Seleksi in Vitro Batang Bawah Jeruk Japansche Citroen pada Kondisi Cekaman Kekeringan

In Vitro Selection of Citrus Rootstock Japansche Citroen in Drought Stress Condition

Nyssa Azaria Dewani¹, Megayani Sri Rahayu^{2*}

¹Program Studi Agronomi dan Hortikultura Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor (IPB *University*)

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, (IPB *University*)

Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

*Penulis Korespondensi: megayani@apps.ipb.ac.id

Disetujui: 6 Desember 2022 / Published Online Januari 2023

ABSTRACT

Citrus rootstock varieties are expected to be well adapted to various environmental stress conditions. In vitro selection using polyethylene glycol (PEG) can be used to obtain drought stress tolerant individual. The objective of the experiment was to study the effect of using PEG a selector agent on the growth of the citrus Japanche Citroen variety on in vitro drought stress conditions. The experiment was conducted at Tissue Culture 1 Laboratory, Department of Agronomy and Horticulture, IPB University, Bogor. The experiment was started on December 2019 until February 2021. The experiment used a randomized complete block design with one factor, PEG concentration which had four levels: 0%, 5%, 10%, and 15%. The results showed that the number of leaves, number of roots, and explant height of citrus rootstock decreased in response to the addition of 5–15% PEG to in vitro media. PEG did not affect significantly the contamination percentage, survival percentage, and length of root.

Keywords: contamination, phytotoxic, polyethylene glycol

ABSTRAK

Varietas batang bawah jeruk diharapkan dapat beradaptasi dengan baik dalam berbagai kondisi cekaman lingkungan. Seleksi *in vitro* menggunakan polietilen glikol (PEG) dapat digunakan untuk memperoleh individu dengan toleran terhadap kekeringan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penggunaan PEG sebagai agen penyeleksi terhadap pertumbuhan jeruk varietas Japansche Citroen pada kondisi cekaman kekeringan secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan 1, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor, Bogor. Penelitian dimulai pada bulan Desember 2019 hingga Februari 2021. Penelitian ini menggunakan metode rancangan kelompok lengkap teracak faktor tunggal yaitu konsentrasi PEG dengan empat taraf: 0%, 5%, 10%, dan 15%. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah daun, jumlah akar, dan tinggi eksplan batang bawah jeruk menurun sebagai respon terhadap penambahan 5–15% PEG. PEG tidak berpengaruh nyata terhadap persentase kontaminasi, persentase hidup eksplan, dan panjang akar.

Kata kunci: fitotoksik, kontaminasi, polietilen glikol

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan salah satu komoditas unggulan buah-buahan tahunan Indonesia. Jenis jeruk yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah jeruk siam, jeruk keprok, dan jeruk besar. Produksi jeruk di Indonesia pada tahun 2019 mencapai 2,563,000 ton. Jumlah ini meningkat 2.11% dari tahun sebelumnya yaitu 2,510,000 ton (Badan Pusat Statistik, 2020).

Jeruk dapat dikembangbiakan melalui biji, stek tunas, grafting, okulasi, dan cangkok (Berk, 2016). Jeruk juga dapat dikembangbiakan secara bioteknologi melalui micropropagation, organogenesis, embriogenesis, dan lain sebagainya (Germanà et al., 2020). Jenis perkembangbiakan yang paling banyak digunakan dalam budi daya jeruk saat ini adalah okulasi (Bowman dan Joubert, 2020). Okulasi adalah suatu teknik perbanyakan secara vegetatif yang dilakukan dengan cara menempelkan mata tunas entres dari satu tanaman ke batang bawah tanaman sejenis dengan tujuan mendapatkan sifat unggul seperti hasil produksi yang tinggi, buah manis, perakaran kuat, dan toleran terhadap hama serta penyakit (Toruanmathius et al., 2016). Mata tunas entres atau batang atas yang digunakan memiliki kuantitas dan kualitas produksi yang baik, sedangkan batang bawah yang digunakan memiliki karakter berupa perakaran yang kuat, tahan penyakit, dan mampu beradaptasi pada berbagai kondisi lingkungan. Jenis jeruk yang banyak digunakan sebagai batang bawah di Indonesia yaitu Japansche Citroen (JC) dan Rough Lemon (RL) (Poerwanto et al., 2002).

Perkembangan buah jeruk dipengaruhi oleh ketersediaan air. Saat tanaman jeruk kekurangan air, fotosintesis pun terhambat. Suplai karbohidrat pada buah berkurang sehingga buah jeruk berhenti berkembang. Tanaman jeruk yang terkena cekaman kekeringan, memanfaatkan buahnya menjadi sumber makanan dan air. Hal ini menyebabkan ukuran buah menjadi lebih kecil. Kekurangan air juga dapat mengurangi turgiditas dan konsistensi kulit jeruk sehingga buah lebih rentan rusak. Kualitas visual buah jeruk pun menurun dan mengurangi minat konsumen (Agusti *et al.*, 2014). Oleh karena itu, perlu dilakukan seleksi pada batang bawah yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

Salah satu jenis seleksi cekaman kekeringan yang dapat dilakukan adalah seleksi secara *in vitro*. Seleksi cekaman kekeringan secara *in vitro*, dapat dilakukan dengan menambahkan polietilen glikol (PEG) pada media. PEG merupakan polimer yang sering digunakan sebagai pelarut dalam industri kimia dan farmasi (Liao dan Syu, 2009). PEG juga digunakan sebagai agen penyeleksi tanaman

terhadap cekaman kekeringan karena dapat menurunkan potensial air pada media (Badami dan Amzeri, 2010). Ketika potensial air pada media lebih rendah dibandingkan potensial air pada jaringan akar tanaman, akar tanaman tidak dapat menyerap air dari media. Kondisi ini sama dengan kondisi saat tanaman kekurangan air. Salah satu jenis agen penyeleksi lain yang dapat digunakan adalah sorbitol (Albiski *et al.*, 2012).

Aplikasi PEG untuk seleksi cekaman kekeringan pada berbagai macam spesies tanaman sudah banyak digunakan. Adiyanti (2013) dalam penelitiannya menggunakan **PEG** menyeleksi tiga varietas jeruk (Rough Lemon, Kunci-10, dan Nipis). Ketiga varietas yang diuji mampu bertahan hidup pada tingkat cekaman 2% sampai 6%. Semakin tinggi konsentrasi PEG, pertumbuhan tanaman jeruk semakin menurun yang dibuktikan dengan penurunan rataan tinggi, jumlah daun, jumlah akar, dan panjang akar. Siaga (2014) menyeleksi enam belas nomor tanaman terung menggunakan PEG, hasilnya penambahan PEG menurunkan persentase hidup eksplan, pertambahan tinggi tunas, persentase eksplan berkalus, dan jumlah daun. Jothimani dan Arulbalachandran (2020) mempelajari mekanisme adaptasi black gram pada cekaman kekeringan, bahwa peningkatan konsentrasi PEG menyebabkan menurunnya bobot segar, bobot kering, dan kandungan air relatif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh penggunaan penyeleksi PEG sebagai agen terhadap pertumbuhan jeruk varietas Japanche Citroen pada kondisi cekaman kekeringan secara in vitro.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan 1 Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, pada bulan Desember 2019 hingga Februari 2021. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah stek buku dari planlet jeruk hasil semai dalam media in vitro. Varietas tanaman jeruk yang digunakan yaitu varietas tanaman batang bawah Japansche Citroen (JC). Bahan tanaman berupa biji jeruk diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, Kota Batu, Jawa Timur. Bahan-bahan laboratorium yang digunakan dalam penelitian vaitu media Murashige-Skoog (MS), polietilen glikol (PEG) 6000, sukrosa, akuades steril, busa, plastik, plastic agar-agar, deterien, bakterisida wrap, (Streptomisin sulfat 20%), fungisida (Mankozeb 80%), HCl, NaOH, NAA, alkohol, dan klorox. Alat-alat yang digunakan adalah *laminar air flow* cabinet (LAFC), autoklaf, botol kultur, gelas ukur, mikropipet, timbangan analitik, cawan petri, *scalpel*, pinset, gunting, pisau, bunsen, pH meter, *magnetic stirrer*, dan *handsprayer*.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak (RKLT) dengan satu faktor perlakuan yaitu konsentrasi PEG, yang terdiri dari empat taraf: 0% (0 g L⁻¹, kontrol), 5% (50 g L⁻¹), 10% (100 g L⁻¹), dan 15% (150 g L⁻¹). Penelitian ini memiliki empat taraf perlakuan dan 10 ulangan, sehingga didapatkan 40 satuan percobaan. Satu satuan percobaan terdiri dari satu botol dengan tiga eksplan di dalamnya.

Penelitian diawali dengan sterilisasi alat yang dicuci bersih dengan deterjen dan disterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam. Media yang digunakan adalah media Murashige-Skoog (MS) yang dibagi menjadi dua jenis yaitu media pengecambahan dan media perlakuan. Media MS setengah konsentrasi (½ MS) digunakan sebagai media pengecambahan. Media perlakuan berupa media cair MS yang ditambahkan 2 ppm NAA dan polietilen glikol (PEG). Larutan media dimasak dan dituang ke dalam botol kultur yang diisi busa yang sebelumnya sudah disterilisasi.

Persiapan bahan tanam dimulai dengan sterilisasi biji jeruk yang dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama, sterilisasi dilakukan di luar laminar air flow cabinet (LAFC). Biji jeruk dikupas kulit kerasnya, dicuci di dalam larutan deterjen lalu dibilas dengan akuades steril hingga licin pada kulit biji berkurang. Biji jeruk kemudian direndam dalam larutan Streptomisin sulfat (bakterisida) dan Mankozeb (fungisida) selama 16 jam. Biji jeruk dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali, ditiriskan, lalu disimpan dalam botol tertutup. Sterilisasi tahap kedua dilakukan di dalam LAFC. Biji jeruk direndam dalam larutan Klorox 30% selama 15 menit lalu dibilas satu kali dengan akuades steril. Biji jeruk lalu direndam dalam larutan Klorox 15% selama 5 menit dan dibilas tiga kali dengan akuades steril.

Biji jeruk yang telah disterilisasi lalu ditanam pada media pengecambahan. Setiap satu botol ditanami tiga biji jeruk. Botol kultur kemudian disimpan di ruang kultur dengan suhu konstan 20 °C dan dalam keadaan gelap untuk mempercepat pengecambahan. Botol dengan biji jeruk yang telah berkecambah, dipindahkan ke rak kultur yang terang agar tidak mengalami etiolasi. Eksplan yang ditanam pada media perlakuan adalah stek buku dari planlet jeruk hasil semai. Satu botol ditanami tiga eksplan stek buku. Botol yang telah ditanami eksplan disimpan pada ruang kultur dengan suhu konstan 20 °C. Eksplan diamati selama 24 minggu. Peubah yang diamati dalam percobaan yaitu persentase eksplan terkontaminasi, persentase hidup eksplan, jumlah daun, tinggi

eksplan, jumlah akar, dan panjang akar.

Data yang diperoleh selanjutnya diolah menggunakan *software* Microsoft Excel dan SAS. Data dianalisis dengan melakukan uji F pada taraf nyata $\alpha = 5\%$. Jika perlakuan berpengaruh nyata, akan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf nyata $\alpha = 5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Percobaan

dalam penelitian Bahan tanam menggunakan stek buku dari planlet jeruk Japansche Citroen (JC). Persiapan bahan tanam diawali dengan menyemai biji jeruk secara in vitro. Benih jeruk yang sudah disterilisasi, disemai pada media padat 1/2 MS. Benih yang berkecambah lalu berkembang menjadi planlet jeruk. Eksplan stek buku diambil dari planlet jeruk berumur 7 bulan, ditanam di media perlakuan. Kontaminasi sering ditemukan pada kultur jaringan. Menurut Cassells (1991), sumber kontaminan pada kultur jaringan dapat dibagi menjadi dua. Pertama, kontaminan dapat bersumber dari permukaan atau dari dalam jaringan eksplan. Kedua, kontaminan dapat bersumber dari lingkungan, misalnya keadaan laboratorium dan penggunaan alat yang tidak steril dapat menyebabkan kontaminan masuk ke dalam botol kultur. Media kultur jaringan menyediakan berbagai nutrisi esensial yang dibutuhkan untuk multiplikasi sel. Nutrisi esensial tersebut juga dapat menjadi media kultur terbaik untuk pertumbuhan kontaminan (Coreill, 1973).

Hasil pengamatan dari minggu pertama hingga minggu terakhir ditemukan beberapa eksplan terkontaminasi. Kontaminasi yang ditemukan pada eksplan adalah kontaminasi yang diakibatkan oleh cendawan (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase kontaminasi eksplan pada berbagai konsentrasi PEG

Perlakuan	Persentase kontaminasi (%)
Kontrol	10.00
PEG 5%	10.00
PEG 10%	40.00
PEG 15%	30.00
P	0.3296 ^{tn}
KK (%)	26.81 ^{T2}

 $\begin{array}{lll} \mbox{Keterangan:} & P = \mbox{probabilitas;} & tn = \mbox{tidak berpengaruh} \\ & \mbox{nyata pada taraf 5\%;} & \mbox{KK} = \mbox{koefisien keragaman;} \\ \end{array}$

T2 = hasil transformasi $\sqrt{x + 0.5}$

Tabel 1 menunjukkan bahwa persentase kontaminasi terbesar ditemukan pada media PEG 10%, yaitu 40.00%. Persentase kontaminasi pada media kontrol dan 5% PEG sebesar 10.00%. Media dengan 15% PEG memiliki persentase kontaminasi sebesar 30.00%, tetapi berdasarkan uji F konsentrasi PEG tidak berpengaruh nyata terhadap persentase kontaminasi pada eksplan.

Jumlah Daun

Perbedaan konsentrasi **PEG** tidak memberikan pengaruh nyata secara statistik terhadap jumlah daun pada 6 MSK, tetapi berpengaruh nyata terhadap jumlah daun saat 12 MSK, dan berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah daun saat 18 MSK dan 24 MSK (Tabel 3). Jumlah daun paling banyak pada 12 MSK didapatkan dari eksplan pada media tanpa PEG yaitu 2.26. Jumlah ini tidak berbeda nyata dengan jumlah daun eksplan pada media dengan 10% PEG, tetapi berbeda nyata dengan eksplan pada media 5% dan 15% PEG. Saat 18 MSK dan 24 MSK eksplan pada media tanpa PEG memiliki jumlah daun paling banyak berturut-turut yaitu 3.09 dan 4.15. Jumlah ini berbeda nyata dengan jumlah daun eksplan pada media yang mengandung PEG.

Tabel 2 menunjukkan penambahan 5–15% PEG dapat menurunkan jumlah daun sebesar 51.81% hingga 62.17% dibandingkan dengan media tanpa PEG. Antonić et al. (2016)menyatakan bahwa pemberian 3% PEG pada media dapat menurunkan jumlah daun tanaman *Impatiens* walleriana L sebesar 54.00% dibandingkan dengan kontrol. Varietas batang bawah Rangpur Lime (Japansche Citroen) dan Swingle citrumelo menunjukkan efek fitotoksik akibat penggunaan PEG. Awalnya daun

mengalami gejala klorosis ringan tanpa perubahan ukuran dan bentuk daun. Selanjutnya gejala semakin parah dengan menggulungnya daun, diikuti nekrosis dan daun pun gugur (Girardi *et al.*, 2018). Efek fitotoksik juga ditemukan pada penelitian Zekri (1991). Jeruk masam dan cleopatra mandarin yang ditanam pada media dengan PEG mengalami defisiensi N dan Mg, tetapi terjadi peningkatan kandungan Zn, Mn, dan Fe dalam daun yang tinggi. Tanaman *Citrus volkameriana* L. yang memiliki kandungan Mn yang tinggi pada daun, menunjukkan penurunan kandungan klorofil (Papadakis *et al.*, 2007).

Tinggi Eksplan, Jumlah Akar, dan Panjang Akar

Pengamatan peubah tinggi eksplan, jumlah, panjang akar merupakan pengamatan dekstruktif sehingga dilakukan di minggu terakhir pengamatan yaitu 24 MSK. Data pada Tabel 3 menunjukkan perbedaan konsentrasi **PEG** berpengaruh nyata terhadap tinggi eksplan. Media tanpa PEG memiliki tinggi eksplan paling tinggi yaitu 1.04 cm. Tinggi eksplan pada media ini berbeda nyata dengan tinggi eksplan pada media yang ditambahkan PEG. Penambahan 5–15% PEG pada dapat menurunkan tinggi eksplan jeruk sebesar 41.35% hingga 50.00%. Zekri (1991) menyatakan bahwan penambahan PEG pada media mengurangi pertumbuhan tinggi tanaman jeruk masam dan cleopatra mandarin hingga 40%. Menurut Antonić et al. (2016), tinggi tanaman Impatiens walleriana L menurun sebesar 50.20% dibandingkan dengan kontrol saat diberikan 3% PEG. Burnett et al. (2005) menyatakan bahwa penambahan **PEG** menyebabkan tanaman *Impatiens* wallerina lebih pendek 68% dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 2. Rata-rata jumlah daun per eksplan pada berbagai konsentrasi PEG

Perlakuan	Minggu Setelah Kultur (MSK)				
	6	12	18	24	
	Jumlah daun per eksplan				
Kontrol	1.47	2.26a	3.09a	4.15a	
PEG 5%	1.26	1.48b	1.63b	1.57b	
PEG 10%	1.38	1.67ab	1.83b	2.00b	
PEG 15%	1.15	1.39b	1.44b	1.61b	
P	0.4492 ^{tn}	0.0374*	0.0007**	0.0007**	
KK (%)	15.59 ^{T1}	15.82 ^{T1}	15.33 ^{T1}	19.71 ^{T2}	

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan uji DMRT; P = probabilitas; tn: tidak berpengaruh nyata pada taraf 5%; * = berpengaruh nyata pada taraf 5%; ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf 1%; KK = koefisien keragaman; T1 = hasil transformasi $\sqrt{x} + 0.25$; T2 = hasil transformasi $\sqrt{x} + 0.5$

 0.3055^{tn}

 25.96^{T4}

Perlakuan	Tinggi eksplan (cm)	Jumlah akar	Panjang akar (cm)
Kontrol	1.04a	1.46a	4.59
PEG 5%	0.61b	0.56b	2.76
PEG 10%	0.52b	0.44b	2.26
PEG 15%	0.56b	0.67b	2.38

Tabel 3. Rata-rata tinggi eksplan, jumlah, dan panjang akar per eksplan pada berbagai konsentrasi PEG

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan uji DMRT; P: probabilitas; tn: tidak berpengaruh nyata pada taraf 5%; *: berpengaruh nyata pada taraf 5%; KK: koefisien keragaman; T1: hasil transformasi $\sqrt{x+0.25}$; T3: hasil transformasi $\sqrt{x+1}$; T4: hasil transformasi $\sqrt{x+2}$

 0.0361^*

18.94^{T3}

Hasil Uji F pada Tabel 3 menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi PEG berpengaruh nyata terhadap jumlah akar. Media tanpa PEG memiliki jumlah akar terbanyak yaitu 1.46. Jumlah akar pada media ini berbeda nyata dengan media vang ditambahkan PEG. Penambahan 5-15% PEG pada media dapat menurunkan jumlah akar eksplan jeruk sebesar 54.11% hingga 69.86%. Pradhan et al. (2020) menyatakan bahwa jumlah akar tanaman Stevia rebaudiana pada media dengan PEG 10% berkurang 47.80% dibandingkan dengan media tanpa PEG. Tsago et al. (2014) menyampaikan hasil penelitian yang berbeda yaitu peningkatan konsentrasi PEG menambah jumlah akar beberapa genotipe tanaman sorghum. Peningkatan ini diduga sebagai respon atas defisit air sehingga tanaman berusaha memperbanyak penyerapan air dengan menambahkan jumlah akar.

KK (%)

 0.0407^*

16.83^{T1}

Perlakuan kontrol memiliki panjang akar eksplan terpanjang (Tabel 3), tetapi berdasarkan uji F penambahan 5-15% PEG pada media tidak berpengaruh nyata terhadap panjang akar per eksplan. Halo et al. (2020) mengungkapkan bahwa panjang akar tanaman tomat yang ditambahkan 15% PEG tidak berbeda nyata dengan panjang akar tanaman kontrol. Hasil yang berbeda didapatkan dari penelitian Tang et al. (2019) yang menyatakan bahwa penambahan 10% dan 20% mempengaruhi panjang akar tanaman (Hibiscus cannabinus L.) secara signifikan. Penambahan PEG dapat menurunkan panjang akar hingga 39.80%. Albiski et al.(2012)bahwa mengemukakan kekeringan dapat mengurangi panjang dan ketebalan akar berbagai genotipe kentang lokal Syria.

PEG sering digunakan untuk mempelajari pengaruh cekaman kekeringan pada pertumbuhan tanaman secara *in vitro*. Penambahan PEG pada larutan dapat menurunkan nilai potensial air larutan. Setiap peningkatan konsentrasi PEG, nilai potensial air larutan semakin negatif (Steuter *et al.*, 1981). Penambahan PEG pada media *in vitro*

menghambat pertumbuhan eksplan jeruk Japansche Citroen. Pemanjangan sel dihambat oleh tekanan turgor yang menurun. Penyerapan air yang berkurang menyebabkan kandungan air dalam jaringan tanaman menurun. Penyerapan nutrisi oleh akar menjadi terbatas dan pengangkutan nutrisi menuju bagian lain terganggu. Tanaman merespon kurangnya ketersediaan air dengan mengurangi transpirasi dengan menutup stomata. Fotosintesis terpengaruh karena penyerapan juga karbondioksida berkurang. Cekaman kekeringan menurunkan aktifitas metabolisme tanaman yang diperlukan untuk pembelahan sel, sehingga pertumbuhan tanaman pun terhambat (Farooq et al., 2009).

KESIMPULAN

Kesimpulan

Penggunaan PEG sebagai agen penyeleksi terhadap cekaman kekeringan memberikan pengaruh yang berbeda pada beberapa karakter pertumbuhan jeruk Japanche Citroen. Penambahan 5-15% PEG pada media in vitro menurunkan jumlah daun, tinggi eksplan, dan jumlah akar varietas batang bawah jeruk Japansche Citroen PEG. dibandingkan dengan media tanpa Penambahan PEG tidak berpengaruh terhadap persentase kontaminasi dan panjang akar.

Saran

Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan menggunakan beberapa varietas batang bawah jeruk yang berbeda dan rentang konsentrasi PEG yang berbeda. Peubah yang diamati dapat ditambahkan dengan peubah yang lain seperti bobot tanaman dan akar (basah dan kering), kandungan air, warna daun, kandungan klorofil, dan lain sebagainya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyanti, D.R. 2013. Seleksi kekeringan pada beberapa varietas batang bawah jeruk secara in vitro [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Agusti, M., C. Mesejo, C. Reig, A. Martinez-Fuentes. 2014. Citrus Production. Di dalam: Dixon GR, Aldous DE, editor. Horticulture: Plants for People and Places, Volume I. Dordrecht: Springer Netherlands. hlm 159–195.
- Albiski, F., S. Najla, R. Sanoubar, N. Alkabani, R. Murshed. 2012. In vitro screening of potato lines for drought tolerance. Physiol Mol Biol Plants. 18(4):315–321. doi:10.1007/s12298-012-0127-5.
- Antonić, D., S. Milošević, A. Cingel, M. Lojić, M. Trifunović-Momčilov, M. Petrić, A. Subotić, A. Simonović. 2016. Effects of exogenous salicylic acid on *Impatiens walleriana* L. grown in vitro under polyethylene glycol-imposed drought. South African J Bot. 105:226–233. doi:10.1016/j.sajb.2016.04.002.
- Badami, K., A. Amzeri. 2010. Seleksi in vitro untuk toleransi terhadap kekeringan pada jagung (*Zea mays* L.) dengan polyethylene glycol (PEG). Agrovigor. 3(1):77–86.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2020. Produksi Tanaman Buah-buahan 2019. [diakses 2021 Apr 26].https://www.bps.go.id/indicator/55/62/1 /produksi-tanaman-buah-buahan.html.
- Berk, Z. 2016. Citrus Fruit Processing. London: Academic Press.
- Bowman, K.D., J. Joubert. 2020. Citrus rootstocks. Di dalam: Talon M, Caruso M, Gmitter FG, editor. The Genus Citrus. Elsevier. hlm 105–127.
- Burnett, S., M. Van Iersel, P. Thomas. 2005. PEG-8000 alters morphology and nutrient concentration of hydroponic impatiens. HortScience. 40(6):1768–1772. doi:10.21273/hortsci.40.6.1768.
- Cassells, A.C. 1991. Problems in tissue culture: culture contamination. Di dalam: Debergh PC, Zimmerman RH, editor. Micropropagation. Dordrecht: Springer. hlm 31–44.
- Coreill, L.L. 1973. Methods of prevention of bacterial, fungal, and other contaminations. Di dalam: Fogh J, editor. Contamination in Tissue Culture. London: Academic Press Inc. hlm 29–49.

- Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita, S.M.A. Basra. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms, and management. Agron Sustain Dev. 29:185–212.
- Germanà, M.A., P. Aleza, J.W. Grosser, M. Dutt, N. Wang, J. Cuenca, P. Kaur. 2020. Citrus biotechnology. in: Talon M, Caruso M, Gmitter FG, editor. The Genus Citrus. Elsevier. hlm 171–192.
- Girardi, E.A., A.D. Brandão, R.D. Coelho, H.T.Z. do Couto, M.S. Buckeridge, F. de A.A. Mourão Filho. 2018. Polyethylene glycol damages grafted citrus plants based on biometric, physiological, and biochemical responses. Rev Bras Frutic. 40(6):1–7. doi:10.1590/0100-29452018071.
- Halo, B.A., R.A. Al-Yahyai, A.M. Al-Sadi. 2020. An endophytic *Talaromyces omanensis* enhances reproductive, physiological and anatomical characteristics of drought-stressed tomato. J Plant Physiol. 249:153163. doi:10.1016/j.jplph.2020.153163.
- Jothimani, K., D. Arulbalachandran. 2020. Physiological and biochemical studies of black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) under polyethylene glycol induced drought stress. Biocatal Agric Biotechnol. 29:101777. doi:10.1016/j.bcab.2020.101777.
- Liao, Y.C., M.J. Syu. 2009. Effects of poly(ethylene glycol) and salt on the binding of α-amylase from the fermentation broth of *Bacillus amyloliquefaciens* by Cu2+-β-CD affinity adsorbent. Carbohydr Polym. 77(2):344–350. doi:10.1016/j.carbpol.2009.01.006.
- Maftuchah, A. Zainudin. 2015. In vitro selection of *Jatropha curcas* linn. Hybrids using polyethylene glycol to obtain drought tolerance character. Procedia Chem. 14:239–245. doi:10.1016/j.proche.2015.03.034.
- Papadakis, I.E., A. Giannakoula, C.P. Antonopoulou, M. Moustakas, E. Avramaki, Therios IN. 2007. Photosystem 2 activity of *Citrus volkameriana* (L.) leaves as affected by Mn nutrition and irradiance. Photosynthetica. 45(2):208–213. doi:10.1007/s11099-007-0034-0.
- Poerwanto, R., S. Susanto, S.S. Harjadi. 2002. Pengembangan Jeruk Unggulan di Indonesia. Di dalam: Makalah Semiloka Nasional Pengembangan Jeruk dan Pameran Jeruk Unggulan. Bogor.

- Pradhan, N., P. Singh, P. Dwivedi, D.K. Pandey. 2020. Evaluation of sodium nitroprusside and putrescine on polyethylene glycol induced drought stress in *Stevia rebaudiana* Bertoni under in vitro condition. Ind Crops Prod. 154:112754. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112754.
- Siaga, E. 2014. Seleksi kekeringan in vitro enam belas nomor tanaman terung (*Solanum melongena* L.) dengan polietilena glikol (PEG) [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Steuter, A.A., A. Mozafar, J.R. Goodin. 1981. Water potential of aqueous polyethylene glycol. Plant Physiol. 67(1):64–67. doi:10.1104/pp.67.1.64.
- Tang, D., F. Wei, S. Qin, A. Khan, M.H. Kashif, R. Zhou. 2019. Polyethylene glycol induced drought stress strongly influences seed germination, root morphology and cytoplasm of different kenaf genotypes. Ind Crops Prod. 137:180–186. doi:10.1016/j.indcrop.2019.01.019.

- Toruan-mathius, N., Lizawati, H. Aswidinnoor, I. Boerhendy. 2016. Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim dan protein batang atas pada okulasi tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.). Menara Perkeb. 70(1):20–34.
- Tsago, Y., M. Andargie, A. Takele. 2014. In vitro selection of sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench) for polyethylene glycol (PEG) induced drought stress. Plant Sci Today. 1(2):62–68. doi:10.14719/pst.2014.1.2.14.
- Zekri, M. 1991. Effects of peg-induced water stress on two citrus cultivars. J Plant Nutr. 14(1):59–74. doi:10.1080/01904169109364183.