

**KETAHANAN BEBERAPA VARIETAS PADI TERHADAP
Pyricularia grisea DAN IDENTIFIKASI GEN KETAHANAN
Pi33 DAN *Pir7***

Santoso dan Anggiani Nasution

Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Sukamandi
Jl. Raya 9 Sukamandi, Subang, Jawa Barat
Email : hanifsant@hotmail.com

ABSTRAK

Identifikasi dan penggunaan gen ketahanan merupakan pendekatan yang efektif dan ekonomis dalam pengendalian penyakit blas pada tanaman padi. Usaha untuk mendapatkan varietas yang tahan terhadap penyakit blas sangat ditentukan oleh tersedianya gen-gen ketahanan. Pengujian ketahanan varietas padi terhadap *P. grisea* dan identifikasi gen ketahanan merupakan hal yang penting untuk dilakukan. Penelitian dilaksanakan pada bulan Nopember 2010 sampai Januari 2011. Penelitian ketahanan varietas padi terhadap *P. grisea* ras 033 dan 133 dilakukan di laboratorium dan rumah kaca Kebun Percobaan Muara Bogor BB PADI, sedangkan identifikasi gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* dilaksanakan di laboratorium Virologi Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian IPB. Penelitian bertujuan untuk mempelajari ketahanan varietas padi terhadap *P. grisea* ras 033 dan 133, mengidentifikasi gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* pada varietas padi, dan mengetahui hubungan antara gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* pada varietas padi dengan *P. grisea* ras 033 dan 133. Hasil penelitian menunjukkan bahwa varietas Grogol, Padai Mas dan Gampai tahan terhadap ras 133 dan 033, varietas Sao tahan terhadap ras 133 dan agak tahan terhadap ras 033, dan varietas Gemija Jyanam agak tahan terhadap ras 133 dan 033. Varietas Grogol, Gampai, Silugonggo, dan Gemija Jyanam mengandung gen *Pi33* dan *Pir7*, sedangkan varietas Dodokan hanya mempunyai gen *Pir7*. Sifat ketahanan terhadap *P. grisea* ras 033 dan 133 tidak dikendalikan oleh gen *Pi33* dan *Pir7*.

Kata kunci : Ketahanan, identifikasi, varietas padi, *P. grisea*, ras, gen ketahanan

ABSTRACT

The resistance of rice varieties to *Pyricularia grisea* and identification of *Pi33* and *Pir7* resistance genes. Identification and using of resistance gene are effectively and economic approaches to protect rice blast disease. The effort to get a blast resistant variety is determined by the available of resistance genes. The evaluation of rice variety resistance to blast disease and identification of resistance gene are important to be conducted. The experiments were done on November 2010 to January 2011. The evaluation of rice variety resistance to 033 and 133 races was conducted at laboratory and green house of Muara Experimental Station,

Bogor, while the identification of *Pi33* and *Pir7* resistance genes was done at Virology Laboratory of Plant Protection Department, Agricultural Faculty, Bogor Agricultural University. The aims of the research were to evaluate the resistance of rice varieties to races of 033 and 133, to identify of *Pi33* and *Pir7* resistance genes in rice varieties, and to know the relationship among resistance genes of *Pi33* and *Pir7* and races of 033 and 133. The result showed that Grogol, Padai Mas and Gampai varieties were resistant to 033 and 133 races, Sao variety is resistant to race of 133 but moderately resistant to race of 033, while Gemija Jyanam were moderately resistant to races of 133 and 033. The varieties of Grogol, Gampai, Silugonggo and Gemija Jyanam were containing *Pi33* and *Pir7* genes, while Dodokan variety have only *Pir7* gene. The resistance of rice variety to races of 033 and 133 were not controlled by *Pi33* and *Pir7* resistance genes.

Key words: Resistance, identification, rice variety, *P. grisea*, race, resistance gene

PENDAHULUAN

Penyakit blas yang disebabkan oleh cendawan hemibiotropik *Magnaporthe grisea* (T.T. Herbert) Yaegashi & Udagawa) Barr (anamorph *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.) merupakan salah satu kendala utama produksi pada negara-negara penghasil padi di seluruh dunia (Ou, 1985). Ketahanan tanaman padi terhadap penyakit blas disebabkan karena interaksi yang inkompatibel antara tanaman inang dan ras patogen sehingga menghambat perkembangan patogen. Identifikasi dan penggunaan gen ketahanan merupakan pendekatan yang efektif dan ekonomis dalam mengendalikan penyakit blas pada tanaman padi (Bonman, 1992). Penggunaan varietas tahan harus disesuaikan dengan komposisi ras *P. grisea* yang berkembang di lapang.

Gen ketahanan terhadap penyakit blas dikelompokkan ke dalam dua tipe yaitu ketahanan lengkap (kualitatif) atau sejati dan ketahanan parsial (kuantitatif) atau lapang (Ezuka, 1972). Ketahanan lengkap disebabkan karena interaksi inkompatibel yang biasanya dikendalikan gen major (Kiyosawa, 1981). Ketahanan lengkap umumnya mudah patah ketahanannya setelah beberapa tahun dilepas menjadi varietas komersil (Mackill dan Bonman, 1992). Ketahanan parsial disebabkan interaksi yang kompatibel, yang secara umum merupakan non spesifik ras dan poligenik. Ketahanan parsial lebih disukai dalam program pemuliaan tanaman padi karena menghasilkan kultivar dengan ketahanan yang *durable* (Kiyosawa, 1981).

Ketahanan tanaman padi terhadap penyakit blas dikendalikan oleh gen major atau gen minor (quantitative trait loci/QTLs). Gen major akan menghalangi penyelesaian siklus hidup cendawan *P. grisea* yang inkompatibel, sedangkan QTLs akan mengurangi sporulasi patogen yang kompatibel. Aksi gen yang menyusun ketahanan terhadap penyakit blas mungkin dikendalikan oleh gen dominan, dominan tidak lengkap atau resesif (Mackill dan Bonman, 1992).

Lebih dari 40 gen major ketahanan blas pada tanaman padi telah dipetakan (Sallaud *et al.*, 2003), tetapi hanya 7 gen yang sudah diklon dan dikarakterisasi yaitu *Pib* (Wang *et al.*, 1999), *Pita* (Bryan *et al.*, 2000), *Pid2* (Chen *et al.*, 2006), *Pi9* (Qu *et al.*, 2006), *Pi2* dan *Piz'* (Zhou *et al.*, 2006), dan *Pi36* (Liu *et al.*, 2007). Semua gen R tersebut mengkode *nucleotide binding site* (NBS) dan *leucine-rich repeats* (LRRs), yaitu karakteristik yang umum pada gen ketahanan tanaman yang sudah diklon (Bent, 1996), kecuali *Pid2* mengkode *receptor-like kinase protein*. Pengenalan patogen oleh tanaman tahan dikendalikan oleh gen R yang terdapat dalam tanaman dan gen avirulen yang ada pada patogen melalui signal transduksi yang akan mengaktifkan sistem pertahanan tanaman (Bent, 1996; Baker *et al.* 1997)

Gen ketahanan *Pi33* ditemukan pada beberapa kultivar padi indica semi-dwarf seperti Bala, DJ8-341, IR64, IR1529, IRAT7, Taichung Native 1 (TN1) dan Zhai-Ye-Qing 8 (ZYQ8). Gen ketahanan *Pi33* berhubungan dengan gen avirulen *ACE1* pada *Magnaporthe grisea* (Berruyer *et al.* 2003), sedangkan gen ketahanan *Pir7* berasal dari varietas padi liar *Oryza rufipogon* (Dr. Dwinita WU, komunikasi pribadi 2011).

Cendawan *P. grisea* mudah beradaptasi dengan lingkungan seperti terhadap varietas padi yang ditanam. Penggunaan varietas tahan untuk pengendalian penyakit blas menghadapi banyak kendala, karena cendawan *P. grisea* mempunyai sifat yang sangat dinamik sehingga ketahanan varietas mudah patah dalam menghadapi ras baru yang lebih virulen. Usaha untuk mendapatkan varietas yang tahan terhadap penyakit blas sangat ditentukan oleh tersedianya gen-gen ketahanan. Hal tersebut dapat dilakukan dengan mencari sumber-sumber gen ketahanan melalui pengujian ketahanan varietas padi baik pengujian di lapang maupun dengan menggunakan bantuan marka molekuler. Hubungan antara gen *Pi* pada tanaman padi dengan ras *P. grisea* juga penting untuk dipelajari karena akan menentukan penggunaan varietas tahan yang spesifik lokasi, yaitu sesuai dengan komposisi ras *P. grisea* yang terdapat di lapang.

Penelitian bertujuan untuk (1) mempelajari ketahanan varietas padi terhadap *P. grisea* ras 033 dan 133, (2) mengidentifikasi gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* pada varietas padi, dan (3) mengetahui hubungan antara gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* pada varietas padi dengan *P. grisea* ras 033 dan 133.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ketahanan varietas padi terhadap penyakit blas ras 033 dan 133 dilakukan di laboratorium dan rumah kaca Kebun Percobaan Muara Bogor BB PADI, sedangkan identifikasi gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* pada varietas padi dilaksanakan di laboratorium Virologi Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian IPB. Penelitian dilakukan pada bulan Nopember 2010 sampai dengan Januari 2011.

I. Ketahanan Varietas Padi terhadap *P. grisea* di Rumah Kaca

Sebanyak 10 varietas padi yaitu Grogol, Padai Mas, Gampai, Nippon Blas, Kencana Bali, Silugonggo, Dodokan, Sao, Gemija Jyanam, dan Nan Guangzhan diuji ketahanannya terhadap *Pyricularia grisea*, yaitu ras 033 dan ras 133. Rancangan percobaan disusun dalam rancangan acak kelompok dengan 3 ulangan.

1. Persiapan inokulum patogen blas

Patogen blas, yaitu ras 033 dan 133 ditumbuhkan pada media PDA selama 5-7 hari, kemudian dipindahkan ke media sporulasi yaitu media *oat meal agar* (OMA). Pada media OMA, cendawan blas ditumbuhkan selama 12 hari. Pada hari kesepuluh dilakukan penggosokan koloni miselia untuk membersihkan miselia udara dengan air steril yang mengandung 0.01 g streptomycin/liter. Penggosokan miselia dengan menggunakan kuas gambar No. 10 yang sudah disterilkan. Koloni yang telah digosok diinkubasikan dalam inkubator bercahaya neon 20 watt selama 2 x 24 jam.

Pembuatan larutan konidia sebagai inokulum dilakukan dengan cara menggosok konidia dengan kuas gambar No. 10 pada umur 12 hari. Sebelum digosok pada masing-masing cawan petri ditambahkan air steril yang mengandung Tween 20 sebanyak 0,02%. Konsentrasi inokulum yang digunakan 2×10^5 konidia/ml. Penghitungan konsentrasi inokulum menggunakan haemocytometer.

2. Persiapan tanaman dan inokulasi

Varietas padi ditanam pada pot-pot plastik persegi panjang dengan ukuran 30x20x10 cm, dengan pemupukan setara 300 kg Urea, 100 g TSP dan 100 g KCl untuk setiap ha. Tanaman dipelihara sampai siap untuk dilakukan inokulasi.

Inokulasi dilakukan pada tanaman padi umur 18-21 hari setelah tanam (HST) atau tanaman berdaun 4-5 helai. Tanaman setelah diinokulasi diletakkan dalam kamar lembab selama 1 x 24 jam, selanjutnya dipindahkan ke rumah kaca dengan kelembaban di atas 90%.

3. Pengamatan dan analisis ketahanan

Pengamatan dilakukan terhadap peubah :

- a. Periode inkubasi, diamati 1 hari setelah inokulasi sampai 7 hari setelah inokulasi

Skala ketahanan penyakit, diamati pada 7 hari setelah inokulasi menggunakan SES IRRI (1996). Kriteria ketahanan varietas padi terhadap penyakit blas adalah sebagai berikut : Skala 0 = sangat tahan, 1 = tahan, 3 = agak tahan, 5 = agak rentan, 7 = rentan, dan 9 = sangat rentan (IRRI, 2014).

Skala	Gejala Penyakit Blas
0	Tidak ada gejala serangan
1	Terdapat bercak-bercak sebesar ujung jarum, tanpa pusat sporulasi
3	Bercak nekrotik keabu-abuan, berbentuk bundar dan agak lonjong, panjang diameter 1-2 mm dengan tepi coklat atau warna kuning halo
5	Bercak khas blas daun, dengan lebar 1-2mm, panjang diameter lebih dari 3 mm, dengan tepi gejala berwarna coklat.
7	Bercak khas blas daun dengan warna kuning, coklat atau tepi abu-abu.
9	Bercak khas blas daun yang menyatu dengan warna keputih-putihan, keabu-abuan tanpa tepi yang jelas.

Berdasarkan skala penyakit dilakukan penghitungan intensitas penyakit yang meliputi kejadian penyakit dan keparahan penyakit, dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kejadian penyakit} = \frac{n}{N} \times 100\%$$

dimana : n = tanaman yang terinfeksi/terserang penyakit
N = seluruh tanaman yang diamati

$$\text{Keparahan penyakit} = \frac{\sum n \times v}{N \times V} \times 100\%$$

dimana : n = jumlah tanaman yang tergolong ke dalam suatu kategori serangan
v = skala pada setiap kategori serangan
N = jumlah tanaman yang diamati
V = skala untuk kategori serangan terberat

II. Identifikasi gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* dengan menggunakan Simple Sequence Repeat (SSR)

Identifikasi gen dengan menggunakan primer *Pi33* dan *Pir7* dilakukan terhadap 5 varietas padi terpilih, yaitu varietas Grogol, Gampai, Silugonggo, Dodokan, dan Gemija Jyanam, yang menunjukkan ketahanan yang berbeda terhadap ras *P. grisea*. Primer diperoleh atas kebaikan Dr. Dwinita W. Utami. Sekuen primer *Pir7*: (F/R: 5' GAAGCCA TGCTATTGCAAAC-3'/5'-CATGGAACAGCGGTCA-3'), sedangkan primer *Pi33*: (F/R: 5'-CCAAGTATTCTAGCTCGCTGTC-3'/5'-TGCTAGAGATTTGAGAAGATGG-3').

DNA genomik diisolasi dari daun tanaman padi yang masih muda dengan menggunakan metode Dellaporta *et al.* (1983). Amplifikasi DNA dilakukan dengan bantuan mesin GeneAmp PCR System 9700. Reaksi PCR terdiri dari DNA 50 ng sebanyak 5 µl, buffer 10x + Mg²⁺ sebanyak 2.5 µl, sucrose cresol 10x 2.5 µl, dNTP 2.5 µl, Primer 2 µl, Tag polymerase 0.25 µl, dan air bebas ion sebanyak 10.25 µl, sehingga jumlah volume 25 µl.

Proses amplifikasi dilaksanakan dengan kondisi sebagai berikut: pre-denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, kemudian dilanjutkan dengan tiga proses yang dilakukan sebanyak 35 siklus yaitu denaturasi selama 45 detik pada suhu 94°C, annealing selama 45 detik pada suhu 55°C dan extension selama 1 menit 30 detik pada suhu 72°C dan diakhirnya dengan stop PCR pada suhu 72°C selama 10 menit. Hasil amplifikasi DNA sebanyak 15 µl dielektroforesis pada agarose dengan konsentrasi 1.5% pada tegangan 50 volt selama 50 menit dan kemudian gel diamati dengan menggunakan UV transiluminator. Produk amplifikasi primer *Pi33* dan *Pir7* dengan melihat ada tidaknya pita dari hasil elektroforesis pada ukuran 200 bp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

I. Ketahanan Varietas Padi terhadap *P. grisea* Ras 033 dan 133

Periode Inkubasi

Periode inkubasi merupakan periode atau waktu yang dibutuhkan oleh patogen untuk dapat menimbulkan gejala penyakit pertama pada tanaman inang. Periode inkubasi varietas yang diuji terhadap ras 033 dan 133 ditampilkan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Periode inkubasi varietas padi terhadap ras *P. grisea* 133

Varietas	Pengamatan (hsi)			
	1	2	3	4
Grogol	-	-	-	+
Padai Mas	-	-	-	+
Gampai	-	-	+	+
Nippon Blas	-	-	+	+
Kencana Bali	-	-	+	+
Silugonggo	-	-	+	+
Dodokan	-	-	+	+
Sao	-	-	+	+
Gemija Jyanam	-	-	-	+
Nan Guangzhan	-	-	-	+

+ = gejala blas pertama; - = belum ada gejala

Hasil percobaan menunjukkan bahwa gejala penyakit blas pada varietas Gampai, Nippon Blas, Kencana Bali, Silugonggo, Dodokan, dan Sao terjadi pada

hari ketiga setelah inokulasi (hsi), sedangkan varietas Grogol, Padai Mas, Gemija Jyanam dan Nan Guangzhan muncul pada 4 hsi baik pada ras 133 maupun 033. Dengan demikian semua varietas padi yang diuji muncul gejala bercak penyakit blas. Roumen (1993), mengemukakan bahwa bercak penyakit blas mulai teramati pada 87 jam setelah inokulasi dan 111 jam setelah inokulasi terlihat bercak yang bersporulasi. Pada daerah tropis, periode inkubasi adalah empat sampai lima hari setelah inokulasi (Ou, 1985).

Tabel 2. Periode inkubasi varietas padi terhadap ras *P. grisea* 033

Varietas	Pengamatan (hsi)			
	1	2	3	4
Grogol	-	-	-	+
Padai Mas	-	-	-	+
Gampai	-	-	+	+
Nippon Blas	-	-	+	+
Kencana Bali	-	-	+	+
Silugonggo	-	-	+	+
Dodokan	-	-	+	+
Sao	-	-	+	+
Gemija Jyanam	-	-	-	+
Nan Guangzhan	-	-	-	+

+ = gejala blas pertama; - = belum ada gejala

Gejala penyakit yang pertama muncul adalah berupa bercak kecil berwarna abu-abu kecoklatan yang kemudian berkembang dan akhirnya membentuk bercak khas penyakit blas, yaitu berbentuk ellips dengan kedua ujungnya meruncing. Timbulnya gejala penyakit blas pada permukaan daun tanaman padi dipengaruhi tiga faktor yaitu, virulensi patogen *P. grisea*, kerentanan tanaman dan lingkungan, terutama suhu dan kelembaban yang mendukung perkembangan penyakit (Ou, 1985). Proses sporulasi akan berlangsung optimum pada suhu 28°C dengan kelembaban 95% dan kondisi gelap selama 15 jam (Kato, 1976). Pada kelembaban kurang dari 89% sporulasi tidak akan terjadi (Bonman, 1992).

Periode inkubasi dapat digunakan untuk menentukan status ketahanan tanaman terhadap suatu penyakit. Hasil percobaan menunjukkan bahwa varietas-varietas padi yang mempunyai periode inkubasi 3 hsi, umumnya terdapat kecenderungan skala penyakit blasnya tinggi atau merupakan varietas yang rentan atau agak rentan (Tabel 3) dan mempunyai persentase kejadian dan keparahan penyakit yang lebih besar dibandingkan dengan varietas yang periode inkubasinya terjadi pada 4 hsi (Tabel 4).

Analisis Ketahanan Varietas Padi terhadap *P. grisea*

Analisis ketahanan varietas padi terhadap *P. grisea* dilakukan berdasarkan standar baku yang telah dikembangkan IRRI (2014). Respon ketahanan varietas yang diuji terhadap ras 133 relatif sama jika dibandingkan terhadap ras 033 (Tabel 3). Hal ini diduga disebabkan karena tingkat virulensi antara ras 133 dan 033 yang tidak terlalu berbeda. Ras 133 merupakan ras *P. grisea* yang dapat menginfeksi dan menunjukkan respon rentan terhadap varietas differensial Indonesia Kencana Bali, Cisanggarung, Cisadane, Krueng Aceh dan Cisokan, sedangkan ras 033 hanya dapat menginfeksi dan menimbulkan respon rentan terhadap varietas differensial Indonesia Kencana Bali, Cisanggarung, Cisadane, dan Krueng Aceh dan menunjukkan respon tahan terhadap Cisokan.

Varietas-varietas padi yang diuji menunjukkan respon ketahanan yang berbeda terhadap ras 133 dan 033 (Tabel 3). Varietas Grogol, Padai Mas dan Gampai menunjukkan respon tahan terhadap ras 133 dan 033, sedangkan varietas Sao mempunyai respon tahan terhadap ras 133 tapi agak tahan terhadap ras 033. Varietas Gemija Jyanam menunjukkan respon agak tahan baik terhadap ras 133 maupun 033. Varietas Grogol, Padai Mas dan Gampai merupakan varietas padi lokal. Varietas-varietas tersebut dapat digunakan sebagai sumber atau donor ketahanan terhadap penyakit blas, khususnya terhadap ras 133 dan 033. Varietas Gampai menunjukkan respon tahan terhadap beberapa isolat Indonesia lainnya yaitu ID52, ID96, ID11, ID132, ID21, ID104, ID 112, ID261, ID135, ID133, ID36, ID89, ID142, dan ID146 (Santoso, 2009). Beberapa penelitian evaluasi ketahanan varietas Grogol terhadap penyakit blas juga menunjukkan respon tahan terhadap beberapa ras *P. grisea* (Ramli *et al.* 2000; Amir *et al.* 2001).

Tabel 3. Respon ketahanan beberapa varietas terhadap *P. grisea* ras 133 dan 033, RK. Muara Bogor 2010

Varietas	ras 133		ras 033	
	Skala	Respon	Skala	Respon
Grogol	1	Tahan	1	Tahan
Padai Mas	1	Tahan	1	Tahan
Gampai	1	Tahan	1	Tahan
Nippon Blas	7	Rentan	7	Rentan
Kencana Bali	7	Rentan	7	Rentan
Silugonggo	7	Rentan	7	Rentan
Dodokan	5	Agak Rentan	5	Agak Rentan
Sao	1	Tahan	3	Agak Tahan
Gemija Jyanam	3	Agak Tahan	3	Agak Tahan
Nan Guangzhan	7	Rentan	5	Agak Rentan

Varietas Nippon Blas, Kencana Bali, dan Silugonggo menunjukkan respon rentan terhadap ras 133 dan 033. Varietas Nan Guangzhan mempunyai respon rentan terhadap ras 133 dan agak rentan terhadap ras 033, sedangkan varietas unggul baru Dodokan menunjukkan respon agak rentan baik pada ras 133 maupun 033. Kencana Bali merupakan varietas yang umum digunakan sebagai kontrol atau pembanding rentan dalam pengujian ketahanan terhadap penyakit blas. Pada varietas yang rentan, tanaman tidak dapat mengenali gen avirulen dari *P. grisea* sehingga tanaman tidak dapat mengaktifkan sistem pertahanan yang dimilikinya (Agrios, 2005)

Kejadian dan Kearahan Penyakit

Varietas-varietas yang mempunyai respon tahan, pada umumnya menunjukkan kejadian dan keparahan penyakit yang lebih rendah dibandingkan varietas yang rentan baik terhadap ras 133 maupun 033 (Tabel 4). Pada varietas yang tahan, tanaman melakukan respon hipersensitif terhadap serangan patogen yaitu kematian yang cepat dan terlokalisir pada bagian tanaman yang terinfeksi, untuk membatasi kolonisasi patogen sehingga perkembangan penyakit dapat dihambat (Goodman dan Novacky, 1994). Terjadinya interaksi antara tanaman inang dan patogen, dimana ras *M. grisea* mengekspresikan gen avirulen (AVR) dan akan dikenali oleh reseptor yang dimiliki tanaman tahan sehingga akhirnya mentrigger pertahanan yang dimediasi gen ketahanan R (Manandhar *et al.* 1999; Silue *et al.* 1992).

Tabel 4. Kejadian dan Kearahan Penyakit (%) Varietas Padi terhadap ras *P. grisea*

Varietas	Kejadian*		Keparahan*	
	ras 133	ras 033	ras 133	ras 033
Grogol	44.6 b	66.7 cd	4.9 c	7.4 d
Padai Mas	50.9 b	47.9 d	5.7 c	8 d
Gampai	69.4 ab	69.1 bcd	7.7 c	7.7 d
Nippon Blas	100 a	100 a	72.4 a	65.2 abc
Kencana Bali	100 a	100 a	73.2 a	66.4 ab
Silugonggo	100 a	100 a	77 a	77.1 a
Dodokan	100 a	96.7 ab	52.4 b	51.2 c
Sao	47.8 b	90.5 abc	6.1 c	16.8 d
Gemija Jyanam	91.2 a	82.8 abc	14.9 c	14 d
Nan Guangzhan	100 a	100 a	72.7 a	57.2 bc

*Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut BNT 5%.

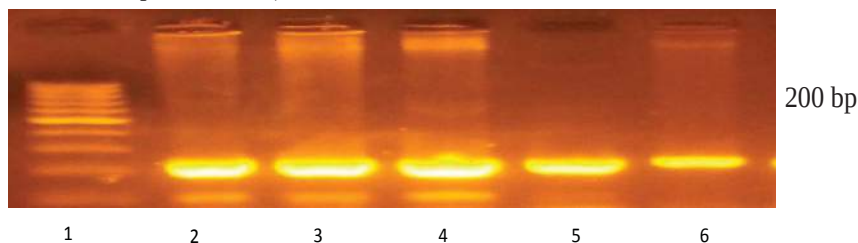
Kejadian penyakit pada ras 133 berkisar antara 44.6-100%, sedangkan pada ras 033 adalah 47.9-100%. Kejadian penyakit pada varietas yang rentan dan agak rentan dapat mencapai 100% baik pada ras 133 maupun 033, dan berbeda nyata dibandingkan varietas tahan. Namun demikian, kejadian penyakit pada varietas tahan tergolong sedang dan cukup tinggi, bahkan pada varietas agak tahan Gemija Jyanam pada ras 133 dan 033 berturut-turut mencapai 91.2 dan 82.8%. Besarnya nilai kejadian penyakit pada beberapa varietas tahan dan agak tahan disebabkan karena pengukuran atau penilaian kejadian penyakit merupakan proporsi individual inang atau organ tanaman yang terserang penyakit tanpa memperhatikan seberapa berat penyakit. Pada varietas tahan dan agak tahan, sebagai contoh Gemija Jyanam, hampir semua sampel terkena penyakit blas tetapi keparahan yang terjadi rendah.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa keparahan penyakit pada varietas tahan berbeda nyata dibandingkan varietas rentan dan mempunyai kecenderungan adanya korelasi yang positif antara ketahanan varietas dan keparahan penyakit. Pada ras 133, keparahan penyakit varietas rentan dan agak rentan antara 52.4-73.2%, sedangkan pada varietas agak tahan, keparahan penyakit tertinggi pada varietas Gemija Jyanam yaitu 14.9%. Pada varietas tahan keparahan penyakitnya di bawah 10%. Hal yang sama juga terjadi pada ras 033 (Tabel 4).

Berdasarkan hasil penelitian ketahanan varietas padi terhadap *P.grisea* ras 033 dan 133, dipilih lima varietas yang mempunyai respon ketahanan yang berbeda untuk dilakukan identifikasi gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* yang terdapat pada masing-masing varietas tersebut. Varietas-varietas yang terpilih adalah Grogol dan Gampai mewakili varietas yang tahan, Gemija Jyanam merupakan varietas yang agak tahan, Dodokan untuk varietas agak rentan, dan Silugonggo termasuk varietas rentan.

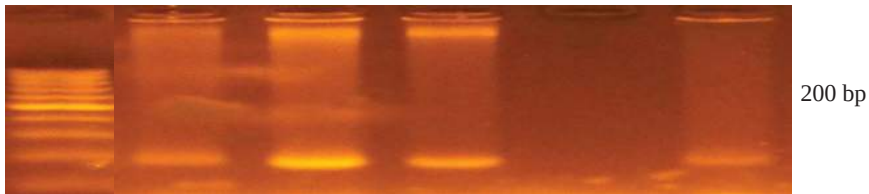
II. Identifikasi Gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* pada Varietas Padi

Hasil identifikasi gen ketahanan dengan menggunakan primer *Pir7* dan *Pi33* menunjukkan bahwa semua varietas yang diuji yaitu Grogol, Gampai, Silugonggo, Dodokan, dan Gemija Jyanam mempunyai gen *Pir7* (Gambar 1). Gen ketahanan *Pir7* didapatkan dari varietas padi liar *Oryza rufipogon* (Dr. Dwinita WU, komunikasi pribadi 2011).



Gambar 1. Hasil amplifikasi DNA tanaman padi dengan menggunakan primer *Pir7*. 1. Marker DNA 100bp, 2. Grogol, 3. Gampai, 4. Silugonggo, 5. Dodokan, 6. Gemija Jyanam.

Di samping gen *Pir7*, varietas Grogol, Gampai, Silugonggo, dan Gemija Jyanam mengandung gen *Pi33* (Gambar 2). Gen ketahanan *Pi33* ditemukan pada beberapa kultivar padi indica semi-dwarf seperti Bala, DJ8-341, IR64, IR1529, IRAT7, Taichung Native 1 (TN1) dan Zhai-Ye-Qing 8 (ZYQ8). Gen ketahanan *Pi33* berhubungan dengan gen avirulen *ACE1* pada *Magnaporthe grisea* (Berruyer *et al.* 2003). Dengan demikian varietas-varietas padi yang diuji secara genetik mempunyai gen ketahanan terhadap penyakit blas.



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA tanaman padi dengan menggunakan primer *Pi33*. 1. Marker DNA 100bp, 2. Grogol, 3. Gampai, 4. Silugonggo, 5. Dodokan, 6. Gemija Jyanam.

III. Hubungan antara gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* pada tanaman padi dengan ras *P. grisea* 033 dan 133

Berdasarkan hasil percobaan ketahanan varietas padi terhadap *P. grisea* ras 033 dan 133, dan identifikasi gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7*, diduga bahwa sifat ketahanan varietas Grogol dan Gampai, atau varietas agak tahan Gemija Jyanam terhadap penyakit blas ras 133 dan 033 tidak dikendalikan gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7* atau ada gen ketahanan lain yang terdapat pada varietas Grogol, Gampai, dan Gemija Jyanam yang mengendalikan ketahanan terhadap ras 133 dan 033. Hal ini disebabkan karena varietas Silugonggo yang merupakan varietas rentan terhadap ras 133 dan 033 juga mempunyai gen ketahanan *Pi33* dan *Pir7*. Hasil penelitian Santoso (2005), menunjukkan bahwa varietas Grogol mengandung gen ketahanan terhadap penyakit blas *Pib* dan *Pita*.

KESIMPULAN

1. Varietas Grogol, Padai Mas dan Gampai tahan terhadap ras 133 dan 033, varietas Sao tahan terhadap ras 133 dan agak tahan terhadap ras 033, dan varietas Gemija Jyanam agak tahan terhadap ras 133 dan 033.
2. Varietas Grogol, Gampai, Silugonggo, dan Gemija Jyanam mengandung gen *Pir7* dan *Pi33*, varietas Dodokan mempunyai gen *Pir7*.
3. Sifat ketahanan terhadap *P. grisea* ras 133 dan 033 tidak dikendalikan oleh gen *Pir7* dan *Pi33*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. The 5th Edition. Elsevier Academic Press.
- Amir M, Nasution A, Santoso, and Curtois B. 2001. Pathogenicity of four blast races isolated from IR64. P. 47-54. In. Kardin MK, Prasadja I, Syam M. (eds.) Upland Rice Research in Indonesia: current Status and Future Direction. CRIFC-IRRI Collaborative Research. Central Research institute for Food Cropd. Bogor. Indonesia.
- Baker B, Zambryski P, Staskawics B, and Dinesh-Kumar SP. 1997. Signaling in Plant-Microbe Interactions. Science. 276:726-733.
- Bent AF. 1996. Plant disease resistance genes: function meets structure. Plant Cell 8: 1757–1771.
- Berruyer R, Adreit H, Milazzo J, Gaillard S, Berger A, Dioh W, Lebrun MH, and Tharreau D. 2003. Identification and fine mapping of PI33, the rice resistance gene corresponding to the Magnaporthe grisea avirulence gene ACE1.
- Bonman JM. 1992. Blast. Pages 14-16 in: Compendium of Rice Diseases. Webster RK, Gunnel PS. eds. The American Phytopathological Society. St. Paul. MN.
- Bryan GT, Wu KS, Farrall L, Jia YL, Hershey HP, McAdams SA, Faulk KN, Donaldson GK, Tarchini R, and Valent B. 2000. A single amino acid difference distinguished resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta*. Plant Cell. 12:2033-2046.
- Chen X, Shang J, Chen D, Lei C, Zou Y, Zhai W, Liu G, Xu J, Ling Z, Cao G, Ma B, Wang Y, Zhao X, Li S, and Zhu L. 2006. A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. Plant Journal 46: 794-804
- Dellaporta SL, Wood J, and Hicks JB. 1983. A plant DNA miniprepation version II. Plant. Mol. Biol. Rep. 1(4):19-21.
- Ezuka . 1972. Field resistance of rice varieties to blast disease. Rev. Plant Protect. Res. (Tokyo) S. 1-21
- Goodman RN and Novacky AJ. 1994. Hypersensitive reaction in plants to pathogens. St Paul, MN: APS Press;
- [IRRI] International Rice Research Institute. 2014. Standard evaluation system for rice. 5th ed. IRRI. Philippines. 57p.
- Kato H. 1976. Some topic in a disease sysle of rice blast and climatic factors. Proceeding of the symposium on climatic and rice. Los Banos, Philippines. P.417-425.

- Kiyosawa S. 1981. Gene analysis for blast resistance. *Oryza* 18: 196-203
- Liu X, Yang Q, Lin F, Hua L, Wang C, Wang L, and Pan Q. 2007. The *in silico* map-based cloning of *Pi36*, a rice coiled-coiled-nucleotide-binding site-leucine-rich repeat gene that confers race specific resistance to the blast fungus. *Genetics*. 176:2541-2549.
- Mackill DJ and Bonman J M. 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathology* 82: 746-749
- Manandhar HK, Mathur SB, Smedegaard-Petersen V, and Thordal-Christensen H.1999. Accumulation of transcripts for pathogenesis-related proteins and peroxidase in rice plants triggered by *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris sorokiniana* and UV light. *Physiol Mol Plant Pathol* 55:289–95.
- Ou SH. 1985. Rice diseases. 2nd ed. Kew, England: Commonw. Mycology institute, Surrey, England.
- Qu S, Liu G, Zhou B, Bellizzi M, Zeng L, Dai L, Han B, and Wang GL. 2006. The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice. *Genetics* 172: 1901-14
- Ramli M, Aswindinnoor H, Amir M, dan Yudiwanti. 2000. Evaluasi Ketahanan terhadap blas daun dan blas leher malai serta dinamika respon sifat tahan selama pertumbuhan tanaman padi. Prosiding Kongres Nasional XV. PFI, Purwokerto. P. 51-57.
- Roumen EC. 1993. Latent periode of leaf blast in rice and its important as a component of partial resistance. P.31-38. *In*. partial resistance in rice to blast and how to select for it. Netherlands.
- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, Tharreau D, Berruyer R, Svestasrani P, Garsmeur O, Ghesquiere A, and Notteghem J-L. 2003. Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet* 104: 97-103
- Santoso. 2005. Analisis ketahanan 28 genotipe padi terhadap penyakit blas daun dan hubungannya dengan keberadaan gen *Pib* dan *Pita*. [Tesis]. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Santoso. 2009. Diversity studies on blast race and resistance of rice germplasm in Indonesia. Working Report for JIRCAS Visiting Research Fellowship Program from October 2008-September 2009. Japan International Research Center for Agricultural Sciences. Tsukuba. Japan.
- Silue D, Nottenghem JL, and Tharreau D. 1992. Evidence for a gene-for-generelationship in the *Oryza sativa*-*Magnaporthe grisea* pathosystem. *Phytopathology* 82:577–80.

- Wang ZX, Yano M, Yamanouchi U, Iwamoto M, Monna L, Hayasaka H, Katayose Y, and Sasaki T. 1999. The Pib gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes. *Plant J* 19: 55-64
- Zhou B, Qu Q, Liu G, Dolan M, Sakai H, Lu G, Bellizzi M, and Wang GL. 2006. The eight amino acid differences within three leucine-rich repeats between Pi2 and Piz-t resistance proteins determine the resistance specificity to *Magnaporthe grisea*, *Mol. Plant-Microbe Interaction*. 19(11): 1216-1228.