

**DETEKSI GEN KETAHANAN HAWAR DAUN BAKTERI PADA PADI FAMILI F₇
PERSILANGAN SINTANUR X PTB33 DAN FAMILI F₅ PANDANWANGI X PTB33
SEBAGAI UPAYA AWAL SKRINING GENOTIPE POTENSIAL**

(Detection of Resistance Genes to Bacterial Leaf Blight in F₇ Rice Family of Sintanur X PTB33 and F₅ Family of Pandanwangi X PTB33 as a Preliminary Effort to Screen Promising Genotypes)

PRAYITNO¹, NONO CARSONO^{2*}, ANAS², DIMAS KEMBARA MAHARDHIKA³

¹Program Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

²Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

³Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung-Sumedang KM-21, Jatinangor, 45363

*E-mail: n.carsono@unpad.ac.id

ABSTRACT

*The decrease in rice production due to bacterial leaf blight (BLB) caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) has been reported to be quite high, ranging from 15–23%. Based on its spread and rice losses due to this pathogen, efforts are highly needed to reduce and control it. The BLB resistance gene is called the Xa gene. Currently, there are 42 Xa genes controlling BLB resistance that have been identified in some cultivars, mutant population and wild species of rice. The Xa3, Xa4 and xa8 genes are the three well-known of bacterial leaf blight resistance genes in hybrid rice in China and South Asian countries. Considering their dominant existence in Indonesia, molecular screening by means of PCR detection has been done in eight families of F₇ Sintanur x PTB33 and two families of F₅ Pandanwangi x PTB33 for these three Xa genes. Molecular markers BB3RF, BB3RR, MP1, MP2, and RM21044 were applied to detect those three genes. Based on DNA visualization it was found that SP101-3-1-5-8, SP101-3-1-19-26, SP101-3-1-38-4, SP87-1-1-7-7, PP48-5-1, and PP48-5-24 had the Xa3 gene. The genotypes that carry the Xa4 gene were SP101-3-1-19-27, SP101-3-1-38-4 and SP101-3-1-38-25. Meanwhile, the xa8 gene was only detected in Pandanwangi, meanwhile the SP101-3-1-38-4 carried the Xa3 and Xa4 genes. No genotypes were found with three genes. The selected genotypes will be further developed in order to assembly multiple resistance genes for this particular disease.*

Keywords: Leaf blight, Molecular marker, Rice, Simple Sequence Repeats (SSR)

PENDAHULUAN

Padi merupakan tanaman penghasil beras yang menjadi bahan makanan pokok bagi sebagian besar penduduk Indonesia, 95% masyarakat Indonesia menjadikan padi sebagai sumber karbohidrat utama. Pertumbuhan jumlah penduduk di Indonesia 278.696.200 jiwa pada pertengahan tahun 2023, angka tersebut naik 1,05% dari tahun sebelumnya, dengan laju pertumbuhan penduduk 1,13% (Badan Pusat Statistik 2024). Sementara itu, produksi beras di Indonesia tidak sebanding dengan laju pertumbuhan penduduk. Produksi beras pada 2023 untuk konsumsi pangan penduduk diperkirakan sekitar 30,90 juta ton, mengalami penurunan sebanyak 645,09 ribu ton atau 2,05 persen dibandingkan produksi beras di 2022 yang sebesar 31,54 juta ton (Badan Pusat Statistik 2023). Terdapat banyak faktor yang dapat menyebabkan terhambatnya produksi padi seperti adanya cekaman abiotik maupun cekaman biotik, termasuk diantaranya adanya serangan penyakit seperti hawar daun bakteri (Hermanto 2014).

Hawar daun bakteri merupakan salah satu penyakit utama tanaman padi yang menyerang berbagai ekosistem padi di negara-negara penghasil beras, penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) (Balitbangtan 2015). Penyakit ini sangat sulit untuk dikendalikan karena memiliki banyak patotipe dan penyebarannya sangat mudah terjadi (Akhtar *et al.* 2008). Penurunan produksi padi akibat serangan penyakit hawar daun bakteri cukup tinggi, berkisar antara 15-23% dan dalam kondisi tertentu penurunan dapat mencapai 60% (Triny *et al.* 2011). Melihat tingginya penyebaran dan kerugian akibat serangan hawar daun bakteri, perlu dilakukan upaya untuk mengurangi dan mengendalikannya.

Penggunaan varietas padi yang tahan merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengendalikan dan mengurangi kerugian akibat serangan hama maupun penyakit. Perakitan tanaman untuk mendapatkan varietas padi unggul telah banyak dilakukan, salah satunya adalah persilangan antara tetua Sintanur x PTB33 (SP) dan Pandanwangi x PTB33 (PP) (Carsono *et al.* 2016). Hasil persilangan dari varietas-varietas tersebut diharapkan menghasilkan padi yang memiliki karakter aromatik, tahan terhadap serangan hama dan penyakit, serta memiliki mutu beras yang baik. Genotipe-genotipe tersebut telah diseleksi berdasarkan sifat ketahanannya terhadap hama wereng coklat (Carsono *et al.* 2016), karakter aromatik dan kandungan amilosa sedang berdasarkan seleksi fenotipik dan molekuler (Nasihin *et al.* 2015) dan uji penampilan agronomis serta komponen hasilnya (Afifah *et al.* 2020). Saat ini genotipe-genotipe harapan tersebut telah mencapai generasi menengah yaitu generasi F₅ dan F₇, dan telah dilakukan penelitian *bio-assay* hawar daun bakteri patotipe III, IV, V untuk mengetahui respon genotipe-genotipe tersebut terhadap serangan penyakit hawar daun bakteri (Carsono *et al.* 2021).

Karakterisasi sifat ketahanan suatu tanaman dapat dilakukan melalui identifikasi morfologi maupun dengan identifikasi molekuler. Identifikasi molekuler dengan bantuan marka molekuler dapat mendeteksi karakter dari suatu tanaman dalam tingkat sub-seluler dan dapat dilakukan sebelum tanaman mencapai fase generatif (Acquaah 2012). Sifat ketahanan terhadap hawar daun bakteri dikendalikan oleh gen dominan Xa. Saat ini telah diketahui terdapat 42 gen dominan Xa yang berkaitan dengan ketahanan hawar daun bakteri yang berhasil diidentifikasi dari berbagai kultivar, populasi mutan, dan *wild species* tanaman padi, gen tersebut memiliki sifat ketahanan yang beragam terhadap berbagai patotipe Xoo (Vikal & Bhatia 2017).

Gen dominan Xa3 dan Xa4 merupakan gen resisten hawar daun bakteri padi hibrida di China dan negara-negara Asia selatan telah berhasil mengendalikan penyebaran bakteri hawar daun di dunia dalam dua dekade terakhir. Gen dominan Xa4 merupakan salah satu gen yang paling banyak digunakan dalam berbagai program perbaikan genetik kultivar padi di Asia, karena memberikan resistensi dalam jangka waktu yang lama pada kultivar padi komersial (Mew *et al.* 1993). Hasil penelitian lain diperoleh bahwa ketahanan padi lokal terhadap HDB strain IV, VIII, dan X, menunjukkan insidensi penyakit bervariasi antara 2,6 – 77,6% sehingga reaksi ketahanan kultivar-kultivar padi lokal tersebut bervariasi dari rentan sampai sangat tahan (Khaeruni *et al.* 2014). Genotipe padi harapan dari UNPAD (SP101-3-1-5-2, SP101-3-1-5-8, SP101-3-1-19-26, SP101-3-1-38-4, SP87-1-1-7-10, SP101-3-1-19-27, SP101-3-1-38-25, SP87-1-1-7-7, PP48-5-24 dan PP48-5-1) menunjukkan reaksi rentan pada strain III, sangat rentan pada strain IV dan VIII serta beberapa individu genotipe mendapatkan skor 1 dan 2 (tahan), hal tersebut dapat membuka kemungkinan ditemukannya genotipe yang tahan (Carsono *et al.* 2021).

Sampai saat ini riset terkait keberadaan gen ketahanan hawar daun bakteri masih terbatas di Indonesia, oleh karena itu dipandang perlu untuk mendeteksi keberadaan gen ketahanan yang paling dominan ditemui di Indonesia yaitu gen dominan Xa3, Xa4, dan gen resesif xa8. Penelitian ini menggunakan beberapa marka molekuler spesifik, yang bertujuan untuk mendeteksi keberadaan gen dominan Xa3, Xa4, dan gen resesif xa8 yang mengendalikan sifat ketahanan terhadap penyakit hawar daun bakteri pada genotipe-genotipe harapan yang diuji. Dari hasil riset ini diharapkan dapat berkontribusi dalam pengembangan ketahanan genotipe-genotipe padi terhadap penyakit hawar daun bakteri ini.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di *screen house* Ciparanje dan Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Kegiatan penanaman benih padi dilakukan di *screen house*, sedangkan untuk kegiatan pengujian menggunakan marka molekuler dilakukan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Penelitian dilaksanakan pada bulan September sampai Desember 2020.

Bahan dan Alat

Kegiatan penanaman benih padi memerlukan beberapa peralatan yaitu baki persemaian dan ember. Peralatan yang digunakan untuk kegiatan percobaan molekuler yaitu sarung tangan, pestle, mortar, spatula, *micro tube*, PCR (mastercycler Eppendorf), spectrophotometer (Rayleigh UV-9200), tangki elektroforesis, alumunium foil, gel documentation system (G-Box dari Syngene), refrigerated microcentrifuge (Eppendorf), pipet dan pipet tip beragam ukuran, lemari pendingin, dan inkubator.

Materi genetik yang digunakan dalam penelitian ini merupakan delapan genotipe F_7 hasil persilangan varietas Sintanur x PTB33 (#SP101-3-1-5-2; #SP101-3-1-5-8; #SP101-3-1-19-26; #SP101-3-1-19-27; #SP101-3-1-38-4; #SP101-3-1-38-25; #SP87-1-1-7-7; #SP87-1-1-7-10) dan dua genotipe F_5 hasil persilangan Pandanwangi x PTB33 (#PP48-5-1; #PP48-5-24). Penelitian ini juga menggunakan tujuh varietas lain sebagai pembandingan (cek) yang terdiri dari varietas Sintanur, Pandanwangi, PTB33, Ciherang, Inpari 32, IRBB7, dan TN1. Genotipe uji akan dibandingkan dengan varietas pembandingan (cek) untuk mengetahui apakah genotipe mempunyai karakter yang lebih baik dengan varietas pembandingan. Bahan tanaman yang digunakan untuk isolasi DNA adalah daun yang berumur 3 MST (Minggu Setelah Tanam). Bahan yang digunakan dalam percobaan molekuler adalah ethanol, isopropanol, fenol, chloroform, ethidium bromide, CTAB, PCR kit MyTaq™ HS Red Mix (Meridian Science, Bioline), primer BB3RF, BB3RR, MP1, MP2 dan RM21044, loading dye (Thermo-Scientific), aquades, TE buffer, dan mili-Q.

Tabel 1. Daftar primer yang digunakan dan gen yang terkait

No	Marka	Gen Terkait	Sekuens Primer	PCR Product Size	Referensi
1	BB3RF BB3RR	<i>Xa3</i>	F-CCACAATGCCATGTCAGGTGGCATCCCTGC R-AGGTGTTGGAGGATTGGCAT	255	Hur <i>et al.</i> 2013
2	MP1 MP2	<i>Xa4</i>	F-ATCGATCGATCTTCACGAGG R-TGCTATAAAAGGCATTTCGGG	150	Arif <i>et al.</i> 2008
3	RM21044	<i>xa8</i>	F-GCAACTCGACGGAAGGCATCG R-GAGGGCTCAAGACGAACTCATCACG	258	Vikal 2014

Metode Penelitian

Isolasi DNA dilakukan dengan metode CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) (Dellaporta *et al.* 1983). Pengujian kuantitas dan kualitas DNA hasil isolasi dilakukan dengan mesin Spectrophotometer (Rayleigh UV-9200). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA (Sambrook & Russel 1989). *Polymerase Chain Reaction* (PCR) digunakan untuk amplifikasi segmen DNA yang letaknya berada diantara dua daerah urutan DNA yang telah diketahui. Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan mesin PCR Thermocycler (Eppendorf). Setiap primer memiliki temperatur, waktu, dan siklus yang berbeda.

Teknik elektroforesis dengan gel agarosa dilakukan untuk menganalisis hasil PCR. Hasil PCR divisualisasi dengan menggunakan gel agarosa 2% untuk marka BB3RF & BB3RR serta marka MP1 & MP2, sedangkan untuk marka RM21044 akan divisualisasi dengan gel agarose 2.5%. Gel agarosa dibuat dengan mencampur bubuk agarosa dengan larutan TBE 0,5x. Campuran bubuk agarosa dan larutan TBE 0,5x kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*, ditambahkan juga GelRed™ lalu dipanaskan hingga larutan berwarna bening. Larutan gel dituangkan ke dalam cetakan yang sudah disiapkan. Sisir (*comb*) akan diangkat setelah gel mengeras. Gel yang sudah mengeras diletakkan kedalam tangki elektroforesis dan direndam dengan menggunakan larutan TBE 0.5x. Hasil isolasi DNA sebanyak 3 µl dicampurkan dengan *loading dye* sebanyak 1 µl. Proses pencampuran dilakukan di atas parafilm dan dilakukan dengan cara *pipetting*. Masing-masing campuran dimasukkan ke dalam sumur pada gel. Elektroforesis dilakukan dengan menggunakan tegangan listrik sebesar 70 volt selama 60 menit.

Analisis Data

Analisis data yaitu dengan pengamatan pola pita DNA hasil visualisasi. Pengamatan pada kegiatan marka molekuler yang dilakukan meliputi pembacaan pita DNA hasil visualisasi. Pengamatan

dilakukan dengan melihat pola pita DNA yang terbentuk dan menggunakan aplikasi *Genetools* sehingga diduga berapa ukuran (dalam pasang basa) alil yang berhasil diperoleh.

Tabel 2. Pengaturan program PCR dalam amplifikasi DNA

No	Primer	Langkah-langkah	Suhu (°C)	Waktu (Menit)	Siklus	Referensi
	BB3-RF BB3-RR	Pre-denaturation	95	5	1	Hur <i>et al.</i> 2013
		Denaturation	95	0.5		
		Annealing	55	0.5	40	
		Extension	72	1		
		Final Extension	72	7	1	
2	MP1 MP2	Pre-denaturation	94	5	1	Arif <i>et al.</i> 2008
		Denaturation	94	1		
		Annealing	55	1	35	
		Extension	72	2		
		Final Extension	72	10	1	
3	RM21044	Pre-denaturation	94	4	1	Vikal 2014
		Denaturation	94	1		
		Annealing	57	1	35	
		Extension	72	1		
		Final Extension	72	7	1	

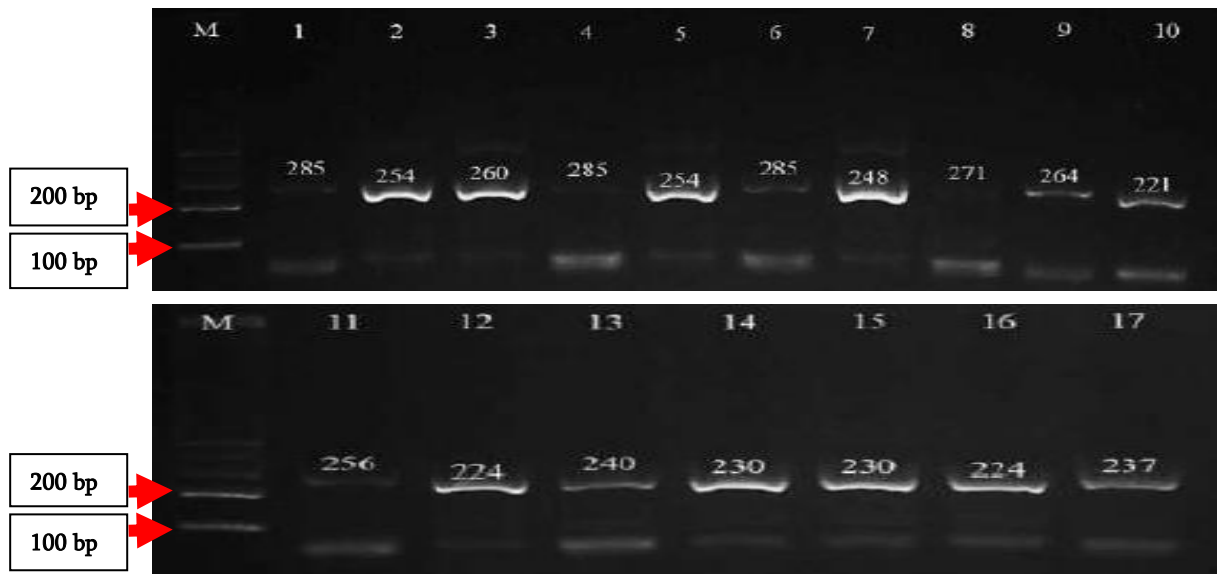
HASIL DAN PEMBAHASAN

Visualisasi Pola Pita DNA Hasil Amplifikasi

Marka BB3-RF/BB3-RR digunakan untuk mendeteksi keberadaan gen dominan *Xa3* yang berasosiasi dengan gen ketahanan terhadap penyakit hawar daun bakteri. Marka ini merupakan marka spesifik yang didesain dari fragment fungsional genotipe resisten (Hur *et al.* 2013). Marka spesifik BB3-RF/BB3-RR merupakan marka dominan yang mendeteksi amplifikasi DNA yang berukuran 255 bp (Hur *et al.* 2013). Genotipe yang memiliki fragmen DNA 255 bp menunjukkan bahwa genotipe memiliki gen dominan *Xa3* yang resisten terhadap penyakit hawar daun bakteri.

Hasil analisis gel elektroforesis yang diperoleh pada penelitian ini genotipe uji #SP101-3-1-5-8; #SP101-3-1-19-26; #SP101-3-1-38-4; #SP87-1-1-7-7; #PP48-5-1; dan #PP48-5-24 menunjukkan hasil amplifikasi DNA yang diperoleh terlihat dengan jelas. Sedangkan pada genotipe uji #SP101-3-1-5-2G1, #SP101-3-1-19-27G4, #SP101-3-1-38-25G6, dan #SP87-1-1-7-10G8 pola pita DNA hasil amplifikasi terlihat kurang jelas. Pola pita DNA hasil amplifikasi pada varietas cek menunjukkan pola pita yang jelas untuk semua varietas pembandingan, hanya saja pada varietas Sintanur hasil yang diperoleh tampak tipis dan pewarnaan DNA kurang kuat (Gambar 1). Hasil elektroforesis kemudian dianalisis dengan menggunakan software *Genetools*, sehingga diketahui ukuran alil yang diperoleh. Ukuran alil yang diperoleh berkisar antara 221 bp hingga 285 bp.

Marka BB3RF/BB3RR merupakan marka yang terkait dengan sifat ketahanan penyakit hawar daun bakteri, marka ini bersifat dominan yang artinya hanya akan menghasilkan satu alel. Hasil penelitian Hur *et al.* (2013) telah berhasil mengidentifikasi keberadaan gen dominan *Xa3* dengan menggunakan marka BB3RF dan BB3RR, gen dominan *Xa4* terletak di kromosom 11, berhasil diidentifikasi pada padi kultivar TKM6, IR20, IR22, dan IR72. Gen ini diketahui memiliki ketahanan terhadap bakteri *Xoo* ras Filipina patotipe 1. Marka BB3RF dan BB3RR secara spesifik mengamplifikasi fragmen yang terkait sifat tahan pada genotipe yang diuji dan pada genotipe yang rentan tidak akan terjadi amplifikasi. Akan tetapi pada penelitian ini, beberapa genotipe terjadi amplifikasi meskipun hanya sedikit. Hal itu diperkirakan karena berbagai faktor, diantaranya adalah kualitas dan kuantitas DNA yang digunakan, proses annealing yang belum optimum, enzim Taq polymerase yang kurang optimum dan kemungkinan faktor-faktor lainnya.

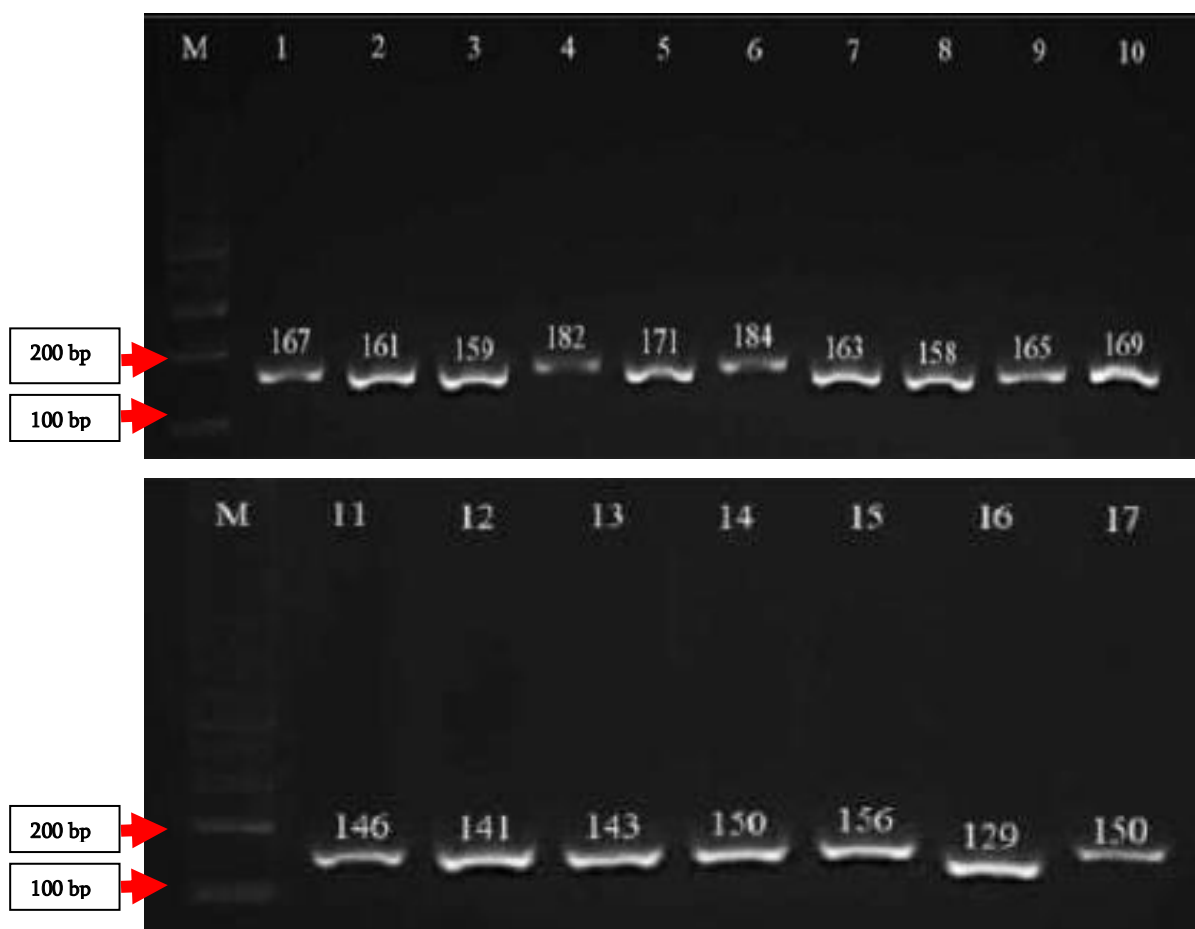


Gambar 1. Visualisasi pola pita DNA hasil amplifikasi marka BB3RF dan BB3RR pada gel agarose 2%. Keterangan: (M) Ladder; (1) SP101-3-1-5-2; (2) SP101-3-1-5-8; (3) SP101-3-1-19-26; (4) SP101-3-1-19-27; (5) SP101-3-1-38-4; (6) SP101-3-1-38-25; (7) SP87-1-1-7-7; (8) SP87-1-1-7-10; (9) PP48-5-1; (10) PP48-5-24; (11) Sintanur; (12) Pandanwangi; (13) PTB33; (14) Ciherang; (15) Inpari 32; (16) IRBB7; (17) TN1. Angka yang tercantum di atas pita DNA merupakan ukuran pita DNA dalam pasang basa (bp) dengan bantuan *Genetools*.

Visualisasi pola pita DNA hasil amplifikasi marka MP1 dan MP2 yang terkait dengan keberadaan gen dominan *Xa4* menunjukkan semua genotipe yang diujikan berhasil teramplifikasi dan memiliki ukuran alil yang polimorfis (Gambar 2). Ukuran alil yang diperoleh memiliki ukuran antara 129 bp hingga 184 bp. Penelitian yang dilakukan oleh Arif *et al.* (2008), menunjukkan bahwa genotipe yang diuji dengan menggunakan marka MP1 dan MP2 terkait dengan keberadaan gen dominan *Xa4* akan menghasilkan alil dengan ukuran 150 bp untuk sifat resisten sedangkan genotipe yang memiliki sifat rentan akan menghasilkan alil dengan ukuran 120 bp. Hasil visualisasi yang dihasilkan menunjukkan bahwa genotipe SP101-3-1-19-27, SP101-3-1-38-4, SP101-3-1-38-25, varietas Sintanur, Pandanwangi, PTB33, Ciherang, Inpari 32, dan TN1 diperoleh alil yang terkait gen dominan *Xa4*.

Ukuran alil dari varietas cek yang diperoleh berkisar antara 129 – 150 bp. Sedangkan genotipe uji memiliki ukuran alil dengan ukuran 158 - 183 bp. Perbedaan rentang ukuran alil ini diperkirakan karena adanya kesalahan pada proses visualisasi dengan menggunakan agarose. Proses elektroforesis marka MP1 dan MP2 terhadap semua genotipe dilakukan secara bersamaan. Perbedaan ini dapat dikarenakan agarose maupun alat elektroforesis yang dilakukan mengalami permasalahan sehingga hasil elektroforesis tidaklah konsisten. Asumsi ini diambil karena pada visualisasi yang dilakukan pada marka BB3RF, BB3RR dan marka MP1, MP2 ukuran alil pada genotipe uji selalu lebih besar dibandingkan dengan genotipe tetua.

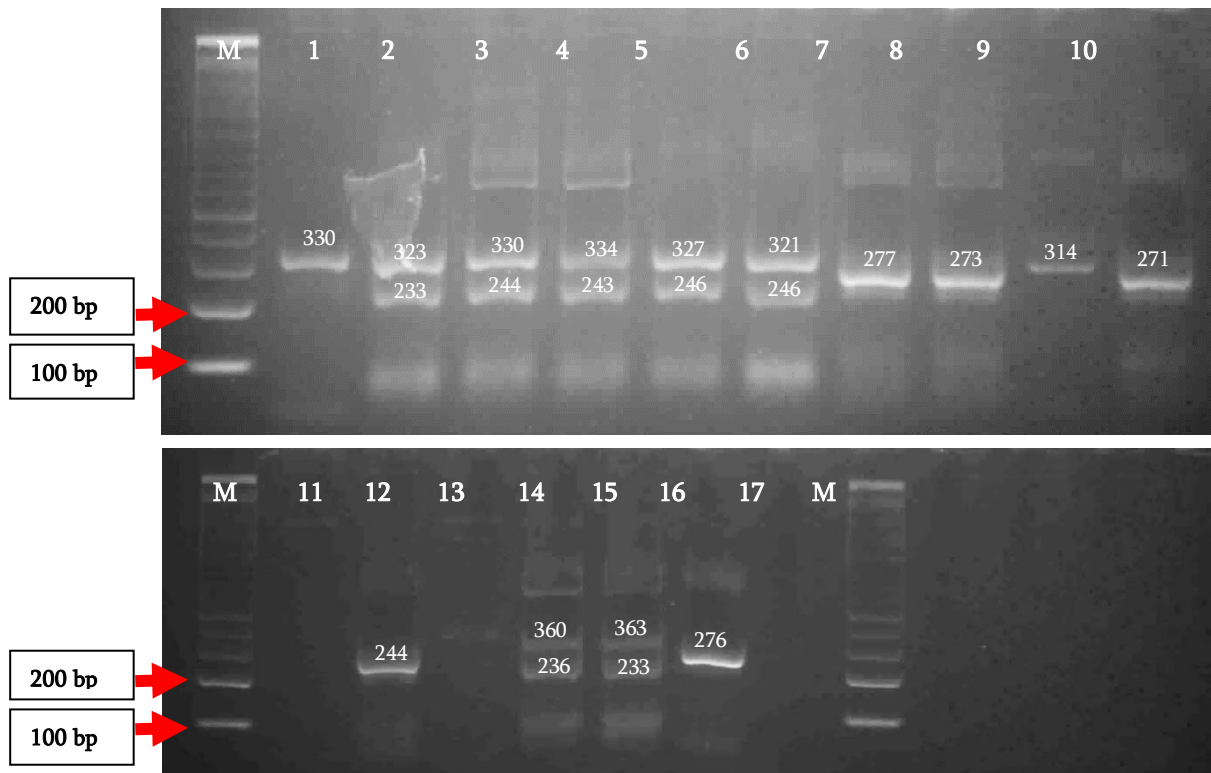
Hasil amplifikasi marka RM21044 yang terkait dengan keberadaan gen resesif *xa8* menunjukkan bahwa marka tersebut bersifat polimorfis, diperoleh tiga alil dengan ukuran 330 bp, 270 bp, dan 240 bp (Gambar 3). Penelitian oleh (Vikal *et al.* 2014) menunjukkan hasil amplifikasi marka RM21044 seharusnya hanya menghasilkan 2 alil. Sedangkan pada penelitian ini diperoleh alil ketiga dengan ukuran 270 bp. Pada penelitian ini genotipe uji yang memiliki gen resesif *xa8* akan memiliki alil dengan ukuran 240 bp, dan genotipe yang tidak memiliki gen resesif *xa8* memiliki ukuran alil sebesar 330 bp.



Gambar 2. Visualisasi pola pita DNA hasil amplifikasi marka MP1 dan MP2 pada gel agarose 2%. Keterangan: (M) Ladder; (1) SP101-3-1-5-2; (2) SP101-3-1-5-8; (3) SP101-3-1-19-26; (4) SP101-3-1-19-27; (5) SP101-3-1-38-4; (6) SP101-3-1-38-25; (7) SP87-1-1-7-7; (8) SP87-1-1-7-10; (9) PP48-5-1; (10) PP48-5-24; (11) Sintanur; (12) Pandanwangi; (13) PTB33; (14) Ciherang; (15) Inpari 32; (16) IRBB7; (17) TN1. Angka yang tercantum di atas pita DNA merupakan ukuran pita DNA dalam pasang basa (bp) dengan bantuan *Genetools*.

Hasil dari amplifikasi marka RM21044 yang terkait dengan keberadaan gen resesif *xa8*, hanya varietas Pandanwangi yang memiliki ukuran alil 240 bp. Genotipe SP101-3-1-5-2, dan PP48-5-1 memiliki ukuran alil 330 bp. Genotipe SP87-1-1-7-7, SP87-1-1-7-10, PP48-5-24, dan varietas IRBB7 memiliki ukuran alel 270 bp. Sedangkan pada varietas Sintanur dan PTB33 tidak diperoleh hasil amplifikasi, meskipun telah dilakukan amplifikasi ulang beberapa kali.

Ketahanan tanaman secara genetika bergantung pada gen tahan (gen R) yang berinteraksi dengan patogen, memicu mekanisme ketahanan (Vikal & Bhatia 2017). Pada tanaman padi, sekitar 42 gen dominan *Xa* telah diidentifikasi dan dipelajari (Webb *et al.* 2010). Secara teoritis, setiap gen dominan *Xa* memiliki fungsi dan peran spesifik dalam mekanisme pertahanan terhadap patogen BLB. Gen resistensi berperan penting dalam menghambat perkembangan penyakit padi dan resistensi terhadap dikaitkan dengan lebih dari 44 gen *X. oryzae* pv. *Oryzae* (Neelam 2020). Kehadiran gen ini menjadi sumber informasi genetika penting dalam merakit varietas padi baru, melalui rekayasa genetika molekuler (Das *et al.* 2017). Namun, keberadaan dan ekspresi gen ketahanan ini sangat bergantung pada varietas padi (Fatimah *et al.* 2014).



Gambar 3. Visualisasi pola pita DNA hasil amplifikasi marka RM21044 pada gel agarose 2,5%. Keterangan: (M) Ladder; (1) SP101-3-1-5-2; (2) SP101-3-1-5-8; (3) SP101-3-1-19-26; (4) SP101-3-1-19-27; (5) SP101-3-1-38-4; (6) SP101-3-1-38-25; (7) SP87-1-1-7-7; (8) SP87-1-1-7-10; (9) PP48-5-1; (10) PP48-5-24; (11) Sintanur; (12) Pandanwangi; (13) PTB33; (14) Ciherang; (15) Inpari 32; (16) IRBB7; (17) TN1. Angka yang tercantum di atas pita DNA merupakan ukuran pita DNA dalam pasang basa (bp) dengan bantuan *Genetools*.

Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa genotipe SP101-3-1-5-8, SP101-3-1-19-26, SP101-3-1-38-4, SP87-1-1-7-7, PP48-5-1, dan PP48-5-24 memiliki gen dominan *Xa3*. Genotipe yang memiliki gen dominan *Xa4* yaitu SP101-3-1-19-27, SP101-3-1-38-4, SP101-3-1-38-25. Sedangkan yang memiliki gen resesif *xa8* hanya varietas Pandanwangi. Genotipe SP101-3-1-38-4 memiliki gen dominan *Xa4* dan *Xa3*. Penelitian yang dilakukan oleh Carsono *et al.* (2021) tentang pengujian *bio-assay* penyakit hawar daun bakteri pada genotipe-genotipe yang diujikan menunjukkan genotipe dan tetua yang diuji menunjukkan skor 5 (rentan) pada patotipe III dan skor 6-7 (sangat rentan) pada patotipe IV dan VIII, meskipun pada penelitian ini diperoleh genotipe yang memiliki gen dominan *Xa3* dan *Xa4*.

Menurut Xiang *et al.* (2006) menunjukkan gen dominan *Xa3* dari varietas Wase Aaikoku 3, adalah gen yang sama dengan *Xa26*. OsSERK2 dan OsTPI1.1 berinteraksi dengan gen dominan *Xa3/Xa26* dan terlibat dalam resistensi (Liu *et al.* 2018). OsTPI1.1 yang mengkode triosephosphate isomerase (TPI) kemudian mengkatalis dihidroksiaseton fosfat menjadi gliseraldehid-3-fosfat. Pengurangan ekspresi OsTPI1.1 menyebabkan resistensi yang dipengaruhi oleh gen dominan *Xa3/Xa26*. OsTPI1.1 berperan dalam respon pertahanan melalui triosephosphate isomerase (TPI) yang secara signifikan dengan cara mengikat gen dominan *Xa3/Xa26* (Liu *et al.* 2018).

Gen dominan *Xa4* merupakan gen untuk mengendalikan infeksi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) melalui penguatan dinding sel. Akumulasi dua phytoalexin, sakuranetin dan momilactone A, yang cenderung meningkat dapat menekan *Xoo* pada tanaman. Selain itu resistensi terhadap *Xoo*, gen dominan *Xa4* meningkatkan kekuatan mekanik dari batang, mengurangi tinggi tanaman dan ketahanan terhadap kerebahan (Hu *et al.* 2017). Berbagai sifat agronomi yang menguntungkan terkait dengan gen dominan *Xa4*, dapat menjelaskan mengapa gen tersebut banyak digunakan dalam program pemuliaan tanaman padi

Tabel 3. Hasil amplifikasi beberapa marka terkait ketahanan hawar daun bakteri

No	Genotipe	Marka		
		Xa3	Xa4	xa8
1	SP101-3-1-5-2	-	-	-
2	SP101-3-1-5-8	+	-	-
3	SP101-3-1-19-26	+	-	-
4	SP101-3-1-19-27	-	+	-
5	SP101-3-1-38-4	+	+	-
6	SP101-3-1-38-25	-	+	-
7	SP87-1-1-7-7	+	-	-
8	SP87-1-1-7-10	-	-	-
9	PP48-5-1	+	-	-
10	PP48-5-24	+	-	-
11	Sintanur	-	+	-
12	Pandanwangi	-	-	+
13	PTB33	+	+	-
14	Ciherang	+	+	-
15	Inpari-32	+	+	-
16	IRRB-7	+	-	-
17	TN-1	+	+	-

Keterangan: (+) memiliki gen yang dimaksud; (-) tidak memiliki gen dimaksud

Penyakit *Bacterial Leaf Blight (BLB)* yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, bergantung pada interaksi antara tiga komponen segitiga penyakit (patogen, inang, dan kondisi lingkungan), terutama ketika interaksi tersebut mendorong perkembangan patogen atau penyakit (Agrios 2005). Hasil penelitian Rasmiyana *et al.* (2019) menunjukkan bahwa tahap pertumbuhan padi secara signifikan memengaruhi tingkat keparahan, tetapi tidak memengaruhi kejadian BLB. Akan tetapi, suhu memiliki pengaruh kuat terhadap kejadian penyakit BLB. Faktor yang mempengaruhi perkembangan BLB adalah perbedaan jenis patogen (patotipe), dengan kemampuan patogenik atau virulensi yang berbeda terhadap tanaman inang. Menariknya, strain *Xanthomonas oryzae* dikelompokkan menjadi 12 patotipe berdasarkan virulensi terhadap varietas padi yang berbeda, dan tersebar luas di Jawa dan juga ditemukan di daerah dataran rendah (Suryadi *et al.* 2016).

Menurut Nur *et al.* (2021) menunjukkan bahwa kepemilikan dan ekspresi gen dominan Xa memainkan peran penting dalam ketahanan terhadap padi. Hal ini menunjukkan bahwa gen ketahanan tidak menjamin ketahanan varietas padi terhadap Xoo. Khususnya, beberapa gen dominan Xa, terutama gen resesif, dapat memicu kerentanan padi terhadap Xoo. Oleh karena itu, pemilihan sumber gen dan jenis gen dominan Xa yang tepat sangat penting untuk menghasilkan varietas padi baru yang tahan terhadap Xoo.

KESIMPULAN

Diperoleh beberapa genotipe yang memiliki gen dominan Xa3 yaitu genotipe SP101-3-1-5-8, SP101-3-1-19-26, SP101-3-1-38-4, SP87-1-1-7-7, PP48-5-1, dan PP48-5-24. Genotipe yang memiliki gen dominan Xa4 adalah genotipe SP101-3-1-19-27, SP101-3-1-38-4, SP101-3-1-38-25. Hanya varietas Pandanwangi yang memiliki gen resesif xa8. Tidak ditemukan genotipe yang memiliki tiga gen tahan. Terdapat genotipe yang memiliki gen dominan Xa3 dan Xa4 yaitu SP101-3-1-38-4.

DAFTAR PUSTAKA

- Acquaah, G 2012, *Principles of Plant Genetics and Breeding* 2th ed. John Wiley & Sons, Ltd.
- Afifah, Z, N Carsono, S Sari, & Anas 2020, 'Uji Daya Hasil dan Seleksi Famili Padi Generasi F4 dan F6 Hasil Persilangan Sintanur x PTB 33 dan Pandanwangi x PTB 33 di Jatinangor', *AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian*, vol. 4, no.1, pp. 28–34.
- Akhtar MA, Rafi A, & Hameed A 2008, 'Comparison of methods of inoculation of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice cultivars', *Pakistan Journal Bot.*, vol. 40, no. 5, pp. 2171–2175.
- Agrios, G 2005. *Plant Pathology*, 5th Edition, Elsevier Academic Press, Massachusetts.
- Andi, K, Erwin, N, Teguh, W & Syair 2016, 'Ketahanan Berbagai Kultivar Padi Lokal terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri', *Fitopatologi*, vol. 12, no.3, pp. 89–95.
- Arif, M, M Jaffar, M Babar, MA Sheikh, S Kousar, A Arif, & Y Zafar 2008, 'Identification of bacterial blight resistance genes Xa4 in Pakistani rice germplasm using PCR', *African Journal of Biotechnology*, vol. 7, pp. 541–545.

- Balitbangtan 2015, *Deskripsi Padi Varietas Sintanur*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- BPS 2023, *Jumlah Penduduk Pertengahan Tahun 2022-2023 di Indonesia*, diunduh Februari 2024
<https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/MTk3NSMy/jumlah-penduduk-pertengahan-tahun--ribu-jiwa-.html>
- BPS 2023, *Luas Panen dan Produksi Padi di Indonesia 2023*, diunduh Februari 2024
<https://www.bps.go.id/id/pressrelease/2023/10/16/2037/luas-panen-dan-produksi-padi-di-indonesia-2023--angka-sementara-.html>
- Carsono, N, A Dewi, N, Wicaksana & S Sari 2021, 'Ketahanan Beberapa Genotipe Padi Harapan Terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) Strain III, IV dan VIII', *Kultivasi*, vol. 20, no.3, pp. 175-182.
- Carsono, N, G Ibnu Prayoga, N Rostini & Danar, D 2016, 'Seleksi Berbasis Marka Molekuler pada Padi Generasi F 2 Guna Merakit Galur Padi Harapan Tahan Wereng Coklat', *Jurnal Agrikultura*, vol. 27, no.1, pp. 9–15.
- Das G, Patra JK & Baek, KH 2017, 'Insight into MAS: A molecular tool for development of stress resistant and quality of rice through gene stacking', *Front. Plant Sci*, vol. 8, pp. 1–9.
- Dellaporta, SJW & JB, Hicks 1983, *A plant DNA minipreparation*, Pages 19–21 Plant Molecular Biology version II.
- Fatimah, Priyatno T, Fadlillah S, Hermanto, Baroya M, Mahrup, Wawan, Sasongko D, Suryadi Y & Kadir, T 2014, 'Isolation and disease assessment of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* from Java Island and pathogenic assay on near isogenic lines with different resistant genes', *J. Biologi Indonesia*, vol. 10, no. 2, pp. 237– 245.
- Hermanto 2014, 'Deteksi gen ketahanan penyakit hawar daun bakteri pada populasi silang ganda F1 (DCF1) padi Ciherang', Skripsi, Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hu, K, J Cao, J Zhang, F Xia, Y Ke, H Zhang, W Xie, H Liu, Y Cui, Y Cao, X Sun, J Xiao, X Li, Q Zhang & Wang, S 2017, 'Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement', *Nature Plants*, vol. 17, no. 3.
- Khaeruni, A, Taufik, M, Wijayanto, T & Johan, EA 2014, 'Perkembangan penyakit hawar daun bakteri pada tiga varietas padi sawah yang diinokulasi pada beberapa fase pertumbuhan', *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, vol. 10, no. 4, pp. 119-125
- Liu, Y, Y Cao, Q Zhang, X Li & S, Wang 2018, 'A cytosolic triosephosphate isomerase is a key component in Xa3/XA26-mediated resistance', *Plant Physiology*, vol. 178, pp. 923–935.
- Mew TW, Alvarez, AM, Leach, JE & Swings, J 1993, 'Focus on bacterial blight of rice', *Plant Disease*, vol. 77, pp. 5–12.
- Nasihin, SR, WH, Rizky & Carsono, N 2015, 'Penguji-an Kemurnian Genetik Benih Padi Galur F3 (Pandanwangi x PTB33) Terseleksi Menggunakan Marka Molekuler Simple Sequence Repeats (SSR)', *Jurnal Agrikultura*, vol. 26, no2, pp. 61–67.
- Neelam K, Mahajan R, Gupta V, Bhatia D, Gill BK, Komal R, Lore JS, Mangat GS & Singh, K 2020, 'High-resolution genetic mapping of a novel bacterial blight resistance gene xa45(t) identified from *Oryza glaberrima* and transferred to *Oryza sativa*', *Theor. Appl. Genet*, vol. 133, no. 3, pp. 689–705.
- Nadhira, NE, Wafa, A, Fanata, WID & Addy, HS 2021, 'Resistance gene expression in selected Indonesian pigmented rice varieties against infection by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*', *Indonesia J Biotechnol.*, vol. 27, no. 2, pp. 51-57.
- Rasmiyana, Addy HS & Narulita, E 2019, 'Detection of genes resistant to bacterial leaf blight in rice cultivars from Situbondo and Jember, Indonesia', *J. Hama dan Penyakit Tumbuh. Trop.*, vol. 19, no.2, pp.127–134.
- Sambrook, J & DW, Russel 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Edisi ke-3. Cold-Spring Harbor Laboratory Pr., New York.
- Suryadi Y, Samudra IM, Priyatno TP, Susilowati DN, Lestari P, Fatimah & Kadir, TS 2016, 'Determination of pathotypes from Indonesian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* population causing bacterial leaf blight and their reactions on differential rice', *Makara J. Sci.*, vol. 20, no. 3, pp. 109– 118.
- Triny SK, Suryadi Y, Sudir & Machmud, M 2011, 'Penyakit Bakteri Padi dan Cara Pengendaliannya', Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Bogor.
- Vikal & Bhatia 2017, 'Genetics and Genomics of Bacterial Blight Resistance in Rice', Page in Jinquan Li (ed.) *Advances In International Rice Research*. Intech Open.

- Vikal, Y, H Chawla, R Sharma, JS Lore & K Singh 2014, 'Mapping of bacterial blight resistance gene *xa8* in rice (*Oryza sativa* L.)', *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, vol. 74, pp. 589–595.
- Webb KM, Garcia E, Cruz CMV & Leach JE 2010, 'Influence of rice development on the function of bacterial blight resistance genes', *Eur. J. Plant Pathol.* 128(3): 399–407.
- Yi Xiang, Yinglong Cao, Caiguo Xu, Xianghua Li & Shiping Wang 2006, 'Xa3 conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26', *Theor Appl Genet*, vol. 113, pp. 1347–1355.
- YJ Hur, JU Jeung, SY Kim, HS Park, JH Cho & JY Lee 2013, 'Functional markers for bacterial blight resistance gene Xa3 in rice', *Molecular Breeding*, vol. 31, no. 4, pp. 981-985.
DOI: [10.1007/s11032-012-9831-7](https://doi.org/10.1007/s11032-012-9831-7).