

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pohon pelawan atau *Tristaniopsis* merupakan salah satu kelompok tumbuhan yang mencakup total 50 spesies yang tersebar secara alami di beberapa wilayah, mulai dari Bulma dan Thailand di utara hingga Malaysia serta meluas ke Australia bagian timur dan Kaledonia Baru (Wibisono et al., 2023). Studi lebih lanjut mengungkapkan bahwa terdapat dua pusat utama keanekaragaman *Tristaniopsis* salah satunya adalah Indonesia, yang berada di Kalimantan dan Kepulauan Bangka Belitung. Di Indonesia sendiri, telah dilaporkan keberadaan tiga spesies *Tristaniopsis*, yaitu *T. merguensis*, *T. whiteana*, dan *T. obovata*. Pulau Bangka merupakan salah satu tempat tumbuh alami *Tristaniopsis* yang memiliki nilai ekologis dan ekonomi yang penting bagi masyarakat setempat (Prihatini et al., 2023). *Tristaniopsis obovata* Benn. atau dikenal dengan nama lokal pelawan kepuh merupakan salah satu anggota famili Myrtaceae, tumbuh subur di hutan Bangka Belitung dan dikenal memiliki karakteristik kayu yang kuat serta beragam manfaat bagi masyarakat setempat (Saputri dan Arsyadi, 2024). Tumbuhan ini lebih banyak tersebar di hutan-hutan Kepulauan Bangka Belitung, tetapi belum semua daerah menjadikan tumbuhan ini untuk dikonservasi secara berkelanjutan atau melalui aturan yang legal seperti Kabupaten Bangka Tengah (Akbarini, 2016). *T. obovata* sebagai spesies kunci yang keberadaannya mendukung kelangsungan spesies lain juga memiliki signifikansi ekologis dan ekonomi yang tinggi bagi masyarakat untuk berbagai keperluan seperti bahan bangunan, pengobatan hingga bahan pangan (Saputri et al., 2023). *T. obovata* memiliki kemampuan menghasilkan jamur konsumsi (*edible mushroom*) melalui simbiosisnya dengan fungi ektomikoriza. Selain itu, bunganya juga menjadi sumber nektar bagi lebah hutan yang kemudian menghasilkan madu pahit dan juga bernilai ekonomi (Budiana et al., 2020). Karena intensitas pemanfaatan kayu tanaman *T. obovata* oleh masyarakat yang tinggi menuntut adanya upaya konservasi serta pengembangan budidaya di luar habitat alaminya (Janaria et al., 2023).

Pengembangan tanaman *T. obovata* oleh masyarakat umumnya dengan membudidayakan pohon tersebut dari bibit anaknya, namun memerlukan cukup waktu untuk memperoleh jenis tumbuhan *T. obovata* yang berkualitas, seragam dan dalam jumlah yang banyak pada waktu yang singkat (Prihatini et al., 2023). Studi tentang tumbuhan *Tristaniopsis* menyebutkan bahwa kecepatan tumbuh bibitnya rendah dan informasi tentang teknik budidaya atau penyemaian masih terbatas (Triadiati et al., 2020). Namun demikian, budidaya tumbuhan *Tristaniopsis* masih lebih banyak mengandalkan pola trubusan, sehingga masih terkonsentrasi pada habitat alaminya (Janaria et al., 2023). Salah satu metode yang dapat diterapkan untuk mengatasi hal tersebut adalah kultur jaringan tumbuhan yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang besar dan tanpa memerlukan jumlah induk yang banyak serta waktu yang relatif singkat (A'ida et al., 2021).

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik yang dirancang agar menghasilkan propagul tanaman secara cepat dan berkualitas yang dikenal dengan istilah multiplikasi. Metode ini memiliki potensi besar dalam berbagai bidang perbanyakan tanaman termasuk kehutanan serta untuk konservasi karena mampu menghasilkan bibit secara cepat, seragam dan bebas patogen (Bao et al., 2024). Salah satu bagian penting metode ini adalah proses multiplikasi, yang dilakukan melalui tahapan subkultur, yaitu pemindahan bahan tanam atau eksplan ke medium baru untuk mempertahankan pertumbuhan, mencegah penurunan vigor, serta mengoptimalkan pembentukan tunas berikutnya (Darlis et al., 2021). Keberhasilan proses multiplikasi tersebut sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pemilihan bahan eksplan, proses sterilisasi, kondisi lingkungan yang tepat (suhu, pH, cahaya), medium dasar serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan (Almeida et al., 2020).

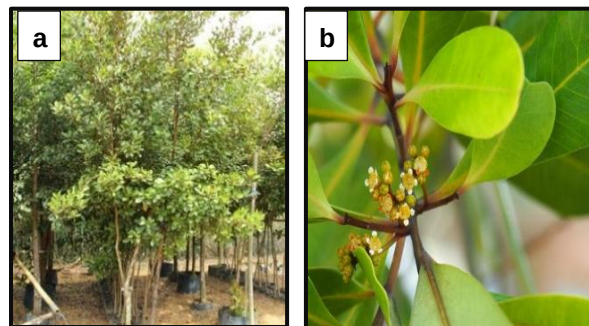
Dalam prosesnya, media dasar berperan penting sebagai sumber nutrisi bagi tanaman. Namun, media dasar masih memerlukan adanya penambahan ZPT (Tuwo et al., 2021) seperti sitokinin untuk memacu pembentukan tunas (Sarianti et al, 2022). ZPT golongan sitokinin yang umum digunakan adalah kinetin atau dengan nama lain *N6-furfuryladenine* yang merupakan turunan adenin yang disubstitusi pada posisi 6 yang paling aktif sebagai sitokinin (Sulichantini et al., 2020). ZPT kinetin mampu mengatur pembelahan sel dan morfogenesis sel (Emeliya et al., 2024). Penelitian sebelumnya pada tanaman *Eucalyptus pellita* (family myrtaceae) menunjukkan bahwa penambahan kinetin dengan beberapa konsentrasi (0; 0,5; 1; dan 2 ppm) ke dalam media kultur mampu memacu proses pembelahan sel (sitokinesis) sehingga sel meningkat. Kinetin mengaktifkan sel pada jaringan meristematik dan memicu pembelahan sel secara intensif. Sel-sel hasil pembelahan tersebut kemudian mengalami penyerapan air yang lebih besar, yang berkontribusi pada pembesaran dan pemanjangan sel, sehingga terjadi peningkatan pertumbuhan tunas dalam kultur *in vitro*. Konsentrasi kinetin yang berbeda akan memberikan pengaruh yang nyata perbedaannya terhadap tahap pertumbuhan kultur (Hartoyo et al., 2018).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian yang memanfaatkan kinetin sebagai ZPT telah dilakukan pada beberapa jenis tanaman dan terbukti berperan dalam meningkatkan multiplikasi tunas. Hingga saat ini, studi mengenai kultur jaringan tanaman *Tristaniaopsis obovata* Benn. masih sangat terbatas. Secara khusus, belum tersedia laporan mengenai konsentrasi kinetin yang efektif dalam mendukung multiplikasi tunas tanaman ini. Oleh karena itu, penelitian ini penting dilakukan untuk menentukan konsentrasi kinetin yang sesuai dalam meningkatkan laju multiplikasi *T. obovata* secara *in vitro*. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah awal bagi pengembangan teknik perbanyakan *T. obovata* melalui pemanfaatan eksplan pucuk dan penggunaan kinetin sebagai zat pengatur tumbuh pada konsentrasi yang tepat dalam media pertumbuhan *in vitro*.

1.2 Teori

Tristaniopsis obovata Benn. memiliki karakteristik (**Gambar 1**) berupa bunga yang berwarna putih, memiliki banyak benang sari, daun sederhana bertepi rata, serta permukaan batang yang berkayu. Spesies ini juga dikenal dengan ciri khas aromatiknnya, di mana daun akan mengeluarkan aroma segar ketika diremas akibat keberadaan bintik-bintik transparan (*pellucid gland dots*) pada jaringannya serta bersifat tidak bergetah (Wibisono et al., 2023), dengan panjang pohon berkisaran 20 hingga 80 meter, kulit kayunya cenderung terkupas, daun yang menyirip dan mengandung fenolik yang tinggi baik untuk kesehatan (Herawati dan Yusfarani, 2023). Habitat *T. obovata* pada daerah rawa-rawa yang lembab, pohonnya memiliki diameter rata-rata 15 hingga 30 cm yang keras dan kuat (Devi et al., 2021). Adapun klasifikasi *T. obovata* sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 2016; Budiana et al., 2020):

Regnum : Plantae
 Divisio : Spermatophyta
 Classis : Dicotyledonae
 Ordo : Myrtales
 Familia : Myrtaceae
 Genus : *Tristaniopsis*
 Species : *Tristaniopsis obovata* Benn.



Gambar 1. Morfologi tanaman *T. obovata*,
 (a) Pohon, (b) Daun dan bunga
 (Sumber: National Parks Board, 2025).

Tumbuhan *T. obovata* banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti mengobati tekanan darah tinggi, demam, cacar, serta mengobati kencing batu, beberapa masyarakat seperti daerah suku Dayak juga menggunakan tanaman ini sebagai obat diare (Devi et al., 2021). Berdasarkan pada hasil dari riset ilmiah pusat studi biofarmaka yang membuktikan bahwa serbuk pucuk daun pelawan yang telah kering di dalamnya mengandung flavonoid 0,03%, saponin 0,95%, tannin 1,04%, serta protein 6% (Herawati dan Yusfarani, 2023). Pada sistem perakarannya, *T. obovata* bersimbiosis dengan fungi ektomikoriza yang menghasilkan jamur konsumsi (*edible mushroom*). Jamur ini merupakan salah satu

jenis jamur termahal di Bangka Belitung bahkan di Indonesia. Selain itu *T. obovata* berpotensi sebagai bahan insektisida dengan membakar pepagan pada malam hari dapat mengusir hama padi di sawah (Budiana et al., 2020) serta, manfaat lain dari tanaman ini yaitu asap cair hasil pirolisis kayu *T. obavata* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Devi et al., 2021). Melihat potensi dan manfaat ekologis tanaman ini, diperlukan upaya dalam mengoptimalkan budidaya dan pelestarian tanaman ini (Bao et al., 2024). Berdasarkan IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) *Red List* maupun *Threatened Species List* spesies *T. obovata* ditemukan disatu kawasan lindung wilayah Geopark Belitung, Indonesia. Namun, hingga saat ini status konservasi *ex-situ* belum diketahui (Saputri et al., 2023). Selain itu, dalam pengembangannya beberapa studi menyatakan bahwa untuk pembentukan biji sangat jarang terjadi pada beberapa spesies Myrtaceae termasuk *T. obovata*, akibat populasi yang masih kecil dan terfragmentasi sehingga menghambat keberhasilan penyerbukan dan sebagian buah gagal matang (Bao et al., 2024).

Alternatif dalam memperbanyak tanaman salah satunya adalah dengan melakukan teknik kultur jaringan secara *in vitro*. Perbanyak tanaman secara *in vitro* diterapkan untuk penyediaan bibit skala besar (massal) dalam waktu singkat, bibit yang dihasilkan bebas penyakit dan seragam, sehingga terstandar (Tuwo et al., 2021). Kultur jaringan adalah metode yang diterapkan untuk memperbanyak elemen tanaman baik yang berupa sel, jaringan, maupun bagian organ yang ditumbuhkan secara aseptik. Prosedur ini memanfaatkan karakteristik totipotensi pada sel tumbuhan, yang memungkinkan terjadinya pembentukan organ atau bibit baru pada media buatan yang steril dan teratur (Long et al., 2022), melalui tahap multiplikasi sebagai salah satu teknik yang digunakan untuk memperbanyak tanaman pada kultur jaringan (Andriani et al., 2023). Multiplikasi merupakan teknik yang dilakukan dalam upaya perbanyak dengan jumlah tanaman induk yang terbatas, memerlukan produksi spesies tertentu ataupun mengeliminasi patogen pada tanaman secara *in vitro* (Bao et al., 2024). Tahap multiplikasi tunas pada kultur jaringan umumnya terdiri atas dua fase utama. Pada fase pertama, yaitu fase induksi, eksplan dipicu untuk membentuk tunas-tunas baru melalui penempatan pada medium yang diformulasikan khusus untuk mengaktivasi inisiasi tunas. Selanjutnya, pada fase kedua, tunas yang telah terbentuk dipindahkan melalui proses subkultur ke medium elongasi, sehingga pertumbuhan dan pemanjangan tunas dapat berlangsung secara optimal (Tuwo et al., 2021). Proses multiplikasi tunas dapat berlangsung dalam periode kultur yang cepat sehingga mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar dan berkelanjutan (Bettoni dan Wang, 2024). Untuk menjaga dan memastikan keberlanjutan pertumbuhan tunas tanaman pada fase multiplikasi diperlukan proses subkultur (Bao et al., 2024).

Subkultur merupakan proses pindah tanam eksplan ke media baru untuk mendapatkan bibit yang banyak dalam periode waktu tertentu serta mempertahankan kondisi fisiologis yang mendukung regenerasi. Dengan subkultur

juga akan diketahui waktu yang tepat untuk menginisiasi tunas baru, yaitu ketika tingkat multiplikasi tunas *in vitro* menurun dan morfologi biakan berubah akibat variasi genetik atau penurunan status fisiologis (Malabadi et al., 2025). Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh banyak faktor baik yang berasal dari luar maupun dari dalam. Faktor eksternal mencakup proses pengerjaan dan keadaan lingkungan seperti suhu, pH, serta tingkat pencahayaan. Sementara itu, faktor internal meliputi tipe eksplan, susunan medium, dan kecermatan dalam penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan jaringan dengan baik (Almeida et al., 2020). Media kultur paling umum digunakan adalah media *Murashige and Skoog* (MS) sebagai sumber karbon untuk mendukung induksi dan pertumbuhan eksplan. Media MS mengandung komposisi hara makro (seperti N, P, K, Ca, Mg) dan mikro (seperti Fe, Mn, Zn, B, Cu, Mo) serta vitamin yang dibutuhkan tanaman dalam pembentukan jaringan baru (Saensouk et al., 2025). Pada beberapa penelitian mengindikasikan bahwa media MS memiliki fleksibilitas yang baik dan dapat digunakan secara efektif untuk tanaman berkayu termasuk dari famili Myrtaceae (Bao et al., 2024).

Penambahan ZPT pada media kultur jaringan efektif untuk mempertahankan kemampuan hidup dari eksplan. Pemberian ZPT akan memberikan respons yang berbeda untuk setiap tanaman, serta memungkinkan respons tanaman yang lebih baik (Ningsih et al., 2024). Sitokinin merupakan salah satu kelompok utama ZPT yang berperan dalam suplementasi media untuk induksi regenerasi tunas dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Secara fisiologis, sitokinin berperan penting untuk memacu pembelahan sel dan mengatur morfogenesis, pertumbuhan tanaman, mendorong pembentukan tunas serta menghambat proses penuaan dan absisi. Ketika konsentrasi sitokinin pada media pertumbuhan tercukupi dan seimbang, zat ini mampu memacu pertumbuhan beberapa tunas secara serempak, sehingga mendukung proses perbanyakan tanaman yang lebih efektif. Salah satu ZPT dalam kelompok sitokinin yang umum digunakan adalah kinetin (Emeliya et al., 2024).

Kinetin atau *N6-furfuryladenine* tidak hanya memengaruhi pembentukan tunas, tetapi juga tingkat keberhasilan hidup tanaman yang dikultur. ZPT kinetin mampu menunda penuaan pada daun dengan cara mempertahankan keutuhan membran tonoplas, kloroplas dan mitokondria. Pada tahap regenerasi tunas, hormon ini mampu menstimulasi tunas ganda (Ningsih et al., 2024). Tunas ataupun akar secara langsung diinduksi dari sel meristem yang telah ada sebelumnya atau organ yang mengalami luka, sel akan mengalami diferensiasi dan bantuan ZPT kinetin akan meningkatkan pembelahan sel (Long et al., 2022). Kinetin merupakan senyawa turunan adenin dengan gugus furfuryl pada posisi N⁶ yang aktif berinteraksi dengan reseptor sitokinin pada jaringan tanaman. Aktivasi reseptor tersebut mengaktifkan jalur sinyal yang mendorong pembelahan serta diferensiasi sel meristem, sehingga menghasilkan bakal tunas (*shoot primordia*). Kinetin yang dipasok secara eksogen dapat meringankan stres pada beberapa kondisi toksik (Guo et al., 2024).

Penambahan ZPT kinetin untuk memperbanyak tanaman dalam kultur jaringan telah dilakukan pada beberapa jenis tanaman, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nugroho et al., (2024) pada konsentrasi 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 ;1 ppm pada tanaman *Citrus* bahwa konsentrasi tersebut memberikan pengaruh nyata dalam pembentukan tunas pada kultivar dan pertumbuhan eksplan. Penelitian lain yang dilakukan oleh Hartoyo et al., (2018) menggunakan tanaman *Eucalyptus pellita* dengan konsentrasi kinetin yang digunakan (0; 1; 2; 3; dan 4 ppm) yang memberikan pengaruh yang nyata perbedaannya terhadap tinggi kultur *Eucalyptus pellita* pada umur 7 sampai dengan 49 hari setelah inokulasi (HIS) dan jumlah daun pada umur 28 sampai dengan 49 HSI, meskipun demikian belum menghasilkan perbedaan secara signifikan tanaman secara keseluruhan sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut. Selain itu, hingga saat ini belum banyak studi yang menunjukkan secara spesifik pengaruh kinetin pada kultur jaringan tanaman famili Myrtaceae, termasuk spesies *T. obovata*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) kinetin yang optimal dalam meningkatkan multiplikasi tunas *Tristaniopsis obovata* Benn. secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang konsentrasi dari zat pengatur tumbuh (ZPT) kinetin terhadap multiplikasi *Tristaniopsis obovata* Benn. secara *in vitro* sehingga dapat menjadi dasar dalam pengembangan teknik memperbanyak tanaman secara massal, dan mendukung konservasi spesies.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli–Desember 2025 yang berlokasi di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.

2.2 Alat Penelitian

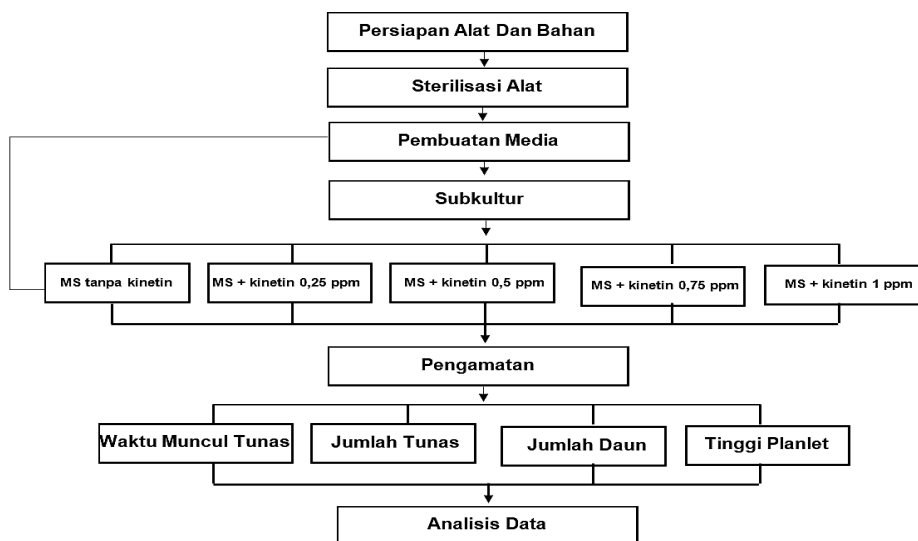
Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow* (LAF), *autoclave*, oven, timbangan analitik, *microwave*, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, bunsen, pH meter, mikropipet, alat gelas standar (gelas piala, gelas ukur, cawan petri, dan botol kultur). Alat diseksi (pinset dan gunting), rak kultur, korek api, *hand-sprayer*, alat tulis-menulis dan alat dokumentasi.

2.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah planlet tanaman *Tristaniaopsis obovata* Benn. hasil subkultur umur 2 bulan pada Laboratorium Kultur Jaringan Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) Wilayah II Makassar, media dasar *Murashige and Skoog* (MS) (Phytotech), glukosa dan bio-agar. Zat pengatur tumbuh (ZPT) kinetin (Merck). Bahan sterilisasi yang digunakan adalah aquades, alkohol 70% dan 96%, serta spiritus. Bahan tambahan lainnya yaitu label, plastik *wrap*, masker, sarung tangan dan *tissue*.

2.4 Alur Penelitian

Pelaksanaan kegiatan dalam penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yang dimulai dari sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media, penanaman serta melakukan pengamatan. Adapun skema tahapan penelitian dapat digambarkan pada bagan (**Gambar 2**).



Gambar 2. Alur penelitian

2.5 Prosedur Pelaksanaan

Prosedur pelaksanaan penelitian ini terdiri atas beberapa tahap yang dimulai dari sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media, persiapan eksplan, penanaman atau subkultur pada media perlakuan, serta pengamatan dan analisis data.

2.5.1 Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi dilakukan dengan mencuci bersih alat menggunakan deterjen dan air lalu dikeringkan. Peralatan kecil berupa cawan petri, pinset, dan gunting dibungkus dengan rapi, beserta dengan botol kultur lalu disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit. Sterilisasi *Laminar Air Flow* (LAF) dilakukan dengan menyalakan lampu UV selama 2 jam, setelah itu dinyalakan *blower*. Sebelum penggunaan area pengerjaan, pada LAF terlebih dahulu disemprot menggunakan alkohol 70%. Dalam proses pelaksanaan alat seperti gunting dan pinset disterilkan dengan direndam di dalam alkohol 96% kemudian dibakar dengan api bunsen.

2.5.2 Pembuatan Media

Pembuatan media kultur *Murashige and Skoog* (MS) pada penelitian ini dimulai dengan menyiapkan gelas kimia yang diisi dengan aquades steril sebanyak 1/3 dari volume gelas piala, ditempatkan di atas *hot plate stirrer*. Media MS ditimbang sebanyak 4,43 g dan dimasukkan ke dalam larutan media dalam gelas piala. Selanjutnya gula ditimbang sebanyak 30 g dan dimasukkan ke dalam larutan. Larutan media tersebut diaduk hingga homogen menggunakan *magnetic stirrer* di atas *hot plate* dan kemudian aquades steril ditambahkan hingga volume mencapai 1000 mL. Kemudian ditambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) kinetin sesuai dengan konsentrasi perlakuan yang telah ditentukan kedalam media MS. Konsentrasi kinetin pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 1**. Selanjutnya, pH larutan diukur menggunakan pH meter, kemudian disesuaikan dengan menambahkan larutan NaOH dan HCl hingga pH larutan mencapai 5,6–5,8. Setelah pH larutan mencapai nilai yang sesuai, bio-agar sebagai pematat kemudian ditimbang sebanyak 8 g, lalu ditambahkan ke dalam larutan media. Larutan media tersebut dipanaskan hingga mendidih menggunakan *microwave* untuk memastikan bio-agar larut. Selanjutnya, larutan media masing-masing dituang sebanyak 25 mL ke dalam botol kultur steril dan diberi label sesuai perlakuan. Kemudian media disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.5.3 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan planlet *Tristanopsis obovata* Benn. dalam kondisi sehat dan merupakan jaringan muda hasil dari subkultur umur 2 bulan yang berasal dari Laboratorium Kultur Jaringan Balai Perbenihan Tanaman Hutan Wilayah II.

2.5.4 Subkultur pada Media Perlakuan

Penanaman dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) yang telah berisi alat penanaman yang telah disterilkan sebelumnya. Planlet dari botol kultur diambil dan diletakkan dalam cawan petri berisi kertas saring dengan menggunakan pinset, eksplan dipotong dengan membuang bagian akar dan menyisakan pucuk $\pm 0,5$ cm. Selanjutnya eksplan ditanam dalam botol kultur berisi media *Murashige and Skoog* (MS) dan kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang telah diberikan dengan hati-hati dan didekatkan dengan api bunsen untuk mencegah kontaminasi. Setelah itu, botol kultur yang telah ditanami ditutup rapat dan direkatkan dengan plastik *wrap* untuk menjaga kelembapan dan mencegah kontaminasi dari lingkungan luar. Pada tahap akhir, setiap botol hasil subkultur diberi label yang memuat keterangan nama tanaman, perlakuan, serta tanggal penanaman.

2.6 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) menggunakan satu faktor yaitu konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) kinetin yang terdiri 5 perlakuan dengan 5 ulangan, sehingga keseluruhan total ada 25 unit pengamatan, dan penanaman pada setiap unit sebanyak 2 eksplan. Adapun konsentrasi ZPT yang digunakan dapat dilihat pada **Tabel 1** sebagai berikut:

Tabel 1. Perlakuan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) pada media tanam kultur jaringan *T. obovata*

Perlakuan	Komposisi Media
A ₁	MS tanpa kinetin
A ₂	MS + kinetin 0,25 ppm
A ₃	MS + kinetin 0,5 ppm
A ₄	MS + kinetin 0,75 ppm
A ₅	MS + kinetin 1 ppm

2.7 Variabel penelitian

Pengamatan dilakukan selama tanaman berumur 8 minggu setelah tanam (MST). Adapun parameter yang diamati antara lain:

- Waktu muncul tunas, dihitung pada hari pertama setelah tanam (HST), hingga terlihatnya tunas baru.
- Jumlah tunas, yaitu jumlah tunas yang muncul, dihitung pada akhir penelitian 8 minggu setelah tanam (MST).
- Jumlah daun, yaitu jumlah daun yang muncul, dihitung pada akhir penelitian 8 minggu setelah tanam (MST).
- Tinggi planlet (cm), yaitu tinggi planlet diukur dari bagian dasar batang hingga ujung tunas dan dilakukan pada akhir penelitian 8 minggu setelah tanam (MST).

2.8 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara kuantitatif. Data kuantitatif dianalisis dengan melakukan uji normalitas (*Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*Levene*). Apabila data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, analisis dilakukan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Jika data tidak memenuhi asumsi tersebut, maka digunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*, dan apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* pada taraf 5%.