kemampuan untuk mempercepat transisi fisiologis benih dari fase dorman ke aktif, meskipun melalui mekanisme yang berbeda: KNO_3 bekerja secara fisiologis pada sistem hormon dan respirasi embrio, sedangkan HNO_3 bekerja secara mekanis-kimiawi melalui peningkatan permeabilitas kulit biji.

F. Kesimpulan

Dari hasil pengujian laboratorium Balai Besar PPMBTPH tahun 2025 dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Secara umum, perlakuan KNO_3 3% memberikan efek paling stabil dan efektif pada hampir semua varietas. Dormansi panjang ditemukan pada varietas Cakrabuana dan BK Situbondo (4–6 minggu), sedangkan varietas Inpari Sidenuk dan Inpari 33 menunjukkan dormansi singkat (<4 minggu). Pola umum menunjukkan bahwa dormansi mulai patah ketika nilai kontrol tidak meningkat signifikan dibanding minggu sebelumnya. Perlakuan kimia, khususnya KNO_3 , berperan mempercepat proses fisiologis pembentukan radikula dengan meningkatkan penyerapan oksigen dan sintesis enzim perombak cadangan makanan.

2. Perlakuan KNO_3 3% selama 24 jam memberikan efek paling konsisten dan signifikan dalam mempercepat pematangan dormansi pada seluruh varietas. Perlakuan HNO_3 0,1 M selama 24 jam juga efektif, terutama untuk varietas dengan dormansi kuat. Perlakuan perendaman air selama 24 jam dapat digunakan sebagai alternatif ringan untuk varietas dengan dormansi sedang. Perlakuan pemanasan suhu 50°C selama 24 jam kurang efektif untuk sebagian varietas, dan tidak disarankan sebagai metode tunggal.
3. Perlakuan KNO_3 3% mampu mempercepat hilangnya dormansi hingga 1–2 minggu lebih awal dibanding kontrol, dengan peningkatan daya berkecambah mencapai >80–90% sejak minggu ke-4 pascapanen.

G. Rekomendasi untuk dimasukkan ke revisi Kepmentan 993 Tahun 2018 untuk adalah sebagai berikut

Berdasarkan hasil uji laboratorium menggunakan tujuh varietas (Cakrabuana, BK Situbondo 01 Agritan, BK Situbondo 02 Agritan, Padjajaran dan M70D.) diperoleh metode pematangan dormansi yang dapat diusulkan ke dalam revisi Kepmentan 993/HK.150/C/05/2018 sebagai metode standar nasional dalam perlakuan pematangan dormansi benih padi varietas genjah dan sangat genjah (Tabel 10.). Revisi Kepmentan 993 tahun 2018 ini diharapkan dapat menjadi dasar pembaruan metode pengujian daya berkecambah, sehingga hasil pengujian lebih akurat, representatif, dan sesuai kondisi fisiologis benih padi varietas unggul baru.

Tabel 10. Usulan metode pematangan dormansi benih padi varietas sangat genjah/genjah

No	Varietas	After refening	Metode yang digunakan
1	Cakrabuana	4 minggu setelah panen	KNO ₃ 3% selama 24 jam ; HNO ₃ 0,1 M selama 24 jam; Pemanasan suhu 50°C, 24 jam perendaman air selama 24 jam
2	BK Situbondo 01 Agritan	5 minggu setelah panen	KNO ₃ 3% selama 24 jam ; HNO ₃ 0,1 M selama 24 jam; perendaman air selama 24 jam
3	BK Situbondo 02 Agritan	5 minggu setelah panen	KNO ₃ 3% selama 24 jam ; HNO ₃ 0,1 M selama 24 jam; perendaman air selama 24 jam
4	Padjajaran	4 minggu setelah panen	KNO ₃ 3% selama 24 jam ; HNO ₃ 0,1 M selama 24 jam; perendaman air selama 24 jam
5	M70D	5 minggu setelah panen	KNO ₃ 3% selama 24 jam ; HNO ₃ 0,1 M selama 24 jam; perendaman air selama 24 jam

Disusun oleh :

- Nike Fitria Wibawa

Diverifikasi oleh :

- Amiyarsi Mustika Yuksi

NASKAH AKADEMIK

2. Validasi Metoda Uji Deteksi Nematoda *Aphelenchoides besseyi* Terbawa Benih Padi

A. Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan sumber makanan pokok bagi hampir seluruh rakyat Indonesia. Padi adalah salah satu komoditas sereal yang paling banyak dibudidayakan di dunia bersama dengan jagung dan gandum, yang mewakili lebih dari 50% dari produksi pertanian. Upaya peningkatan produktivitas padi tidak terlepas dari pengaruh faktor pengganggu yang dapat berakibat pada penurunan produksi padi. Serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) (Wati, 2017), merupakan faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya produksi padi, salah satunya adalah adanya penyakit pucuk putih yang disebabkan oleh nematoda *Aphelenchoides besseyi* (Siswanto et al. 2018).

Nematoda *A. besseyi* dapat menurunkan produksi padi sebesar 17-54% pada tanaman rentan dan 0-24% pada tanaman tahan (EPPO 2005). Nematoda ektoparasit ini masuk ke dalam jaringan menuju floem dan menyebabkan nekrosis (Fortuner dan Williams 1975). Gejala pada bagian pucuk daun, yaitu munculnya warna putih sepanjang 3–5 cm pada ujung daun dan pada tahap lanjut bagian tersebut menjadi nekrosis. Bagian ujung daun bendera akan menggulung dan mengalami distorsi. Benih yang terserang menunjukkan gejala warna hitam pada permukaannya, namun gejala ini tidak bisa dijadikan indikator terinfeksi karena tidak semua benih menunjukkan gejala dan gejala tersebut juga dapat diakibatkan oleh patogen dan hama yang berbeda. Nematoda *A. besseyi* dapat bertahan dalam keadaan dorman di bagian *glume* benih pada masa penyimpanan dengan kondisi anhidrobiosis selama 2-3 tahun dan aktif kembali jika terdapat lapisan air (Harefa, 2018). Infeksi dapat *A. besseyi* menyebabkan pertumbuhan vegetatif dan generatif pada tanaman padi terganggu.

Status Nematoda *A. besseyi* sebagai organisme pengganggu tanaman karantina (OPTK) A2 yang penyebarannya masih terbatas di Jawa, Sumatera, dan Kalimantan Selatan (Permentan 2015) telah berubah menjadi organisme pengganggu tanaman penting (OPTP) karena penyebarannya hampir di seluruh Indonesia (Permentan, 2020).

Berdasarkan hal tersebut, pengujian deteksi *A. besseyi* di laboratorium sangatlah penting. Laboratorium Pengujian Balai Besar PPMBTPH memiliki ruang lingkup pengujian nematoda terbawa benih padi *A. besseyi* yang telah terakreditasi oleh Komite Akreditasi Nasional dengan metode pengujian mengacu pada ISTA *Rules* (Chapter 7 No. 025) yaitu dengan menginkubasi benih selama 24 jam pada suhu $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ yang sebelumnya contoh benih diekstraksi terlebih dahulu dengan menggunakan *mill husker*. Sehubungan

dengan hal tersebut untuk dapat memberikan hasil uji yang aplikatif dan valid dengan metode uji yang efisien dan efektif maka diperlukan validasi metode. Hasil kegiatan validasi ini diharapkan dapat diaplikasikan oleh laboratorium pengujian mutu benih, terutama yang belum memiliki sarana yang memadai.

B. Tujuan

Memperoleh metode deteksi *Aphelenchoides besseyi* terbawa benih padi (*Oryza sativa*) yang aplikatif dan valid.

C. Manfaat

Metode deteksi *Aphelenchoides besseyi* terbawa benih padi (*Oryza sativa*) dapat digunakan oleh laboratorium pengujian benih untuk mengetahui tingkat infeksi nematoda terkait walaupun dengan sarana yang terbatas.

D. Pelaksanaan

Kegiatan validasi metode ini dilaksanakan dengan tahapan sebagai berikut:

- 1) Menyiapkan bahan uji, alat dan prasarana lainnya meliputi benih padi (yang terdiri dari varietas Pak Tiwi-2, Ciherang, dan Inpari 32), kantong plastik, wadah kertas (amplop coklat 10x6/pxl cm) saringan nylon ukuran mesh 0,25 mm, skalpel, *mill husker*, inkubator, mikroskop stereo dan *compound*, *cover* dan *object glass*, jarum pancing, thermohygrograft, gelas piala Ø 45 mm; cawan petri Ø ≤ 9 cm atau cawan sirakus.
- 2) Melaksanakan uji observasi pada setiap varietas dan perlakuan/metode target, serta diulang sebanyak 3 (tiga) kali untuk setiap lot/varietas dengan analisis yang berbeda. Jumlah metode target yang dilakukan uji observasi sebanyak 8 metode.
- 3) Mengkompulsi, dan menganalisis data hasil uji observasi pada tiga varietas padi yang digunakan sebagai bahan uji. Analisa data menggunakan Analisis Sidik Ragam (ANOVA *Analysis of Variance*) dengan jenjang nyata 5%, yang dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda (DMRT) jika terdapat beda nyata antar perlakuan. Hasil analisis data tahap uji observasi adalah metode ekstraksi dan inkubasi pada deteksi nematoda *Aphelenchoides besseyi* (*A. besseyi*) yang tidak berbeda nyata dengan metode acuan adalah metode B1 (ekstraksi dengan memotong dua bagian ujung benih padi, dengan inkubasi 18 jam pada suhu ruang 29 ± 3 °C kondisi gelap), dan B2 (ekstraksi dengan memotong dua bagian ujung benih padi dengan inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang 29 ± 3 °C).
- 4) Melaksanakan konsultasi dengan Narasumber dari IPB (Fitrianingrum Kurniawati, SP, MSi) untuk memperoleh masukan terkait penetapan metode target menjadi metode yang akan divalidasi oleh peserta.
- 5) Melaksanakan pengemasan dan pemberian kodefikasi bahan uji sebelum uji homogenitas. Dokumentasi bahan uji yang telah terkemas dan diberikan kodefikasi

tersaji sebagaimana Gambar 1.



Gambar 1. Bahan uji yang terkemas dan terkodefikasi sebelum uji homogenitas

- 6) Melaksanakan uji homogenitas yang bertujuan untuk memastikan kehomogenan bahan uji yang digunakan. Hasil analisa data ketiga varietas yang digunakan dengan menggunakan uji t minitab menunjukkan tidak terindikasi heterogen sehingga dapat digunakan sebagai bahan uji validasi dan didistribusikan ke peserta.
- 7) Melaksanakan pengemasan bahan uji, dan sarana pengujian (alat pancing, gelas piala, petridish dan saringan nylon), serta surat pengantar dan juknis pelaksanaan validasi metode uji deteksi nematoda *A. besseyi* terbawa benih padi. Dokumentasi persiapan dan pengemasan bahan uji sebelum distribusi tersaji sebagaimana Gambar 2.



Gambar 2. Penyiapan dan pengemasan bahan uji sebelum distribusi ke peserta validasi.

- 8) Melaksanakan sosialisasi juknis validasi metode secara daring pada peserta validasi, yang bertujuan untuk lebih mengoptimalkan pelaksanaan validasi.
- 9) Pendampingan pelaksanaan validasi metode oleh tim validasi Balai Besar PPMBTPH ke laboratorium BPSB Prov. Kalsel; Sumsel; Bengkulu; dan Banten. Beberapa dokumentasi pelaksanaan kegiatan dimaksud tersaji pada gambar berikut.



Gambar 3. Pendampingan pelaksanaan validasi metode pada laboratorium BPSB Prov. Kalimantan Selatan.



Gambar 4. Pendampingan pelaksanaan validasi metode pada laboratorium BPSB Prov. Bengkulu

Hasil kegiatan pendampingan adalah peserta lebih optimal dalam memahami dan melaksanakan validasi baik pada tahap pelaksanaan ekstraksi, inkubasi dan setelah inkubasi, memancing nematoda serta pengamatan. Walaupun sebelum dilakukan pendampingan peserta masih mengalami kesulitan dalam memancing nematoda *A. besseyi* serta pengamatan. Kendala lain dalam pelaksanaan pengujian deteksi nematoda adalah alat mikroskop compound yang dimiliki beberapa laboratorium BPSBTPH tidak sesuai standar dimana meja tempat preparat diletakkan memiliki ukuran yang tidak sesuai (lebih besar/kecil) dari ukuran object glass yang digunakan.

- 10) Mengkompulasi data hasil uji dari peserta validasi uji deteksi nematoda. Peserta telah mengirimkan data hasil uji disertai gambar morfologi nematoda *A. besseyi* yang terdeteksi serta rekaman suhu saat pengujian sejumlah 9 dari 11 peserta.
- 11) Mengkompulasi data hasil validasi metode deteksi nematoda *A. besseyi* yang dilakukan oleh peserta pada tanggal 19 Agustus sampai dengan 18 September 2025, menggunakan metode B1 dan B2 pada tiga varietas benih padi (Pak Tiwi-2, Ciherang dan Inpari 32). Data hasil validasi peserta dilakukan analisa statistik secara kualitatif dengan memperhatikan kriteria penetapan level infeksi positif dan negatif bahan uji sesuai Tabel 1. Sedangkan hasil analisa data secara kualitatif tersaji pada Tabel 2.

Tabel 1. Tingkat infeksi nematoda pada bahan uji validasi

No.	Varietas	Tingkat infeksi	Kisaran jumlah nematoda (ekor)	Status
1.	Pak Tiwi-2	Tinggi	Minimal 150	Positif
2.	Ciherang	Sedang	Minimal 25	Positif
3.	Inpari 32	Rendah	Minimal 0	Negatif

Tabel 2. Hasil analisa data peserta validasi metode secara kualitatif

No	Lab. Peserta	Kode Bahan Uji						Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)
		PB1 (+)	PB2 (+)	CB1 (+)	CB2 (+)	IB1 (-)	IB2 (-)			
1.	PPSBTPH Prov. Bengkulu	-	+	-	+	-	-	50	100	66,7
2.	BPSBTPH Prov. Sumatera Selatan	+	+	+	+	-	-	100	100	100
3.	BPSBTPH Prov. Jawa Barat	+	+	-	+	-	-	75	100	83,3
4.	PSBTPHP Prov. Banten	-	+	+	+	-	-	75	100	83,3
5.	BPSBTPH Prov. Kalimantan Selatan	+	+	+	+	-	-	100	100	100
6.	BPSBTPH Prov. Sulawesi Selatan	+	+	+	+	-	-	100	100	100
7.	BPSBTPH Prov. NTB	+	+	+	+	-	-	100	100	100
8.	Balai Besar POPT	+	+	+	+	-	-	100	100	100
9.	BBUSKHIT	+	+	+	+	-	-	100	100	100
10.	Balai Besar PMPTP	+	+	+	+	-	-	100	100	100
11.	Departemen Proteksi Tanaman IPB	+	+	+	+	-	-	100	100	100

Keterangan: P: Pak Tiwi-2; C: Ciherang; I: Inpari 32; B1: ekstraksi dengan memotong dua bagian ujung benih padi, inkubasi pada suhu ruang (29 ± 3 °C) dan kondisi gelap, selama 18 jam) dan B2: ekstraksi dengan memotong dua bagian ujung benih padi, inkubasi pada suhu ruang (29 ± 3 °C) dan kondisi gelap, selama 24 jam).

Berdasarkan Tabel 2., pada dasarnya metode B1 dan B2 valid diaplikasikan oleh laboratorium dalam mendeteksi *A. besseyi*, dengan nilai *accuracy* dari 91% peserta berikisar 83 hingga 100%, yang berarti peserta dapat mendeteksi nematoda target melebihi level minimal infeksi positif maupun negatif yang ditetapkan, dan metode B1 dapat dikatakan lebih efektif dikarenakan waktu inkubasi lebih singkat, yaitu 18 jam. Dokumentasi penerapan inkubasi pada kondisi gelap pada laboratorium peserta dengan suhu ruang rata-rata peserta sekitar 26,0 – 32,1°C, dan morfologi nematoda *A. besseyi*

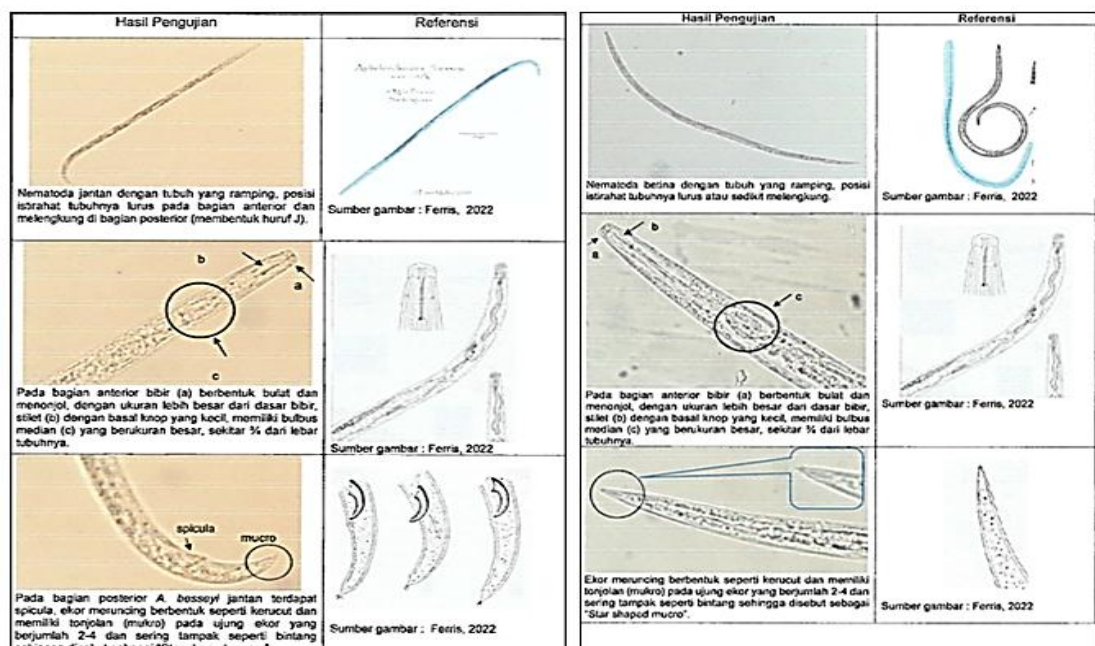
yang terdeteksi oleh beberapa laboratorium peserta tersaji pada Gambar 6 sampai dengan 8.



Gambar 6. Inkubasi pada kondisi gelap pada laboratorium peserta



Gambar 7. Morfologi *A. besseyi* jantan (IPB)



Gambar 8. Morfologi *A. besseyi* yang terdeteksi oleh laboratorium peserta (BBUSKHIT)

E. Kesimpulan

Metode deteksi nematoda *Aphelenchoides besseyi* melalui ekstraksi dengan memotong dua bagian ujung benih padi, dan inkubasi pada suhu ruang 29 ± 3 °C dan kondisi gelap, selama 18 (metode B1) dan 24 jam (Metode B2), valid diaplikasikan oleh laboratorium dalam mendeteksi nematoda *Aphelenchoides besseyi*, dengan nilai *accuracy* dari 91%

peserta berikisar 83 hingga 100%, dan metode B1 dapat dikatakan lebih efektif dikarenakan waktu inkubasi lebih singkat yaitu 18 jam.

F. Rekomendasi

Metode uji deteksi *Aphelenchoides besseyi* menggunakan ekstraksi dengan memotong dua bagian ujung benih padi, inkubasi: suhu ruang (29 ± 3 °C) kondisi gelap, selama 18 jam dan 24 jam valid untuk diaplikasikan.

Disusun oleh :

- Herni Susilowati

Diverifikasi oleh :

- Nike Fitria Wibawa

NASKAH AKADEMIK**3. VERIFIKASI PEMERIKSAAN CAMPURAN VARIETAS LAIN (CVL) / TIPE SIMPANG DALAM SERTIFIKASI BENIH PADI DI LAPANGAN DAN LABORATORIUM****A. Latar Belakang**

Keputusan Menteri Pertanian Nomor 966 Tahun 2022 menjadi acuan teknis dalam sertifikasi benih tanaman padi. Namun, pemeriksaan sertifikasi di lapangan belum selalu menghasilkan lot benih yang memenuhi target mutu genetik dan produksi. Pemeriksaan mutu genetik yang kurang optimal dapat menurunkan kemurnian benih, yang ditandai dengan munculnya variasi morfologi butir padi di luar standar analisis.

B. Tujuan

1. Melakukan verifikasi secara molekuler dan reaksi fenol di laboratorium terhadap hasil sertifikasi benih padi yang dilakukan berdasarkan metode pemeriksaan Campuran Varietas Lain (CVL) dan Tipe Simpang dalam pertanaman padi di lapangan .
2. Menyiapkan metode pemeriksaan yang sesuai di laboratorium dalam mengidentifikasi perbedaan CVL dan tipe simpang benih padi dengan sampel varietas uji.

C. Manfaat

Verifikasi metode uji di laboratorium yang akurat guna identifikasi Campuran Varietas Lain (CVL) dan tipe simpang benih padi dalam mendukung sertifikasi benih padi dengan waktu yang cepat.

D. Pelaksanaan

Penguatan verifikasi metode terdiri tiga tahap kegiatan yang menggunakan metode sebagai berikut

1. Pengambilan contoh padi di lapangan merujuk pada petunjuk teknis sertifikasi benih padi pada fase masak (7 hari menjelang panen) di wilayah Subang dan wilayah Sragen. Pemeriksaan CVL/tipe simpang dilakukan dengan membandingkan tanaman asli dan tanaman yang terlihat berbeda berdasarkan morfologi tanaman menjelang panen (tinggi tanaman, lebar / warna daun, tipe daun bendera, bentuk / warna butir / gabah dan karakter lain) yang selanjutnya dilakukan analisa data.

2. Contoh tanaman hasil pemeriksaan sertifikasi dilanjutkan uji di laboratorium Balai Besar PPMBTPH menggunakan pengujian berbasis DNA yang mengacu pada LP-IK-P.DNA. Tahapan kegiatan analisis diawali dengan pengambilan contoh kerja secara acak, yaitu sebanyak 25 butir padi sebagai materi genetik untuk isolasi DNA (minipreparasi) menggunakan metode CTAB yang dideskripsikan oleh Sambrook (1989), menghasilkan stok DNA dengan kisaran nilai kemurnian DNA adalah 1,8-2,0. Komposisi reagen PCR yang digunakan untuk volume akhir 10 ul terdiri dari PCR mix tag plus (5 ul), primer SSR (forward/reverse) masing masing adalah 0,5 ul, cetakan DNA 1,0 ul, dan nuclease free water 3,0 ul. Reaksi PCR dikondisikan sebagai berikut, yaitu Satu siklus tahap denaturasi awal (95 oC, 5 menit), 35 siklus tahap dua: denaturasi (95 oC, 30 detik), annealing (61 oC, 30 detik), dan elongasi (72 oC, 30 detik), dan satu siklus tahap tiga yang merupakan sintesa akhir (72 oC, 5 menit). Hasil PCR diseparasi menggunakan teknik elektrofores pada gel agarose 2,5% dalam bufer TAE 1x. Elektroforesis dijalankan pada tegangan listrik 80 volt selama 40-60 menit. Primer mikrosatelit yang digunakan terdiri dari RM 259 atau P1 (urutan basa 5'-3' forward TGG AGT TGA GAG GAG GG dan reverse CTT GTT GCA TGG GTG CCA TGC CATGT), RM 518 atau P2 (urutan basa 5'-3' forward CTCTTCACTCACTCAC CATGG dan reverse ATCCATCTGGAGCAA GCAAC), RM 5742 atau P3 (urutan basa 5'-3' forward GGC GAG CGA TCC TAA AC dan reverse GTT TAC TCA CGC TCT GCC AG), RM 6997 atau P4 (urutan basa 5'-3' forward CAA CGC GGC AGT AAA TTT GC dan reverse GGC CTT GTC AGT CTA CAT GC). Running PCR dan gel dokumentasi dari elektroforesis memberikan ada tidak visualisasi fragmen DNA berupa jumlah dan ukuran molekul DNA untuk dilakukan analisa data.
3. Analisa uji phenol 1% yang berupa ada tidak perubahan warna sekam padi merujuk pada hasil penelitian Standardization of Phenol Colour Reaction Test in Rice (*Oriza sativa*) Varieties (Shahil Kumar and Sandeep Lai, 2023) dilakukan dengan cara merendam sampel uji @ 25 bulir padi dalam aquadest yang ditempatkan pada dalam tabung reaksi berukuran 5 ml selama 16 jam. Berikutnya padi ditabur diatas media kertas filter (2 lembar) dalam petridish diameter 9 cm dan dilakukan penambahan larutan phenol 2 % sebanyak 4 ml dan diinkubasi pada kondisi gelap guna meredam paparan phenol. Pengamatan dan identifikasi terhadap perubahan warna sekam padi yang terjadi sebagai respon terhadap larutan phenol 2% dilakukan setelah inkubasi 4-5 jam dan dilanjutkan pengamatan 16-17 jam. Jumlah benih yang mengalami perubahan warna berbeda dengan benih tanpa reaksi phenol (kontrol) setelah inkubasi yang akan dianalisa data.

E. Hasil Kegiatan

Hasil pemeriksaan morfologi (Gambar 1 dan 2) dirangkum dalam tabel 1 berisi data pemeriksaan karakter morfologi CVL atau tipe simpang yang beda dibandingkan dengan tanaman asli adalah benar sebagai CVL/tipe simpang sehingga diberi notasi sesuai (1) dan sebaliknya jika tidak sesuai sebagai CVL/tipe simpang diberik notasi nol (0) disajikan dalam tabel 2.



Gambar 1 . Contoh benih padi wilayah Subang Jawa Barat



Gambar 2. Contoh benih padi wilayah Sragen Jawa Tengah

Tabel 2. Data (kualitatif) pemeriksaan morfologi tanaman asli, CVL/ TS

No	Varietas / Sampel diperiksa	Karakter morfologi							Kategori verifikasi (kualitatif)
		Tinggi Tanaman (cm)	Ukuran Daun Bendera	Tipe Daun Bendera	Tipe Leher Malai	Bentuk Butir/Bulir	Umur Tanaman	Lain	
1	IR 64	Nomor SK Pelepasan Varietas : Tahun 1986							
	Asli (A) (G)	115-126	-	Tegak	-	Ramping panjang	-	-	Sesuai (1)
	CVL1	-	-	-	-	Agak bulat	-	-	Beda(
	CVL2	Lebih tinggi	-	-	-	-	Masak susu	-	Beda
	CVL (G1)	Lebih tinggi	-	-	-	-	-	Ada bulu ekor	Beda
	CVL (G2)	Lebih pendek	Panjang dan kecil	-	-	Lebih ramping	-	-	Beda
	CVL (G3)	Lebih tinggi	-	-	-	Lebih bulat	-	-	Beda
2	Ciherang	Nomor SK Pelepasan Varietas : Tahun 2000							
	Asli (B)	107-125	-	Tegak	-	Ramping panjang	-	-	Sesuai (1)
	CVL (B1)	-	-	Tegak	Pendek	Ramping	-	-	Beda(
	CVL (B2)	-	Panjang	-	Panjang	Berbeda	-	Genjah	Beda
3	Sintanur	Nomor SK Pelepasan Varietas : 71/Kpts/TP.240/I/2001							
	Asli (C)	115-126	-	Tegak	-	Ramping panjang	-	-	Sesuai (1)
	CVL/TS	Lebih tinggi	-	-	-	-	-	Aroma daun / bulir berbeda	Beda
4	INPARI 32	Nomor SK Pelepasan Varietas : 4996/Kpts/SR.120/12/2013							
	Asli (D) (I)	-	-	Tegak	Malai ; leher	Medium	-	-	Sesuai (1)
	CVL (D1)	-	Pendek		Panjang	Ramping	-	-	Beda(
	CVL (J1)	-	24,9 cm	Tegak	Malai ; leher beda	Medium	-	Ada bulu ekor	Beda(
	CVL (J2)	-	-	-	Malai ; leher malai beda	Ramping, pendek	-	-	Beda
	CVL (J3)	-	26, 1	Tegak	Malai ; leher beda	Ramping, panjang	-	Ada bulu ekor	Beda
	CVL (J4)	Lebih tinggi	-	Miring	-	Lebih kecil	-	-	Beda
5	INPARI 49	Nomor SK Pelepasan Varietas : 123/HK.540/C/04/2021							
	Asli (E) (L)	115-125 cm	-	Tegak	-	Ramping panjang	-	-	Sesuai (1)
	TS (E1)	Lebih tinggi	-	-	-	-	-	Ada bulu ekor	Beda(
	TS atau berbeda	Lebih pendek	-	-	-	-	-	Terserang OPT/ Kurang hara	Beda
6	Mekongga	Nomor SK Pelepasan Varietas : 374/Kpts/LB.240/6/2004							

	Asli (F)	115-125 cm	-	Tegak	-	Ramping panjang	-	-	Sesuai (1)
	CVL (F1)	-	-	-	-	Ramping	-	Daun tebal dan lebat	Beda
7	Way Apo Buru	Nomor SK Pelepasan Varietas : 21/Kpts/TP.240/98							
	Asli (H)	115-125 cm	-	Tegak	-	Ramping panjang	-	-	Sesuai (1)

No	Varietas / Sampel diperiksa	Karakter morfologi							Kategori verifikasi (kualitatif)
		Tinggi Tanaman (cm)	Ukuran Daun Bendera	Tipe Daun Bendera	Tipe Leher Malai	Bentuk Butir/Bulir	Umur Tanaman	Lain	
	CVL (H1)	77 cm	27,5 cm	Tegak	Malai; leher malai beda	Ramping Panjang	-	Ada bulu ekor	Beda
	CVL (H2)	Lebih tinggi	30,13 cm	Tegak	Malai; leher malai beda	Lebih gemuk	Masak lebih awal	-	Beda
8	M70	Nomor SK Pelepasan Varietas : 135/Kpts/TP.030/2/2017							
	Asli (J)	115-126 cm	-	Tegak	-	Ramping panjang	-	Rentan belug	Sesuai (1)
	CVL (I1)	Lebih tinggi	-	-	Pendek	Lebih gemuk	Masak terlambat	-	Beda(
	CVL (I2)	-	-	-	-	Lebih gemuk	-	-	Beda
9	M50	Nomor SK Pelepasan Varietas : 126/HK.540/C/04/2021							
	Asli (K)	115-125 cm	Sedang	Tegak	Malai; leher malai beda	Ramping panjang	-		Tidak sesuai (0)
	CVL (K1)	-	Sedang	Tegak	Malai; leher malai beda	Ramping panjang	-	Ada bulu ekor	Tidak beda (0)
	CVL (K2)	-	Sedang	Tegak	Malai; leher malai beda	Medium	-	Ada bulu ekor	Tidak Sesuai (0)
10	Inpari 42								
	Asli (L)	-	Sedang	Tegak	Malai; leher malai beda	Ramping panjang	-	Ada bulu ekor	Tidak sesuai (0)
	CVL L1	-	Sedang	Tegak	Malai; leher malai beda	Medium	-	Ada bulu ekor	Tidak beda (0)
	CVL L2	-	Sedang	Tegak	Malai; leher malai beda	Ramping panjang	-	Ada bulu ekor	Tidak Sesuai (0)

Keterangan :

Asli adalah tanaman areal setifikasi benih padi; CVL adalah campuran varietas lain dan TS adalah tipe simpang

Analisa secara kualitatif terhadap data pemeriksaan morfologi memberikan hasil evaluasi (Tabel 3) sehingga diperoleh penilaian parameter pada Tabel 4

Tabel 3. Hasil evaluasi dalam analisa kualitatif

Hasil Uji pemeriksaan verifikasi	Acuan		Jumlah
	Positif	Negatif	
Sesuai	8	0	8
Tidak sesuai	0	2	2
	8	2	10

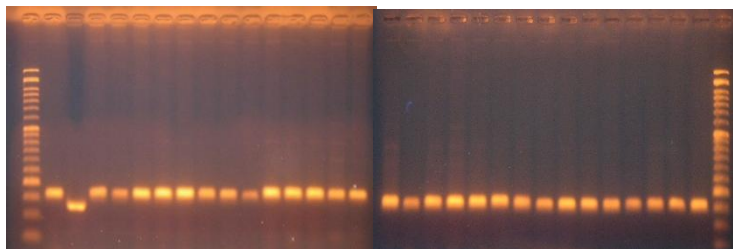
Tabel 4. Penilaian pemenuhan parameter keberterimaan metode

No	Varietas / Parameter (%)	A/G	B	C	D/J	E/L	F	H	I	K	L
1	<i>Specificity rate</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0
2	<i>Sensitivity rate</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0
3	<i>False Negative rate</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0
4	<i>False Positive rate</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0
5	<i>Akuracy rate</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	Keberterimaan	dipenuhi									

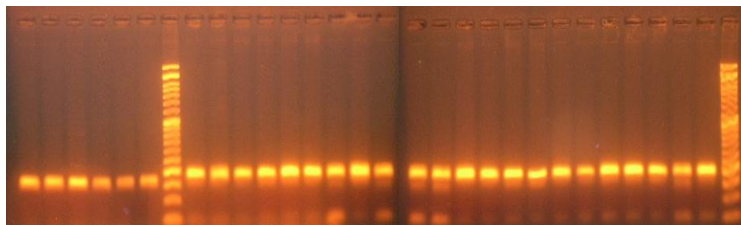
False Positive Rate (FPR) digunakan untuk mengukur proporsi data negatif yang salah diklasifikasikan sebagai positif diperoleh 0%, yang menandakan bahwa metode tidak menghasilkan kesalahan positif palsu. Dengan demikian, seluruh data negatif dapat dikenali dengan benar dari metode. Untuk akurasi yang mengukur tingkat ketepatan metode dalam mengklasifikasikan seluruh data uji. diperoleh nilai 100%. Hal ini menunjukkan bahwa metode mampu mengklasifikasikan seluruh data uji secara tepat tanpa kesalahan. Sebagai pendukung dalam analisa kualitatif yaitu nilai sensitivitas menunjukkan kemampuan metode dalam mendeteksi data positif adalah 100%, sedangkan spesifisitas menunjukkan kemampuan metode dalam mendeteksi data negative yaitu 100%. Nilai ini mengindikasikan bahwa metode memiliki kemampuan deteksi yang sangat baik baik pada kelas positif maupun kelas negatif. Berdasarkan nilai FPR sebesar 0% dan accuracy sebesar 100%, dapat disimpulkan bahwa metode yang diusulkan memiliki kinerja yang sangat baik dan dapat diterima (acceptable) untuk digunakan pada pemeriksaan kemurnian varietas di lapangan Metode tidak menunjukkan

kesalahan klasifikasi dan mampu membedakan kelas data secara optimal karena sampel yang digunakan terbatas tidak mewakili suatu lot pemeriksaan. Beberapa aspek morfologi tanaman padi yang berpotensi berkontribusi terhadap perbedaan hasil antara lain: struktur morfologi gabah dan produksi. Jika metode pemeriksaan berkaitan dengan organ seperti spikelet, palea, lemma, atau bulir padi, perbedaan ukuran dan bentuk dapat memengaruhi efektivitas identifikasi. Terdapat faktor variasi genetik antar varietas dapat mempengaruhi ekspresi karakter morfologis tertentu. Perbedaan genetik juga dapat mengubah profil biokimia jaringan yang mempengaruhi hasil pemeriksaan. Ketidaksesuaian yang terdeteksi pada M50 dan Inpari 42 dalam analisis ini sangat mungkin terkait dengan diferensiasi genetik yang menyebabkan respons yang tidak teramati pada varietas lain.

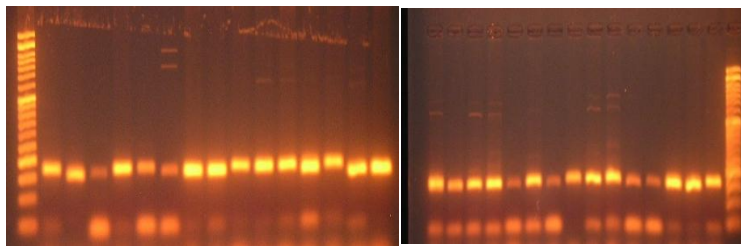
Untuk analisis keragaman genetik berbasis DNA menggunakan empat penanda SSR RM 259, RM 518, RM 5742, RM 6997 (Gambar 3, 4, 5, 6) menghasilkan data scoring tabel 5 dan gambar 3, menunjukkan adanya pengelompokan sampel yang jelas berdasarkan kemiripan genetiknya. Dendrogram hasil klasterisasi UPGMA berbasis jarak Jaccard (gambar 7) memperlihatkan bahwa varietas padi asli (IR64, Ciherang, Sintanur, Inpari 32, Inpari 49, M70, dsb.) cenderung mengelompok sesuai garis keturunannya masing-masing, yang mencerminkan konsistensi penanda SSR dalam membedakan genotipe yang berbeda.



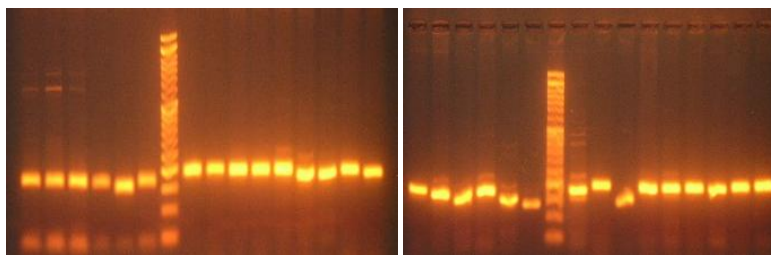
Gambar 3. Visualisasi hasil PCR SSR RM 259



Gambar 4 Visualisasi hasil PCR SSR RM 259 dan RM 518



Gambar 5 Visualisasi hasil PCR SSR RM 5742



Gambar 6 Visualisasi hasil PCR SSR RM 6997

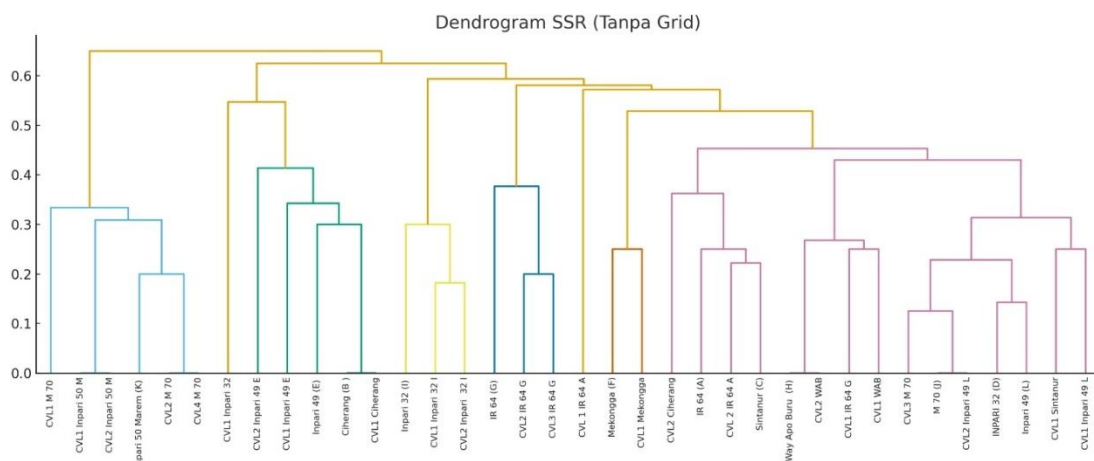
Tabel 5. Daftar scoring hasil PCR SSR 4 Primer padi

Variabel primer / Sampel	RM 259 (P1)						RM 518 (P2)				RM 5742 (P3)												RM 6997 (P4)							
	125	140	150	160	175	190	165	175	200	210	150	160	175	185	200	210	600	650	700	800	1200	140	150	160	175	180	190	200		
IR 64 (A)	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL 1 IR 64 A	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL 2 IR 64 A	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Ciherang (B)	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
CVL1 Ciherang	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
CVL2 Ciherang	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	
Sintanur (C)	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL1 Sintanur	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
INPARI 32 (D)	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL1 Inpari 32	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
Inpari 49 (E)	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
CVL1 Inpari 49 E	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	
CVL2 Inpari 49 E	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	
Mekongga (F)	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
CVL1 Mekongga	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
IR 64 (G)	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	
CVL1 IR 64 G	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL2 IR 64 G	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
CVL3 IR 64 G	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Way Apo Buru (H)	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL1 WAB	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL2 WAB	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Inpari 32 (I)	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL1 Inpari 32 I	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL2 Inpari 32 I	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	
M 70 (J)	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL1 M 70	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
CVL2 M 70	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL3 M 70	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL4 M 70	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Inpari 50 Marem (K)	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL1 Inpari 50 M	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL2 Inpari 50 M	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
Inpari 49 (L)	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL1 Inpari 49 L	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
CVL2 Inpari 49 L	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	

Analisis UPGMA berbasis marker SSR menunjukkan variasi tingkat kesamaan genetik antara varietas padi dan CVL yang mencerminkan perbedaan stabilitas serta keragaman genetik antar kelompok. IR64, Ciherang, dan Sintanur menunjukkan nilai similarity relatif sedang hingga tinggi, dengan CVL masih tergabung dalam klaster varietas induknya. IR64 dan Sintanur memperlihatkan jarak genetik yang sempit (masing-masing 0,44–0,75 dan 0,50–0,77),

mengindikasikan keragaman intraspesifik yang masih dapat diterima serta stabilitas genetik yang baik. Ciherang menunjukkan nilai similarity yang lebih rendah (0,33–0,66) dan jarak klaster yang lebih jauh, mengindikasikan keragaman internal yang lebih besar dibandingkan IR64.

Sebaliknya, Inpari 32 dan Inpari 49 memperlihatkan nilai similarity rendah dan sangat bervariasi (masing-masing 0,21–0,45 dan 0,15–0,50), dengan terbentuknya klaster terpisah pada sebagian CVL. Pola ini mengindikasikan terjadinya diferensiasi genetik yang signifikan, yang berpotensi disebabkan oleh mutasi, persilangan tidak terkontrol, atau impuritas genetik, sebagaimana dilaporkan oleh Bora et al. (2016). Kelompok M70 menunjukkan heterogenitas tertinggi dengan rentang similarity yang sangat luas (0,20–0,87), mencerminkan keberadaan CVL yang masih sangat mirip dengan induk maupun yang telah mengalami diferensiasi substansial.



Gambar 7. Dendrogram SSR padi pemeriksaan sertifikasi benih padi

Dendrogram UPGMA berbasis jarak Jaccard memperlihatkan pemisahan yang jelas antara kelompok varietas IR64, Ciherang, Sintanur, Inpari 32, Inpari 49, M70, serta varietas lain seperti Way Apo Buru dan WAB, dengan tinggi cabang (linkage distance) menggambarkan tingkat perbedaan genetik antar kelompok. Cabang yang pendek menunjukkan kedekatan genetik tinggi, sedangkan cabang yang lebih panjang menandakan jarak genetik yang lebih besar antar genotipe.

Pada bagian kiri dendrogram, klaster Inpari 50 dan M70 tampak relatif rapat, menunjukkan bahwa sebagian besar CVL masih mempertahankan kemiripan genetik yang cukup tinggi dengan varietas induk, meskipun beberapa CVL sudah mulai menjauh dan membentuk

cabang tersendiri. Di bagian tengah, klaster Ciherang dan Inpari 32 menampilkan pola di mana beberapa CVL berada dekat dengan varietas induk, sementara lainnya membentuk sub-cluster yang lebih jauh, menegaskan adanya diferensiasi genetik intra-varietas yang lebih besar.

Pada bagian kanan dendrogram, kelompok IR64 dan Sintanur membentuk klaster tersendiri yang cukup kompak, menunjukkan keragaman genetik intraspesifik yang relatif rendah dan konsistensi profil SSR di antara CVL-nya. Sebaliknya, kelompok Inpari 49 dan M70 di sisi paling kanan menunjukkan percabangan yang lebih kompleks dan panjang, yang mengindikasikan tingginya variasi genetik serta kemungkinan adanya kontaminasi, mutasi, atau persilangan tak terkontrol pada sebagian CVL. SSR sering digunakan sebagai "barcode genetik" untuk mengecek kemurnian varietas dan mendeteksi kontaminasi. Dalam aplikasi praktis, penanda SSR dapat mengidentifikasi dengan akurat persentase kontaminasi atau offtypes dalam lot benih, dengan kemampuan mendeteksi kontaminasi hingga 5% atau kurang (Bhaskaran & Umarani, 2016). CVL yang terpisah dari varietas induknya (misalnya pada Inpari 32 dan Inpari 49) mengindikasikan:

- a. Kemungkinan kontaminasi genetik: Adanya persilangan tak terkontrol atau pencampuran benih dari varietas lain selama proses produksi atau penyimpanan.
- b. Introduksi alel baru: Terjadinya mutasi spontan yang mengubah alel pada salah satu atau lebih lokus SSR, menghasilkan profil genetik yang berbeda dari induk.
- c. Persilangan yang tidak direncanakan: Terdapatnya bukti persilangan dengan varietas lain atau genotipe yang tidak terdokumentasi.

Hal ini penting karena kemurnian varietas sangat berkaitan dengan stabilitas fenotipe, konsistensi hasil panen, dan produktivitas agronomis (Bora et al., 2016; Mandape et al., 2017). Varietas yang tidak murni dapat menunjukkan segregasi fenotipik yang tidak diinginkan, menurunkan nilai pasar dan kepercayaan konsumen. Empat penanda SSR (RM 259, RM 518, RM 5742, RM 6997) yang digunakan dalam penelitian ini mampu memisahkan varietas padi dengan baik, menghasilkan pola kekerabatan yang sesuai dengan asal-usul genetik varietas berdasarkan telaah literatur breeding history. Analisis dendrogram UPGMA berbasis jarak Jaccard dan heatmap similarity mengkonfirmasi diskriminative power yang tinggi dari marker set ini. Sebagian besar CVL memiliki similarity tinggi terhadap varietas induk (misalnya IR64 dengan 0.44–0.75, Sintanur dengan 0.50–0.77), mengindikasikan stabilitas genetik yang baik dan layak untuk dirilis atau digunakan dalam program pemuliaan. Namun demikian, beberapa CVL (khususnya Inpari 32 dengan 0.21–0.45, Inpari 49 dengan 0.15–0.50, dan M70 dengan keragaman 0.20–0.87)

menunjukkan diferensiasi genetik signifikan yang memerlukan evaluasi lebih lanjut. Integrasi hasil analisis SSR dengan evaluasi fenotipik dan agronomis direkomendasikan untuk pengambilan keputusan yang komprehensif dalam program pemuliaan dan manajemen varietas padi.

Hasil uji fenol yang merupakan metode sederhana yang digunakan dalam identifikasi varietas padi berdasarkan reaksi warna yang muncul pada butir padi ketika direndam dalam larutan fenol 2 persen. Perubahan warna menjadi coklat atau gelap terjadi karena reaksi oksidasi fenol oleh enzim dan senyawa fenolik dalam pericarp (Gambar 8). Setiap varietas padi memiliki komposisi biokimia yang berbeda, sehingga pola perubahan warna dapat digunakan sebagai karakter pembeda. Pengamatan pada jam ke 4–5 menunjukkan variasi proporsi antara butir yang berubah warna dan tidak berubah warna pada setiap varietas. Sebagai contoh, varietas IR64 memiliki 6 butir tidak berubah dan 19 butir berubah, sementara varietas Ciherang memiliki 16 butir tidak berubah dan 9 butir berubah. Pola variasi serupa juga terlihat pada hampir seluruh varietas lain. Pada jam ke 16–17, seluruh varietas menunjukkan hasil yang sama, yaitu 25 butir berubah gelap. Tidak ditemukan variasi antar varietas pada waktu ini (Tabel 6).



Gambar 8. Pengujian Phenol 2% pada padi (sekam dan

Tabel 6. Hasil Reaksi Perubahan warna padi dalam Uji Phenol 2%

No	Varietas Kode/ verifikasi	Jumlah butir yang berubah			Kontrol (Tidak uji phenol) warna sekam coklat muda
		Setelah 4-5 jam		16-17 jam	
		Tidak Berubah	Berubah gelap	Berubah gelap	
1	IR64 (A)	6	19	25	25
2	CVL A1	11	14	25	25
3	CVL A2	9	16	25	25
4	CIHERANG (B)	16	9	25	25
5	CVL B1	13	12	25	25
6	CVL B2	18	7	25	25
7	SINTANUR (C)	6	19	25	25
8	CVL C1	4	21	25	25
9	INPARI 32 (D)	16	9	25	25
10	CVL D1	21	4	25	25
11	1 / Inpari 49 (E)	3	22	25	25
12	CVL E1	3	22	25	25
13	CVL E2	12	13	25	25
14	MEKONGGA (F)	20	5	25	25
15	CVL F1	20	5	25	25
16	IR-64 (G)	5	20	25	25
17	CVL G1	0	25	25	25
18	CVL G2	4	21	25	25
19	CVL G3	16	9	25	25
24	CVL I1	17	8	25	25
25	CVL I2	17	8	25	25
26	INPARI 32 (J)	13	12	25	25
27	CVL J1	19	6	25	25
28	CVL J2	16	9	25	25
29	CVL J3	7	18	25	25
30	CVL J4	6	19	25	25
31	INPARI 50 (K)	18	7	25	25

32	CVL K1	20	5	25	25
33	CVL K2	19	6	25	25
34	INPARI 42 (L)	19	6	25	25
35	CVL L1	19	6	25	25
36	CVL L2	5	20	25	25

Uji Chi-Kuadrat dilakukan terhadap data kategori perubahan warna (tidak berubah dan berubah warna) pada seluruh varietas padi pada waktu pengamatan 4–5 jam. Hasil analisis menunjukkan nilai Chi-Kuadrat sebesar 272,51 dengan derajat bebas 35 dan nilai p sebesar $1,46 \times 10^{-38}$. Nilai p yang jauh lebih kecil dari 0,05 menunjukkan bahwa hipotesis nol yang menyatakan proporsi perubahan warna antar varietas adalah sama ditolak. Dengan demikian, terdapat perbedaan proporsi perubahan warna yang signifikan antar varietas padi pada pengamatan 4–5 jam. Sebaliknya, pada pengamatan 16–17 jam seluruh varietas menunjukkan perubahan warna gelap secara seragam sehingga tidak terdapat variasi data antar kategori. Oleh karena itu, uji statistik tidak dapat diterapkan pada interval waktu tersebut.

Perbedaan reaksi warna pada jam ke-4–5 mengindikasikan adanya karakteristik biokimia yang berbeda antar varietas padi, yang berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik, aktivitas enzim fenolase/oksidase, serta struktur perikarp. Faktor-faktor tersebut memengaruhi kecepatan oksidasi fenol dan perubahan warna awal. Pada jam ke-16–17, seluruh sampel telah mengalami oksidasi penuh sehingga perbedaan antar varietas tidak lagi teramati. Hasil uji Chi-Kuadrat menguatkan bahwa interval waktu 4–5 jam bersifat informatif, sedangkan interval 16–17 jam tidak memberikan informasi diskriminatif (Gambar 8). Uji fenol 2% efektif digunakan untuk identifikasi varietas padi apabila pengamatan dilakukan pada interval waktu 4–5 jam, karena pada periode ini terdapat variasi perubahan warna yang signifikan secara statistik antar varietas berdasarkan uji Chi-Kuadrat. Sebaliknya, pengamatan pada jam ke-16–17 tidak dapat digunakan untuk identifikasi varietas karena seluruh sampel menunjukkan perubahan warna yang seragam. Identifikasi varietas padi melalui uji fenol sangat bergantung pada waktu pengamatan, dan interval 4–5 jam merupakan periode paling optimal untuk mengevaluasi aktivitas enzim fenolase/oksidase pada aleuron atau permukaan butir padi, yang berperan dalam oksidasi fenol menjadi senyawa berwarna gelap serta berpotensi

membedakan subspecies *indica* dan *japonica* (Shahil Kumar dan Sandeep Lal, 2023).

F. Kesimpulan

1. Verifikasi pemeriksaan Campuran Varietas Lain (CVL) dan tipe simpang pada sertifikasi benih padi menunjukkan bahwa
 - a. Pemeriksaan lapangan pada fase menjelang panen memenuhi kriteria keberterimaan dan efektif dalam mendeteksi CVL serta tipe simpang berdasarkan karakter morfologi tanaman.
 - b. Pengujian laboratorium berbasis PCR SSR dengan penanda RM 259, RM 518, RM 5742, dan RM 6997 terbukti memiliki tingkat akurasi tinggi dalam mengidentifikasi kontaminasi varietas dan tipe simpang dalam waktu relatif singkat (3 hari), yang ditunjukkan oleh analisis kekerabatan sampel.
 - c. Pengujian Phenol 2% hanya mampu membedakan subspecies padi berdasarkan kandungan fenolik dan kurang spesifik untuk identifikasi CVL dan tipe simpang.
2. Penerapan metode PCR SSR sebagai bagian dari proses sertifikasi benih padi di laboratorium, dengan mengikuti instruksi kerja LP-IK-P.DNA, dapat memperkuat sistem sertifikasi melalui identifikasi varietas yang lebih akurat,

G. Rekomendasi untuk dimasukkan ke Keputusan Menteri Pertanian metode dengan pertimbangan berikut

1. Pemeriksaan lapangan sebelum panen wajib dilaksanakan sebagai tahapan sertifikasi benih padi, yang sebaiknya diikuti dengan peningkatan kompetensi PBT secara berkelanjutan guna menjamin ketelitian dan konsistensi penilaian.
2. Pengujian di laboratorium dalam rangka sertifikasi benih padi dapat mengacu instruksi kerja LP-IK-P.DNA PCR SSR sebagai metode konfirmasi kemurnian varietas guna menjamin keseragaman prosedur, keterulangan hasil, dan keandalan data pengujian.
3. Uji Phenol 2% hanya dapat dimanfaatkan sebagai uji pendukung dalam klasifikasi awal subspecies padi.
4. Sertifikasi benih padi yang mengkombinasikan pemeriksaan lapangan dan pengujian berbasis DNA PCR SSR akan meningkatkan akurasi identifikasi varietas serta memperkuat jaminan mutu dan kemurnian benih padi.

Disusun oleh :

- Sri Budiarti

Diverifikasi oleh :

- Nike Fitria Wibawa



Andi Muhammad Idil Fitri