

Evaluasi dan Identifikasi Marka Penanda Gen Ketahanan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Padi Lokal Sulawesi Selatan

(Evaluation and Identification of Bacterial Leaf Blight Disease Resistance Gene Marker on South Sulawesi Local Rice)

Siti Yuriyah^{1*}, Siti Nurani², Dwinita W. Utami¹, dan Tiur S. Silitonga¹

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: sityur@yahoo.co.id

²Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Jalan Raya Jakarta Km. 4, Pakupatan, Serang 42118 Indonesia

Diajukan: 8 Desember 2015; Direvisi: 22 Februari 2016; Diterima: 29 April 2016

ABSTRACT

One of the limiting factors on rice production, especially in South Sulawesi, is the bacterial leaf blight (BLB) disease infection caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*). The use of resistant variety is considered as the most effective method to control *Xoo*. Local cultivar could serve as resistance source for *Xoo* resistance. The objectives of this research were to evaluate and identify markers for *Xoo* resistance in rice local cultivars from South Sulawesi based on comparison with the resistance response of the differential varieties and association analysis between resistance phenotype and genotype of molecular markers. Three *Xoo* races (race III, IV, and VIII) were tested on IRBB differential lines and local cultivars. The genotype analysis was done by using the molecular marker linked to *Xoo* resistance. Meanwhile, the association analysis was done by combination analysis (U-joint) using generalized linear model (GLM). The resistance test result showed that single gene isogenic lines (IRBB 5, IRBB 7, and IRBB 21), multiple genes isogenic lines (IRBB 50, IRBB 52, IRBB 53, IRBB 54, IRBB 56, IRBB 58, IRBB 64, and IRBB 66), and Ase Andele accession were resistant to the three *Xoo* races. Association test obtained one significant marker that associated with the resistance to race III (marker Xa26-STS2), four markers significantly associated with the resistance to race IV (Xa1-STS15, Xa4-STS44, xa13-STS51, and Xa21-STS6), and two markers significantly associated with the resistance to race VIII (Xa7-STS57 and RM 20589).

Keywords: Resistance gene, bacterial leaf blight, germplasm.

ABSTRAK

Salah satu faktor pembatas produksi padi, di Sulawesi Selatan khususnya, adalah serangan penyakit hawar daun bakteri (HDB) yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*). Upaya yang dipandang efektif untuk mengendalikan penyakit HDB adalah penanaman varietas tahan. Perakitan varietas padi dengan menggunakan gen-gen tahan dari berbagai kultivar berpeluang menghasilkan varietas tahan HDB. Kultivar lokal berperan sebagai salah satu sumber keragaman genetik untuk beberapa sifat ketahanan penyakit. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi dan mengidentifikasi marka penanda gen ketahanan penyakit hawar daun bakteri pada padi lokal Sulawesi Selatan berdasarkan sistem standar diferensial dan analisis molekuler. Analisis uji ketahanan fenotipe dilakukan menggunakan tiga ras HDB (ras III, IV, dan VIII) dan galur diferensial (galur IRBB). Analisis genotipe dilakukan menggunakan marka molekuler terkait ketahanan terhadap HDB yang ditampilkan sebagai dendrogram keragaman. Analisis asosiasi dilakukan dengan analisis gabungan (*U-joint*) menggunakan *generalized linear model* (GLM). Hasil pengujian ketahanan menunjukkan galur isogenik dengan gen tunggal (IRBB 5, IRBB 7, dan IRBB 21), galur isogenik dengan multipel gen (IRBB 50, IRBB 52, IRBB 53, IRBB 54, IRBB 56, IRBB 58, IRBB 64, dan IRBB 66), dan aksesori Ase Andele bersifat tahan terhadap ketiga ras uji. Dari uji asosiasi, diperoleh satu marka signifikan yang berasosiasi dengan ketahanan terhadap ras III (Xa26-STS2), empat marka signifikan berasosiasi dengan ketahanan terhadap ras IV (Xa1-STS15, Xa4-STS44, xa13-STS51, dan Xa21-STS6), dan dua marka signifikan berasosiasi dengan ketahanan terhadap ras VIII (Xa7-STS57 dan RM 20589).

Kata kunci: Gen ketahanan, hawar daun bakteri, plasma nutfah.

PENDAHULUAN

Provinsi Sulawesi Selatan dikenal memiliki keragaman kultivar padi lokal yang tinggi yang hingga saat ini masih dibudidayakan oleh petani di beberapa lokasi (Zulkifli *et al.*, 2014). Kultivar lokal merupakan hasil pertanian tradisional yang beradaptasi dan berkembang sesuai dengan praktek pertanian setempat (Hawkes *et al.*, 2000). Kultivar lokal berperan sebagai salah satu sumber keragaman genetik untuk beberapa sifat penting, di antaranya ketahanan terhadap penyakit (Nafisah *et al.*, 2006).

Tingkat produktivitas padi dan luas panen di Sulawesi Selatan dikategorikan masih lebih rendah dibanding dengan sentra padi di Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur (BPS, 2014). Salah satu kendala utamanya adalah penyakit hawar daun bakteri (HDB) yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*). *Xoo* dikenal mudah membentuk ras baru di lapang sejalan dengan perkembangan penanaman varietas padi. Luas serangan ras-ras *Xoo* bervariasi di Sulawesi Selatan. Di Kabupaten Bone, Soppeng, Wajo, Sidrap, Barru, dan Pangkep, ras III mendominasi dengan luas serangan mencapai 58%, sedangkan ras IV dan VIII mendominasi areal pertanaman padi di Kabupaten Maros, dengan luas serangan berturut-turut mencapai 23% dan 19% (Yuliani *et al.*, 2012). Terdeteksinya keragaman ras *Xoo* yang menyerang di beberapa lokasi di Sulawesi Selatan ini menunjukkan adanya variasi respons ketahanan padi yang ditanam di lokasi tersebut. Beberapa kultivar lokal terdeteksi tahan penyakit HDB sehingga dapat menghambat serangan ras *Xoo* yang berkembang di lokasi tertentu (Abdullah *et al.*, 2004; Nafisah *et al.*, 2007; Silitonga, 2004; Suardi dan Silitonga, 1999; Sudir dan Sutaryo, 2011). Kultivar lokal tahan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai sumber gen ketahanan terhadap HDB.

Gejala serangan *Xoo* pada tanaman padi diawali dengan terbentuknya garis basah pada helaian daun yang kemudian berubah menjadi kuning keputihan pada saat tanaman memasuki stadium anakan, berbunga, dan pemasakan. Pada serangan lanjut, daun berubah menjadi kuning pucat, layu, kemudian mati (Wahyudi *et al.*, 2011). Pada galur yang peka, 3 hari setelah inokulasi (hsi) ujung daun layu diiringi dengan terbentuknya bercak kelabu pada tepi daun, kemudian daun mengerut dan menggulung ke arah dalam. Pada 7 hsi, mulai timbul gejala hawar berwarna putih kering pada ujung daun menuju titik tumbuh dan pada 14–59 hsi seluruh bagian daun berwarna putih kecokelatan hingga daun menjadi cokelat kering (Yuriyah *et al.*, 2013).

Hingga saat ini, dua puluh gen ketahanan terhadap HDB telah teridentifikasi. Empat belas gen di-

ketahui bersifat dominan (*Xa1*, *Xa2*, *Xa3*, *Xa4*, *Xa7*, *Xa10*, *Xa11*, *Xa12*, *Xa14*, *Xa16*, *Xa17*, *Xa18*, *Xa21*, dan *Xa22*) dan enam gen bersifat resesif (*Xa5*, *Xa8*, *Xa13*, *Xa15*, *Xa19*, dan *Xa20*) (Khush dan Kinoshita, 1991; Kinoshita, 1995; Lin *et al.*, 1996). Gen-gen tersebut telah dimanfaatkan dalam perakitan galur isogenik (*isogenic lines*) oleh IRRI dan saat ini terdapat 27 galur isogenik yang memiliki gen tunggal (*single gene*) ataupun merupakan hasil *pyramiding* antar gen-gen *Xa* (*multiple genes*).

Tingkat keparahan serangan *Xoo* dipengaruhi oleh genotipe tanaman inang, virulensi ras *Xoo*, dan kondisi lingkungan. Galur isogenik bermanfaat dalam monitoring keparahan serangan dan distribusi ras *Xoo* (Ogawa *et al.*, 1988). Di samping itu, galur-galur isogenik juga dapat digunakan sebagai standar diferensial untuk mengetahui perbedaan respons patogenisitas atau virulensi suatu ras (Hayashi dan Fukuta, 2007; Khoshkdaman *et al.*, 2012; Loan *et al.*, 2006; Noh *et al.*, 2016; Tsunematsu *et al.*, 2000) dan untuk evaluasi ketahanan galur hasil persilangan (silang balik) dalam rangka perakitan varietas tahan HDB (Webb *et al.*, 2010).

Beberapa marka molekuler, seperti *simple sequence repeat* (SSR) dan *sequence tag sites* (STS), diketahui berkorelasi dengan gen ketahanan terhadap HDB (Chen *et al.*, 2008). Marka-marka ini dapat dimanfaatkan sebagai alat bantu untuk identifikasi gen ketahanan pada suatu varietas. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi dan mengidentifikasi marka penanda gen ketahanan penyakit hawar daun bakteri pada padi lokal Sulawesi Selatan berdasarkan sistem standar diferensial dan analisis molekuler.

BAHAN DAN METODE

Materi Genetik

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah 48 aksesori padi lokal asal Sulawesi Selatan koleksi Bank Gen BB Biogen, 22 galur isogenik introduksi dari IRRI sebagai standar diferensial, dan dua varietas kontrol peka terhadap ras IV dan VIII (IR64 dan TN-1) (Tabel 1). Ras yang digunakan adalah ras III (IXO 94-013), IV (IXO 80-004), dan VIII (IXO 79-008) diketahui mempunyai sebaran yang luas dan virulensi tinggi di Indonesia (Kadir *et al.*, 2009). Ketiga ras ini merupakan koleksi BB Biogen. Untuk analisis molekuler, digunakan tiga belas marka STS terpaut gen *Xa1*, *Xa4*, *Xa7*, *Xa13*, *Xa21*, dan *Xa26*, serta tiga marka SSR terpaut gen ketahanan *Xa7* (Tabel 2). Marka STS didisain berdasarkan sekuens gen *Xa*. Marka gen ini bersifat polimorfik pada galur diferensial IRBB 7 (*Xa7*) yang digunakan sebagai kontrol tanaman tahan (Winandari *et al.*, 2014).

Tabel 1. Aksesori padi lokal asal Sulawesi Selatan yang digunakan dalam penelitian.

Aksesori	Nama aksesori	Desa	Kecamatan	Kabupaten
04344a	Kaleng Kere-a	Biang Keke	Tompo Bulu	Bantaeng
04357	Gading	Biang Keke	Tompo Bulu	Bantaeng
04359	Djembe	Biang Keke	Tompo Bulu	Bantaeng
04344b	Kaleng Kere-b	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tidak diketahui
04382	Ana Dara	Tuwung	Barru	Barru
04383	Banda Tjela	Tuwung	Barru	Barru
04384	Marake	Tuwung	Barru	Barru
04327	Tjanggoreng	Biang Keke	Tompo Bulu	Bulukumba
04328	Batas	Tanah Kongkong	Udjung Bulu	Bulukumba
04355	Ase Djambi	Tanah Kongkong	Udjung Bulu	Bulukumba
14363	Ase Bolong	Juppandang	Enrekang	Enrekang
04180	Panada	Bantabili	Tidak diketahui	Gowa
04332	Bakka Bereng-2	Tamarunang	B. Marunu	Gowa
04334	Bakka Biasa	Tamarunang	B. Marunu	Gowa
04353	Bakka Edjol	Tamarunang	B. Marunu	Gowa
20869	Pare Eja-2	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Gowa
20870	Pare Eja-3	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Gowa
20874	Ase Bukne	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Gowa
20883	Ase Pulut Jawa	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Gowa
20884	Pare Pulut Bampo	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Gowa
20885	Ase Balacung	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Gowa
20886	Pare Dangang-a	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Gowa
20887	Pare Dangang-b	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Gowa
20888	Pare Leleng	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Gowa
03516	Banda	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Marros
04386	Vandi-a	Malise	Labbakang	Pangkep
08056	Ase Lontong	Tidak diketahui	Pinrang	Pinrang
04361	Pulu Pallapa	Matjimar	Sawito	Pinrang
04365	Ase Puteh	Matjimar	Sawito	Pinrang
04368	Ase Andele	Tanete	Maritengguga	Sidrap
04372	Pulu Dennul-b	Wala	Maritengguga	Sidrap
04379	Ase Pute	Wala	Maritengguga	Sidrap
08052	Kemandi Pance	Tidak diketahui	Sidrap	Sidrap
20905	Lokal Buntu Sangala-1	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
20906	Lokal Buntu Sangala-2	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
20908	Pare Pulung Lia	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
20909	Pare Bulan	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
20910	Pare Taog	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
20911	Pare Barry-2	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
20912	Pare Ambo	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
20914	Pare Barry Rarang	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
20915	Pare Ketek (Pare Mansyair)	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
20918	Pare Bulu Lotong	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tanatoraja
10272	Pulut Bambo	Tidak diketahui	Pamma	Wajo
04331	Bakka Lompo	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Jeneponto
04335	Bakka Bungkeng	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Jeneponto
04352	Balacung	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Jeneponto
10378	Ase Pulut Jawa	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Jeneponto

Pengujian Ketahanan Galur Diferensial dan Aksesori Lokal Sulawesi Selatan

Setelah dioven selama ± 12 jam pada suhu 50°C , benih dikecambahkan di atas tisu basah di dalam cawan petri. Tujuh hari kemudian, bibit ditanam dengan jarak tanam $4\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ di dalam bak plastik berukuran lebar 31 cm , panjang 39 cm , dan tinggi $12,5\text{ cm}$, yang berisi campuran tanah lumpur dan pupuk kandang ($10 : 1$). Setiap bak ditanami 20 aksesori atau galur dalam barisan dan untuk setiap aksesori ditanam enam benih. Varietas kontrol peka (IR64 dan TN-1) juga ditanam di setiap bak. Untuk setiap aksesori atau galur terdapat tiga ulangan.

Inokulum bakteri dibiakkan pada 20 ml media agar *Wakimoto's medium* atau WF-P di dalam cawan petri selama 48 jam pada suhu $28-30^{\circ}\text{C}$. Biakan bakteri ditambah dengan akuades steril sebanyak 10 ml , diaduk menggunakan tusuk sate steril hingga homogen, dan diukur konsentrasinya menggunakan spektrofotometer, kemudian diencerkan hingga konsentrasi 10^8 CFU . Tanaman yang berumur 30 hari setelah tanam (hst) diinokulasi dengan cara digunting ujung daunnya sepanjang $0,5-1,0\text{ cm}$ menggunakan gunting steril yang telah dicelupkan ke dalam inokulum. Tanaman diinkubasi di rumah kaca dan dijaga kelembabannya dengan menyemprotkan air dari *sprinkler* mulai 1 hsi .

Tabel 2. Marka molekuler terpaut gen ketahanan terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) yang digunakan dalam penelitian.

Marka	Tipe marka	Penanda gen ketahanan	Sekuen primer F	Sekuen primer R	Ukuran ampikon (bp)
Xa1	STS5	<i>Xa1</i>	TTTCTGGCGCTTTTTCTGT	CGACCAACAGCATGTACCAC	700
Xa1	STS15	<i>Xa1</i>	CATGGAATCTTGCCCTAGA	CGCTATCGACCTGAGGAGAC	800
Xa4	STS28	<i>Xa4</i>	TTTCTTTCATGCTGGTGCTG	CAAGTCTTTTGCCGCTTTTC	900
Xa4	STS44	<i>Xa4</i>	GGGGCTCTAGGTTTTCCATC	GTAGGGAACCATGGATGTGG	700
Xa4	STS50	<i>Xa4</i>	TTCGGGTATGCCTGTTTTTC	GGCCGAATTACGTGTGAAGT	800
Xa7	STS34	<i>Xa7</i>	GTGTTTGCTACGTATGGATG	GAGTGATGGTCTTCTCTGTC	800
Xa7	STS40	<i>Xa7</i>	CTACACACGCGAGGAAGACA	ATGGCAGTAGCGTGTGAAGT	700
Xa7	STS54	<i>Xa7</i>	GCGAAGTGTTCGACCGTTAT	AGGCCTAAGAAAGCGCAAAG	700
Xa7	STS57	<i>Xa7</i>	GCCATTTTTGTGGCTTCATT	GAGAAGGGTGGTCAACGTGT	400
xa13	STS51	<i>xa13</i>	ACGTGTCCAATCAAAGCACA	GTCAAACGTTGCAAGCAAAA	700
Xa21	STS6	<i>Xa21</i>	AGCTAGCTGCTCGCAATCTC	CTAGCCTCGCCTTCTACGAC	800
Xa26	STS1	<i>Xa26</i>	TGACCTCACTGCACCTTCTGG	TGGAGAGGTTCCCTATGGTG	700
Xa26	STS2	<i>Xa26</i>	GTAAGCGTCACGGAAGAGC	TTCTTCAACGTCACAACAACATC	700
RM20589	SSR	<i>Xa7</i>	CATGTATTTGTGTGCACGTACCG	ACCTTTCTTGGCCCTTTCTTGG	250
RM20590	SSR	<i>Xa7</i>	TTCGATGAGCACCTTCTTGTCC	GCCTCGCCGATTCACTTATGC	300
RM20591	SSR	<i>Xa7</i>	TCGTCTGCGCAATATTTAGAGAG	ATCTGCATCGGAGTCAGCAACG	200

Pengamatan dilakukan pada 14 hsi dengan mengukur panjang daun ketiga dan keempat dari daun bendera dan panjang gejala serangan. Intesitas serangan (IS) dihitung menggunakan rumus $IS = PS/PD \times 100\%$, dengan PS = panjang gejala serangan dan PD = panjang daun yang diamati. Penentuan tingkat ketahanan dilakukan sesuai kriteria yang dimodifikasi dari Sistem Evaluasi Standar (SES) (IRRI, 1996), yaitu tahan (T) jika $IS \leq 40\%$ dan peka (P) jika $IS > 40\%$.

Analisis Genotipe

Sampel daun diambil dari tiap tanaman uji berumur 30 hst, sebelum diinokulasi. Prosedur isolasi DNA dilakukan menggunakan bufer ekstraksi *Cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB) dengan mengikuti metode Doyle dan Doyle (1987). Kualitas dan kuantitas DNA yang dihasilkan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) 260 nm. Kemurnian DNA ditentukan berdasarkan perbandingan absorbansi pada $\lambda 260$ dan $\lambda 280$. DNA murni jika nilai $\lambda 260/\lambda 280$ berkisar antara 1,8 dan 2,0 (Sambrook dan Russell, 2001).

Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 10 μ l yang mengandung 4 μ l DNA sampel (10 ng/ μ l), 1 μ l primer *forward* (F) dan 1 μ l *reverse* (R) (10 mM), 4 μ l *master mix* Kapa (Kapa Biosystem). DNA diamplifikasi pada mesin PCR T100™ Thermal Cycler (Bio-Rad) dengan profil PCR: denaturasi awal pada suhu 95°C selama 3 menit, diikuti dengan 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, penempelan primer pada suhu 50°C selama 1 menit, pemanjangan primer pada suhu 72°C selama 2 menit, dan diakhiri dengan pemanjangan primer terakhir pada suhu 72°C selama 5 menit (Utami *et al.*, 2009). Sebanyak 2 μ l hasil amplifikasi PCR dan 1 μ l

loading dye yang telah dicampur dengan pewarna fluoresen GelRed™ (Biotium) dimasukkan ke dalam sumur gel agarosa 2%, kemudian dielektroforesis selama ± 1 jam pada tegangan listrik 50 volt. Pita DNA divisualisasi menggunakan transiluminator UV dan diskor berdasarkan ukurannya.

Analisis Keragaman Genotipe dan Asosiasinya dengan Ketahanan

Ukuran pita DNA tiap genotipe hasil amplifikasi dengan tiap primer dibuat matriks dalam format Microsoft Excel. Analisis keragaman genotipe ditampilkan sebagai dendrogram ketahanan galur-galur uji dan aksesi lokal Sulawesi Selatan yang tahan terhadap ras III, IV, dan VIII. Asosiasi antara data fenotipe dan genotipe dianalisis gabungan (*U-joint*) menggunakan *generalized linear model* (GLM). Kedua analisis dilakukan menggunakan program Tassel 3.0 (Bradbury *et al.*, 2007). Marka dikategorikan berasosiasi dengan ketahanan jika memiliki nilai $P < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respons Ketahanan Galur Diferensial

Galur-galur diferensial menunjukkan respons ketahanan yang bervariasi terhadap ras IV dan VIII, tetapi tidak bervariasi terhadap ras III (Tabel 3). Semua galur IRBB yang digunakan, baik yang mengandung gen *Xa* tunggal atau gabungannya, bersifat tahan terhadap ras III. Sementara itu, ketahanan galur isogenik terhadap ras IV dan VIII bervariasi dengan proporsi tanaman tahan mencapai lebih dari 50%.

Galur IRBB yang bersifat tahan terhadap ketiga ras uji dengan kisaran IS 0–39% ada 12 galur, yaitu galur dengan gen ketahanan monogenik IRBB 5

(*xa5*), IRBB 7 (*Xa7*), dan IRBB 21 (*Xa21*); galur dengan gen ketahanan digenik (*digenic*) IRBB 50 (*Xa4 + xa5*), IRBB 52 (*Xa4 + Xa21*), IRBB 53 (*xa5 + xa13*), dan IRBB 54 (*xa5 + Xa21*); semua galur dengan gen ketahanan multigenik (*polygenic*) IRBB 56 (*Xa4 + xa5 + xa13*), IRBB 57 (*Xa4 + xa5 + Xa21*), IRBB 58 (*Xa4 + xa13 + Xa21*), IRBB 64 (*Xa4 + xa5 + Xa7 + Xa21*), dan IRBB 66 (*Xa4 + xa5 + Xa7 + xa13 + Xa21*). Galur IRBB yang paling tahan terhadap ketiga ras uji adalah IRBB 7 dengan IS 0–0,5%. Galur IRBB 7 dengan gen ketahanan monogenik *Xa7* masih mampu bertahan di daerah-daerah endemis HDB di

Indonesia dan bersifat tahan terhadap ras dominan Indonesia (ras III, IV, dan VIII), baik berdasarkan pengujian di rumah kaca maupun di lapang (Triny *et al.*, 2009; Vera Cruz *et al.*, 2007; Winandari *et al.*, 2014). Contoh keragaan respons ketahanan varietas IRBB 7 terhadap ketiga ras uji ditampilkan pada Gambar 1.

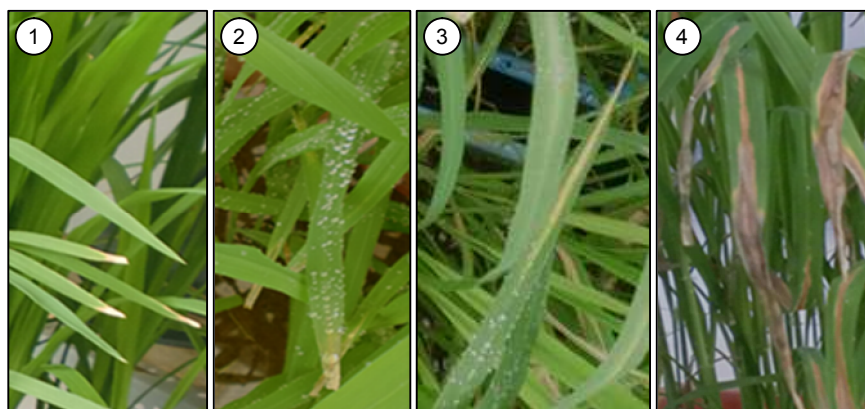
Menurut Huang *et al.* (1997), *gene pyramiding* mampu membentuk varietas yang memiliki sifat ketahanan lebih luas sehingga lebih efektif menanggulangi serangan patogen yang kemungkinan berubah sifat patogenitasnya dari waktu ke waktu (Jeung

Tabel 3. Respons ketahanan galur-galur diferensial (*IRBB lines*) terhadap tiga ras *Xoo*.

Galur dan gen ketahanan*	Ras III		Ras IV		Ras VIII	
	IS (%) ± SD	Respons	IS (%) ± SD	Respons	IS (%) ± SD	Respons
IRBB 1 (<i>Xa1</i>)	8,1±1,2	T	33,8±3,8	T	49,4±6,0	P
IRBB 2 (<i>Xa2</i>)	8,0±0,7	T	35,0±4,0	T	59,1±8,1	P
IRBB 3 (<i>Xa3</i>)	7,5±1,1	T	47,5±12,0	P	54,3±5,5	P
IRBB 4 (<i>Xa4</i>)	7,6±0,4	T	45,5±7,4	P	47,3±2,9	P
IRBB 5 (<i>xa5</i>)	5,6±0,9	T	10,0±9,8	T	21,7±13,9	T
IRBB 7 (<i>Xa7</i>)	0,0±0,0	T	0,5±0,4	T	0,0±0,0	T
IRBB 8 (<i>xa8</i>)	9,0±0,5	T	44,5±2,5	P	30,0±1,8	T
IRBB 10 (<i>Xa10</i>)	9,2±0,2	T	51,0±15,5	P	44,4±3,9	P
IRBB 11 (<i>Xa11</i>)	8,7±0,8	T	50,2±4,6	P	48,1±6,0	P
IRBB 13 (<i>xa13</i>)	6,7±0,6	T	42,3±5,5	P	44,2±20,2	P
IRBB 14 (<i>Xa14</i>)	10,1±0,5	T	51,2±8,3	P	41,2±12,2	P
IRBB 21 (<i>Xa21</i>)	3,5±1,2	T	19,1±2,3	T	13,7±3,3	T
IRBB 50 (<i>Xa4 + xa5</i>)	3,2±0,3	T	3,4±1,2	T	9,8±0,6	T
IRBB 51 (<i>Xa4 + xa13</i>)	8,1±0,3	T	44,4±3,1	P	44,2±10,6	P
IRBB 52 (<i>Xa4 + Xa21</i>)	2,2±0,5	T	10,5±2,1	T	7,4±2,2	T
IRBB 53 (<i>xa5 + xa13</i>)	1,2±0,2	T	2,2±0,7	T	4,3±1,5	T
IRBB 54 (<i>xa5 + Xa21</i>)	1,6±0,1	T	3,6±1,1	T	3,5±0,9	T
IRBB 56 (<i>Xa4 + xa5 + xa13</i>)	3,7±0,9	T	3,6±0,9	T	9,4±1,4	T
IRBB 57 (<i>Xa4 + xa5 + Xa21</i>)	8,0±1,3	T	39,1±8,4	T	29,8±10,5	T
IRBB 58 (<i>Xa4 + xa13 + Xa21</i>)	6,0±0,8	T	6,8±0,9	T	15,3±1,5	T
IRBB 64 (<i>Xa4 + xa5 + Xa7 + Xa21</i>)	1,0±0,5	T	0,2±0,2	T	1,0±0,3	T
IRBB 66 (<i>Xa4 + xa5 + Xa7 + xa13 + Xa21</i>)	1,0±1,2	T	1,5±2,2	T	3,0±1,2	T
IR64 (<i>Xa4</i>)	18,5±8,3	T	51,0±8,9	P	45,9±4,4	P
TN-1 (<i>Xa14</i>)	15,4±2,7	T	77,8±6,3	P	61,6±5,8	P

T = tahan (IS ≤40%), P = peka (IS >40%), SD = standar deviasi.

*Informasi gen ketahanan dikumpulkan dari sistem informasi bank gen koleksi padi internasional (situs web IRGCIS: <http://www.irgcis.irri.org:81/grc/irgcishome.html>) dan sistem informasi tanaman internasional (situs web ICIS: <http://www.icis.irri.org>).



Gambar 1. Contoh keragaan respons galur isogenik IRBB 7 (*Xa7*) terhadap *Xoo*. 1 = ketahanan IRBB 7 terhadap ras III, 2 = ketahanan IRBB 7 terhadap ras IV, 3 = ketahanan IRBB 7 terhadap ras VIII, 4 = keragaan tanaman kontrol peka TN-1 terhadap ras IV.

et al., 2006). Namun demikian, tidak semua efek *gene pyramiding* menunjukkan respons positif terhadap tingkat ketahanan varietas. Sebagai contoh, IRBB 51 yang memiliki gen ketahanan digenik *Xa4 + xa13* bersifat tahan terhadap ras III, tetapi peka terhadap dua ras lainnya (ras IV dan VIII).

Selama ini, varietas IR64 dan TN-1 digunakan sebagai tanaman kontrol peka, namun pada penelitian ini keduanya tahan terhadap ras III, tetapi peka terhadap ras IV dan VIII. Khush *et al.* (1989) dan Ogawa (1993) menyebutkan bahwa varietas IR64 memiliki gen ketahanan *Xa4*, sedangkan TN-1 memiliki gen ketahanan *Xa14* (Taura *et al.*, 1992).

Respons Ketahanan Aksesori Lokal Sulawesi Selatan

Respons ketahanan 48 aksesori padi lokal Sulawesi Selatan ditampilkan pada Tabel 4. Aksesori lokal yang tahan terhadap ketiga ras uji adalah aksesori Ase Andele dengan kisaran IS 10,7–39,6%. Sementara itu, aksesori yang paling peka terhadap ketiga ras adalah Pare Dangang-a dengan kisaran IS 42,7–75,5%.

Hampir semua aksesori lokal yang diuji bersifat tahan terhadap ras III. Namun demikian, terdapat aksesori yang bersifat peka dan tahan terhadap ketiga ras, yaitu berturut-turut Pare Dangang-a (nomor 22) dan Ase Andele (nomor 30). Kedua aksesori ini secara

Tabel 4. Respons ketahanan aksesori-aksesori padi lokal asal Sulawesi Selatan terhadap tiga ras *Xoo*.

Nama aksesori	Ras III		Ras IV		Ras VIII	
	IS (%) ± SD	Respons	IS (%) ± SD	Respons	IS (%) ± SD	Respons
Kaleng Kere-a	38,2±11,7	T	71,5±21,1	P	54,7±11,46	P
Gading	23,7±7,2	T	69,8±21,2	P	42,7±16,85	P
Djambe	24,9±9,5	T	91,8±13,1	P	49,7±8,77	P
Kaleng Kere-b	22,9±6,7	T	35,6±8,4	T	53,9±10,63	P
Ana Dara	21,9±12,1	T	81,3±3,4	P	47,3±17,38	P
Banda Tjela	25,7±7,2	T	68,8±19,7	P	64,7±18,13	P
Marate	17,4±4,4	T	65,3±39,2	P	58,1±5,77	P
Tjanggoreng	10,2±2,4	T	73,4±15,8	P	46,3±5,86	P
Batas	25,5±6,8	T	72,4±23,3	P	84,8±11,79	P
Ase Djambi	49,2±34,3	P	38,6±14,1	T	53,2±9,09	P
Ase Bolong	24,2±6,5	T	81,1±20,6	P	43,5±13,66	P
Panada	30,3±18,6	T	100,0±0,0	P	40,9±12,45	P
Bakka Bereng-2	29,2±10,4	T	88,3±13,3	P	40,9±14,32	P
Bakka Biasa	20,8±15,2	T	91,5±7,2	P	48,3±6,44	P
Bakka Edja	36,7±19,3	T	48,6±26,3	P	61,8±8,50	P
Pare Eja-2	19,9±8,2	T	75,2±31,8	P	79,9±16,92	P
Pare Eja-3	14,8±3,3	T	76,4±29,8	P	58,6±32,71	P
Ase Bukne	9,0±2,4	T	79,1±34,1	P	41,7±9,21	P
Ase Pulut Jawa	17,8±2,9	T	85,0±27,4	P	64,0±10,11	P
Pare Pulut Bampo	33,7±13,2	T	13,1±2,5	T	44,8±5,47	P
Ase Balacung	36,4±12,0	T	97,7±5,6	P	50,3±20,35	P
Pare Dangang-a	42,7±9,6	P	75,5±40	P	56,1±12,12	P
Pare Dangang-b	33,2±7,6	T	85,2±20,4	P	51,0±8,15	P
Pare Leleng	21,3±18,3	T	83,9±12,5	P	54,3±19,91	P
Banda	11,8±4,3	T	74,3±11,4	P	23,7±8,21	T
Vandi-a	26,4±15,0	T	73,8±22,4	P	48,6±20,08	P
Ase Lontong	20,9±4,6	T	96,6±5,5	P	51,4±5,36	P
Pulu Pallapa	23,5±6,5	T	92,3±9,8	P	47,6±3,81	P
Ase Puteh	34,3±18,5	T	87,4±10,1	P	38,3±9,40	T
Ase Andele	10,7±3,8	T	23,8±29,2	T	39,6±13,93	T
Pulu Dennul-b	9,2±2,5	T	57,6±26,0	P	36,5±12,33	T
Ase Pute	10,6±0,8	T	82,9±16,3	P	52,4±6,53	P
Kemandi Pance	15,4±5,6	T	39,8±37,7	T	59,6±12,18	P
Lokal Buntu Sangala-1	13,6±5,2	T	79,9±10,3	P	36,4±10,62	T
Lokal Buntu Sangala-2	15,3±3,8	T	73,3±13,1	P	48,2±6,31	P
Pare Pulung Lia	18,7±12,2	T	58,3±18,8	P	35,9±15,89	T
Pare Bulan	24,8±9,2	T	83,5±13,3	P	51,2±10,08	P
Pare Taog	12,2±4,2	T	86,4±10,8	P	46,4±27,05	P
Pare Barry-2	22,7±17,8	T	80,2±8,9	P	55,9±8,39	P
Pare Ambo	20,5±9,3	T	85,1±6,3	P	42,1±13,97	P
Pare Barry Rarang	13,1±5,9	T	78,3±7,9	P	55,1±6,06	P
Pare Ketek (Pare Mansyair)	21,1±12,3	T	91,8±9,3	P	46,4±12,04	P
Pare Bulu Lotong	16,2±12,2	T	67,2±13,3	P	45,0±12,25	P
Pulut Bambo	29,6±21,4	T	72,8±16,8	P	46,6±3,72	P
Bakka Lompo	17,1±2,7	T	83,0±12,2	P	60,5±18,16	P
Bakka Bungkeng	23,1±1,7	T	96,7±8	P	57,9±7,62	P
Balancung	21,3±7,4	T	21,1±17,9	T	50,1±7,10	P
Ase Pulut Jawa	33,2±23,5	T	74,1±14,0	P	43,2±10,71	P

IS = intensitas serangan, T = tahan (IS ≤40%), P = peka (IS >40%), SD = standar deviasi.

berurutan dapat dijadikan sebagai aksesori cek peka dan tahan terhadap ketiga ras *Xoo* yang digunakan.

Keragaman Genotipe Galur Diferensial dan Aksesori Lokal Sulawesi Selatan Berdasarkan Marka Molekuler

Salah satu hasil uji genotipe pada galur diferensial menggunakan marka *Xa1-STS5* menunjukkan polimorfisme ukuran pita DNA dengan kisaran 100–900 bp, sedangkan dengan marka *RM20589* terdapat variasi ukuran pita pada kisaran 250–650 bp. Sementara itu, salah satu hasil uji genotipe menggunakan marka *RM20589* yang terpaut gen *Xa7* pada aksesori lokal Sulawesi Selatan terlihat adanya variasi ukuran pita DNA pada kisaran 200–300 bp (Gambar 2).

Keragaman genotipe yang diperoleh ditampilkan dalam dendrogram (Gambar 3). Pada tingkat kesamaan sekitar 95%, dari 72 sampel aksesori yang dianalisis terdapat tiga kelompok besar yang tahan terhadap ketiga ras uji. Kelompok III memiliki keragaman paling tinggi karena terbagi lagi menjadi empat subkelompok (IIIa, IIIb, IIIc, dan IIId). Galur diferensial yang bersifat tahan terhadap ras III, IV, dan VIII mengelompok dalam satu subkelompok, yaitu IIId. Terdapat satu cabang dendrogram yang terpisah dan hanya beranggotakan satu aksesori (*Ase Pulut Jawa*). Berdasarkan jarak genetiknya, aksesori ini memiliki kedekatan genetik dengan kelompok I yang tahan terhadap ras III, tetapi peka terhadap ras IV dan VIII. Namun demikian, berdasarkan analisis genotipe terdeteksi bahwa aksesori ini memiliki jumlah alel paling sedikit di antara lokus-lokus gen ketahanan yang dianalisis dibanding dengan aksesori yang lainnya. Alel ketahanan HDB pada aksesori *Ase Pulut Jawa* hanya terdeteksi pada empat lokus dari total tujuh

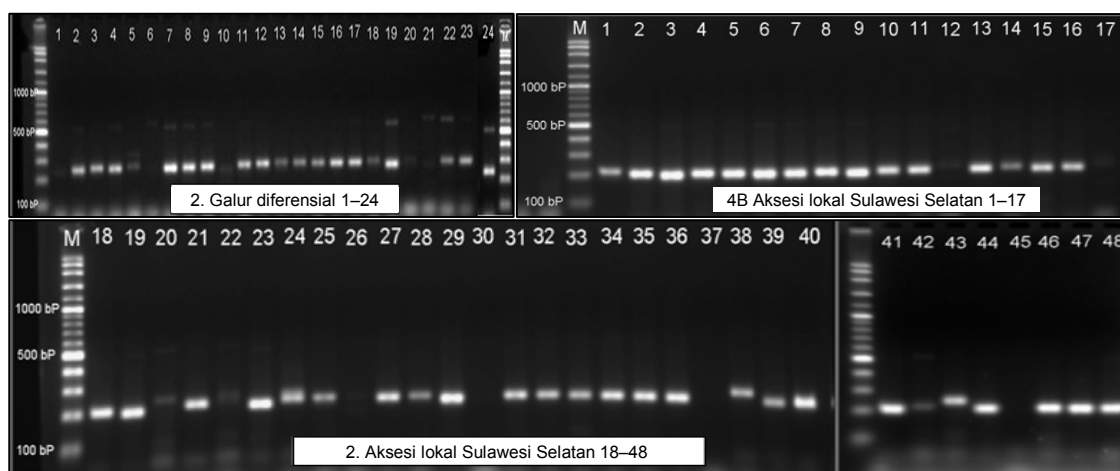
lokus yang dianalisis, dengan rerata satu alel per lokusnya. Minimnya jumlah alel ini mengindikasikan adanya kemungkinan proses seleksi telah terjadi secara intensif selama musim tanam sehingga hanya alel superior saja yang masih bertahan dan terdeteksi (Choudhury *et al.*, 2013; Sutoro *et al.*, 2015).

Aksesori lokal Sulawesi Selatan pada kelompok I dan II bersifat tahan terhadap ras III, tetapi peka terhadap ras IV dan VIII, kecuali aksesori Kaleng Kere-b pada kelompok I dan Balancung pada kelompok II yang bersifat tahan terhadap ras III dan IV, tetapi peka terhadap ras VIII. *Ase Djambi* pada kelompok II tahan terhadap ras IV, tetapi peka terhadap ras III dan VIII. Hanya ada satu aksesori yang bersifat tahan terhadap ketiga ras uji yang terdapat pada subkelompok IIIc, yaitu *Ase Andele*. Demikian juga, hanya ada satu aksesori yang bersifat peka terhadap ketiga ras uji, yaitu *Pare Dangang-a*, yang masuk ke dalam subkelompok IIIa.

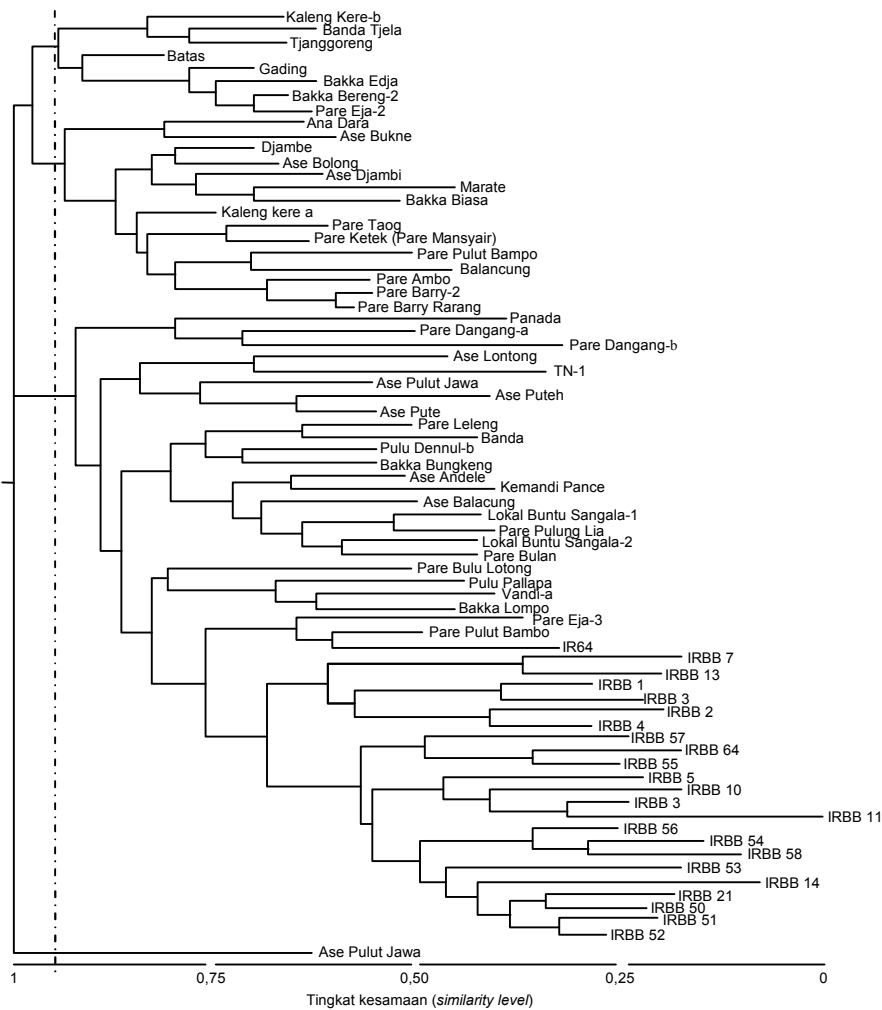
Dari keragaman alel ketahanan HDB pada aksesori padi lokal Sulawesi Selatan, beberapa aksesori terdeteksi bersifat superior tahan dibanding dengan aksesori yang lain sehingga berpotensi sebagai kultivar lokal unggul yang disenangi petani lokal. Adanya keragaman alel menunjukkan peran penting petani lokal dalam konservasi *indigenous* plasma nutfah padi sebagai sumber genetik. Oleh karena itu, penerapan konservasi yang mengedepankan kearifan petani lokal sangat diperlukan dalam budi daya kultivar padi lokal (Brush dan Meng, 1998; Choudhury *et al.*, 2013).

Analisis Asosiasi Fenotipe Ketahanan dan Genotipe Marka Molekuler

Analisis asosiasi fenotipe ketahanan dan genotipe dilakukan untuk mendeteksi marka molekuler



Gambar 2. Contoh hasil visualisasi PCR galur diferensial dan aksesori lokal Sulawesi Selatan menggunakan marka *RM 20589*. 1–24 (kiri atas) = galur diferensial, 1–48 (kanan atas, bawah) = aksesori padi lokal. Urutan nomor sampel pada gambar sesuai dengan urutan sampel pada Tabel 3 dan Tabel 4.



Gambar 3. Pengelompokan aksesi lokal asal Sulawesi Selatan dan galur diferensial menggunakan analisis keragaman pada program Tassel Ver. 3.

Tabel 5. Hasil analisis asosiasi fenotipe dan genotipe pada aksesi lokal Sulawesi Selatan.

Ras Xoo	Marka	p-value	Aksesi Sulawesi Selatan
III	Xa26-STS2	0,04	Gading, Djembe, Kaleng Kere-b, Ana Dara, Banda Tjela, Marate, Tjanggoreng, Batas, Ase Djambi, Ase Bolong, Panada, Bakka Bereng-2, Bakka Biasa, Pare Edjol, Pare Eja-2, Pare Eja-3, Ase Bukne, Ase Pulut Jawa, Pare Dangang-b, Ase Lontong, Pulu Pallapa, Ase Puteh, Ase Andele, Ase Pute, Kemandi Pance, Pare Bulan, Pare Taog, Pare Ketek
IV	Xa21-STS6	0,01 & 0,04	Kaleng Kere-b, Ase Djambi, Pare Bulut Bampo, Balancung
IV	Xa4-STS44	0,01	Kemandi Pance
IV	xa13-STS51	0,02	Pare Pulut Bampo
IV	Xa1-STS15	0,03	Kaleng Kere-b, Pare Pulut Bampo, Kemandi Pance, Balancung
IV	Xa1-STS15	0,04	Ase Djambi, Kemandi Pance, Ase Andele
VIII	Xa7-STS57	0,04	Ase Andele, Pare Pulung Lia
VIII	RM20589	0,04	Banda, Ase Andele, Pulu Dennul-b, Pare Pulung Lia

mana yang berasosiasi dengan sifat ketahanan HDB. Hasil analisis asosiasi menunjukkan terdapat delapan marka yang berasosiasi dengan ketahanan terhadap tiga ras Xoo (Tabel 5).

Marka Xa26-STS2 berasosiasi dengan ketahanan terhadap ras III. Alel ketahanan terhadap ras III ini terdeteksi pada 28 aksesi dari total 48 aksesi lokal

yang diuji dengan nilai signifikansi *p-value* sebesar 0,04. Marka Xa21-STS6, Xa4-STS44, xa13-STS51, dan Xa1-STS15 berasosiasi dengan ketahanan terhadap ras IV. Sementara itu, marka Xa7-STS57 dan RM20589 berasosiasi dengan ketahanan terhadap ras VIII. Alel ketahanan terhadap kedua ras uji tersebut terdeteksi pada beberapa aksesi, di antaranya adalah Kaleng

Kere-b, Ase Djambi, Kemandi Pace, Pare Pulut Bampo, Balancung, dan Ase Andele, untuk ketahanan terhadap ras IV dan Pare Pulung Lia, Banda, Ase Andele, dan Pulu Dennul-b untuk ketahanan terhadap ras VIII (Tabel 5). Kultivar Ase Andele (Tabel 4, ditulis dengan huruf tebal), yang bersifat tahan terhadap ketiga ras uji, terdeteksi memiliki alel ketahanan terhadap ras III pada lokus Xa26-STS2, ras IV pada lokus Xa1-STS15, dan ras VIII pada lokus Xa7-STS57 dan RM20589.

Analisis asosiasi di atas dimaksudkan untuk mendeteksi adanya alel dari gen ketahanan tertentu terhadap penyakit HDB pada aksesori padi lokal Sulawesi Selatan. Terdeteksinya alel dari gen ketahanan HDB diketahui dari marka penanda yang dikembangkan dari gen tertentu yang bersifat signifikan. Namun demikian, tidak tertutup adanya kemungkinan aksesori plasma nutfah yang dianalisis juga mengandung alel gen ketahanan HDB yang lain yang terkonservasi dalam genom padi lokal tersebut.

KESIMPULAN

Uji ketahanan galur diferensial menunjukkan bahwa galur-galur isogenik *single gene* (IRBB 5, IRBB 7, dan IRBB 21) dan *multiple genes* (*digenic/polygenic*) (IRBB 50, IRBB 52, IRBB 53, IRBB 54, IRBB 56, IRBB 57, IRBB 58, IRBB 64, dan IRBB 66) bersifat tahan terhadap ketiga ras uji. Hanya ada satu aksesori lokal yang bersifat tahan terhadap ketiga ras uji, yaitu Ase Andele. Berdasarkan analisis asosiasi antara ketahanan dan keragaman genotipe menggunakan enam belas marka molekuler, diperoleh satu marka signifikan yang berasosiasi dengan ketahanan terhadap ras III, yaitu marka Xa26-STS2, empat marka signifikan berasosiasi dengan ketahanan terhadap ras IV, yaitu Xa1-STS15, Xa4-STS44, xa13-STS51, dan Xa21-STS6, dan dua marka signifikan berasosiasi dengan ketahanan terhadap ras VIII, yaitu Xa7-STS57 dan RM 20589.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bank Gen BB Biogen atas izin penggunaan plasma nutfah padi lokal asal Sulawesi Selatan dalam penelitian ini. Penelitian ini terlaksana atas dukungan dana PKPP, No. X.110 Tahun 2012.

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, B., T.S. Silitonga, B.A. Husin, and A. Nasution. 2004. Wild species of rice (*Oryza* spp.), a source of biotic stresses resistance gene: Benefits for rice breeding program in Indonesia. In: F. Kasim, A.

Widjono, Sumarno, and Suparyono, editors, Proceedings of the International Rice Conference 2005. Tabanan Bali, 12–14 September 2005. Rice Industry, Culture, and Environment. Book 2. Indonesian Agency for Agricultural Research and Development in cooperation with International Rice Research Institute. p. 337–334.

Badan Pusat Statistik. 2014. Luas panen—produktivitas tanaman padi seluruh provinsi. Badan Pusat Statistik. <http://www.scribd.com/doc/252068754/> (diakses 18 Mei 2015).

Bradbury, P.J., Z. Zhang, D.E. Kroon, T.M. Casstevens, Y. Ramdoss, and E.S. Buckler. 2007. TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23(19):2633–2635.

Brush, S.B. and E. Meng. 1998. Farmer's valuation and conservation of crop genetic resources. *Genet. Resour. Crop Evol.* 45:139–150.

Chen, S., Z. Huang, L. Zeng, J. Yang, Q. Liu, and X. Zhu. 2008. High resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* resistance gene Xa7. *Mol. Breed.* 22(3):433–441.

Choudhury, B., M.L. Khan, and S. Dayanandan. 2013. Genetic structure and diversity of indigenous rice (*Oryza sativa*) varieties in the Eastern Himalayan region of Northeast India. *Springer Plus* 2:1–10.

Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19(1):11–15.

Hawkes, J.G., N. Maxted, and B.V. Ford-Lloyd. 2000. The *ex situ* conservation of plant genetic resources. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

Hayashi, N. and Y. Fukuta. 2007. Proposal of a new international system for differentiating races of *Pyricularia oryzae* Cavara using LTH monogenic lines. *J. Phytopathol.* 73(3):204.

Huang, N., E.R. Angeles, J. Domingo, G. Magpantay, G.S. Singh, Z. Zhang, N. Kumaradivel, J. Bennet, and G.S. Khush. 1997. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice marker-assisted selection using RFLP and PCR. *Theor. Appl. Genet.* 95:313–320.

International Rice Research Institute. 1996. Standard evaluation system for rice. 4th ed. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines.

Jeung, U.J., S.G. Heu, M.S. Shin, C.M.V. Cruz, and K.K. Jena. 2006. Dynamics of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* populations in Korea and their relationship to known bacterial blight resistance genes. *J. Phytopathol.* 96(8):867–875.

Kadir, T.S., Y. Suryadi, Sudir, dan M. Machmud. 2009. Penyakit bakteri padi dan cara pengendaliannya. Dalam: A.A. Daradjat, A. Setyono, A.K. Makarim, dan A. Hasanuddin, editor, Padi: Inovasi teknologi produksi. Buku 2. LIPI Press. hlm. 499–530.

Khoshkdaman, M., A.A. Ebadi, and D. Kahrizi. 2012. Evaluation of pathogenicity and race classification of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Guilan province-Iran. *Agric. Sci.* 3(4):557–561.

Khush, G.S. and T. Kinoshita. 1991. Rice karotype, marker gene, and linkage groups. In: G.S. Khush and G.H.

- Toenniessen, editors, Rice biotechnology. CABI International, Wallingford, UK. p. 83–108.
- Khush, G.S., D.J. Mackill, and G.S. Sidhu. 1989. Breeding rice for resistance to bacterial blight. In: K. Lampe, editor, Proceedings of the International Workshop on Bacterial Blight of Rice. Manila, 14–18 March 1988. International Rice Research Institute, Philippines. p. 207–217.
- Kinoshita, T. 1995. Report of committee on gene symbolization, nomenclature, and linkage groups. Rice Genet. Newsl. 12:9–153.
- Lin, X.H., D.P. Zhang, Y.F. Xie, H.P. Gao, and Q. Zhang. 1996. Identifying and mapping a new gene for bacterial blight resistance in rice based on RFLP markers. Phytopathology 86:1156–1159.
- Loan, L.C., V.T.T. Ngan, and P.V. Du. 2006. Preliminary evaluation on resistance genes against rice bacterial leaf blight in Can Tho province-Vietnam. Omonrice 14:44–47.
- Nafisah, A.A. Daradjat, dan H. Sembiring. 2006. Keragaman genetik padi dan upaya pemanfaatannya dalam mendukung ketahanan pangan nasional. Dalam: K. Diwyanto, Subandriyo, E. Handiwirawan, L. Agustina, dan E.T. Kurniawaty, editor, Prosiding Lokakarya Nasional Pengelolaan dan Perlindungan Sumber Daya Genetik di Indonesia. Balai Penelitian Ternak, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian. hlm. 63–73.
- Nafisah, A.A. Daradjat, B. Suprihatno, dan S.K. Triny. 2007. Heritabilitas karakter ketahanan hawar daun bakteri dari tiga populasi tanaman padi hasil seleksi daur siklus pertama. J. Pen. Pert. Tan. Pangan 26(2):100–105.
- Noh, T.H., E.S. Song, H.I. Kim, M.H. Kang, and Y.J. Park. 2016. Transcriptome-based identification of differently expressed genes from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains exhibiting different virulence in rice varieties. Int. J. Mol. Sci. 17(2):259.
- Ogawa, T. 1993. Methods and strategy for monitoring race distribution and identification of resistance genes to bacterial leaf blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) in rice. JARQ 27:71–80.
- Ogawa, T., T. Yamamoto, G.S. Khush, T.W. Mew, and H. Kaku. 1988. Near-isogenic lines as differentials for resistance to bacterial blight of rice. Rice Genet. Newsl. 5:106–107.
- Sambrook, J. and D.W. Russell. 2001. Molecular cloning: A laboratory manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, US.
- Suardi, D. dan T.S. Silitonga. 1999. Daya tembus akar plasma nutfah padi lokal. Bul. Plasma Nutfah 4(1):45–50.
- Sudir dan Sutaryo. 2011. Reaksi padi hibrida introduksi terhadap penyakit hawar daun bakteri dan hubungannya dengan hasil gabah. J. Pen. Pert. Tan. Pangan 30(2):88–94.
- Silitonga, T.S. 2004. Pengelolaan dan pemanfaatan plasma nutfah padi di Indonesia. Bul. Plasma Nutfah 10(2):56–71.
- Sutoro, P. Lestari, Reflinur, and H. Kurniawan. 2015. Genetic diversity of upland rice landraces from Java island as revealed by SSR markers. Ind. J. Agric. Sci. 16(1):1–10.
- Taura, S., R.E. Ogawa, G.S. Khush, A. Yoshimura, and T. Omura. 1992. Resistance gene of rice cultivar, Taichung native to Philippine races of bacterial blight pathogen. Jap. J. Breed. 42:195–201.
- Triny, S.K., I. Hanarida, D.W. Utami, S. Koerniati, A.D. Ambarwati, A. Apriana, dan A. Sisharmini. 2009. Evaluasi ketahanan populasi haploid ganda silangan IR64 dan *Oryza rufipogon* terhadap hawar daun bakteri pada stadia bibit. Bul. Plasma Nutfah 15(1):13–19.
- Tsunematsu, H., M.J.T. Yanoria, L.A. Ebron, N. Hayashi, I. Ando, H. Kato, T. Imbe, and G.S. Khush. 2000. Development of monogenic lines of rice for blast resistance. Breed. Sci. 50:229–234.
- Utami, D.W., E.M. Septiningsih, T.S. Kadir, A. Nasution, I. Hanarida, dan T. Suhartini. 2009. Pencarian alel baru gen-gen untuk ketahanan hawar daun bakteri. Laporan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian, Bogor.
- Vera Cruz, C.M., I. Oña, M.Y. Reveche, K.M. Webb, G. Carrillo, N. Dac Khoa, L. Quiatchon, P. Virk, M. Bustamam, J. Agarcio, J. Wu, K. Singh, K.K. Jena, T.W. Mew, and J.E. Leach. 2007. Impact of gene pyramids on *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* population structures—Implications for deployment of *Xa* genes. Proceedings of the 2nd International Conference on Bacterial Blight of Rice. Nanjing, China. p. 1–117.
- Wahyudi, T.A. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* bakteri penyebab hawar daun pada padi: Isolasi, karakterisasi, dan telaah mutagenesis dengan transposon. Makara 15:89–96.
- Webb, M.K., E. Garcia, C.M. Vera Cruz, and J.E. Leach. 2010. Influence of rice development on the function of bacterial blight resistance genes. Eur. J. Plant Pathol. 128:399–407.
- Winandari, A. Tjahjoleksono, dan D.W. Utami. 2014. Identifikasi gen ketahanan hawar daun bakteri pada galur padi introduksi dan galur dihaploid. J. Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika 14(2):101–109.
- Yuliani, D., A. Faizal, dan Sudir. 2012. Identifikasi patotipe *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, penyebab penyakit hawar daun bakteri padi di sentra produksi padi di Sulawesi Selatan. Dalam: I.P. Wardana, Sudir, N. Usyati, dan M.J. Mejaya, editor, Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian 2011. Buku I. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Sukamandi. hlm. 121–130.
- Yuriyah, S., D.W. Utami, dan I. Hanarida. 2013. Uji Ketahanan galur-galur harapan padi terhadap penyakit hawar daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) ras III, IV, dan VIII. Bul. Plasma Nutfah 19(2):53–60.
- Zulkifli, M., T. Kuswinan, N.R. Sennang, dan S.A. Syaif. 2014. Eksplorasi keragaman plasma nutfah padi lokal asal Tana Toraja dan Enrekang berdasarkan karakterisasi morfologi. www.lppm.unms.ac.id/wp.content/2014/6/48 (diakses 6 Maret 2014).