

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Secara umum, eksplan yang diberi perlakuan  $1 \text{ mg l}^{-1}$  TDZ atau kombinasi TDZ dan BAP (Tabel 1) dapat membentuk plb, tunas, atau plb dan tunas (Gambar 4). Respons eksplan terhadap perlakuan 1, 2, 3, 4, dan 5 dalam membentuk plb, tunas, atau plb dan tunas terlihat memiliki pola yang sama (Gambar 5). Dari gambar 5, juga terlihat bahwa jumlah plb dan tunas bertambah banyak dari perlakuan 1 sampai perlakuan 3, dan berkurang mulai perlakuan 4. Terlihat pula bahwa eksplan cenderung membentuk plb dari pada membentuk tunas. Mengingat perlakuan 1 hanya menggunakan TDZ saja sementara perlakuan 2, 3, dan 4 menggunakan kombinasi TDZ dan BAP, maka dapat diduga pada perlakuan 2, 3, dan 4 terjadi sinergisme antara TDZ dan BAP. Terlepas dari heterogenitas eksplan, sinergisme tertinggi terlihat pada perlakuan 3. Namun, efek sinergisme terlihat menurun pada perlakuan 4, dan tidak tampak pada perlakuan 5.

Beberapa fenomena menarik yang terlihat selama pengamatan ialah pembengkakan eskplan sebelum membentuk plb atau tunas, dan plb yang saling berlekatan atau terpisah. Fenomena-fenomena tersebut merupakan hasil pengamatan kualitatif. Berikut pemaparan dan pembahasan data yang diperoleh berdasarkan parameter kuantitatif dan kualitatif.

## A. PARAMETER KUANTITATIF

Parameter kuantitatif yang dibahas ialah rata-rata jumlah total plb dan tunas yang terbentuk pada eksplan per perlakuan. Data pengamatan menunjukkan bahwa setiap perlakuan dapat direspons oleh eksplan dengan membentuk plb dan tunas (Lampiran 2a--2e). Meskipun demikian, respons yang muncul pada setiap perlakuannya berbeda, terutama jumlah plb dan tunas yang dihasilkan. Rata-rata jumlah plb-tunas yang dihasilkan pada perlakuan 1, 2, 3, 4, dan 5 secara berurutan ialah  $49,1 \pm 44,7$ ;  $59,4 \pm 74,2$ ;  $66,7 \pm 85,1$ ;  $57,5 \pm 74,2$ ; dan  $42,8 \pm 53,8$  per botol (Lampiran 2a--2e). Kecenderungan sinergisme antara TDZ dan BAP terlihat pada perlakuan 2, 3, dan 4. Meskipun pada perlakuan 4 jumlah plb-tunas menurun, tetapi jumlahnya masih lebih banyak dari pada perlakuan 1, yang hanya menggunakan TDZ saja. Perlakuan 3 cenderung menghasilkan jumlah plb dan tunas terbanyak, sedangkan perlakuan 5 cenderung menghasilkan jumlah plb dan tunas paling sedikit.

Perlakuan  $1 \text{ mg l}^{-1}$  TDZ dapat menghasilkan respons pertumbuhan plb dan tunas pada eksplan potongan daun *Dendrobium antennatum* Lindl. sebanyak  $49,1 \pm 44,7$  per botol (Lampiran 2a). Dalam konsentrasi rendah ( $1 \text{ mg l}^{-1}$ ) ternyata TDZ mampu menstimulasi terbentuknya plb dan tunas. Beberapa peneliti kultur *in vitro* yang pernah menggunakan TDZ di antaranya ialah Park *dkk.* (2002: 45) yang menggunakan 1, 2, 3, dan  $5 \text{ mg l}^{-1}$  TDZ dalam menginduksi tunas dari potongan daun *Doritaenopsis* silangan, sedangkan

Chen *dkk.* (2002: 443) menggunakan 0,1; 0,3; 1; dan 3 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> dalam menginduksi tunas dari nodus tangkai bunga majemuk *Epidendrum radicans*. Menurut Park *dkk.* (2002: 45) dan Chen *dkk.* (2002: 441--444) TDZ merupakan zat pengatur tumbuh yang umum digunakan dalam propagasi tanaman anggrek. Zat pengatur tumbuh tersebut dapat menstimulasi pertunasan dengan baik pada konsentrasi rendah antara 0--3 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>, dibandingkan dengan sitokinin lain seperti BAP yang penggunaannya antara 1--10 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>. Thidiazuron 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> juga telah digunakan secara rutin dalam memperbanyak berbagai jenis *Phalaenopsis* untuk produksi bibit anggrek tersebut secara *in vitro* (Purbaningsih, komunikasi pribadi). Lebih lanjut Park *dkk.* dan Chen *dkk.* menjelaskan bahwa thidiazuron memiliki kemampuan seperti sitokinin lain, yaitu menstimulasi pembelahan sel dan dan menginduksi pembentukan tunas. Selain itu TDZ memiliki peran dalam menstimulasi produksi sitokinin endogen dalam sel. Hal tersebut menyebabkan TDZ memiliki keaktifan lebih baik dalam menginduksi pertunasan dibandingkan dengan sitokinin lain, baik tipe Phenylurea ataupun Adenin. Walaupun demikian, menurut Park *dkk.* (2002: 45) dan Malabadi *dkk.* (2004: 290) penggunaan TDZ melebihi konsentrasi optimal (2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) dapat menurunkan jumlah plb dan tunas yang dihasilkan. Untuk menghasilkan tunas yang lebih banyak dapat dilakukan penelitian dengan mengombinasikan TDZ dengan auksin atau dengan sitokinin lain, seperti BAP.

Terkait dengan usaha meningkatkan produksi jumlah tunas dengan kombinasi zat pengatur tumbuh, perlakuan 2, 3, dan 4 jelas menunjukkan kecenderungan kerja yang sinergis antara TDZ dan BAP pada induksi tunas dari potongan daun *Dendrobium antennatum* Lindl. (Gambar 5). Sinergisme tersebut diduga karena perbedaan reseptor TDZ dan BAP, sehingga tidak terjadi kompetisi di antara kedua zat pengatur tumbuh tersebut untuk aktif pada sel target.

Tefera dan Wannakraioj (2005: 1894--1901) pernah meneliti pertunasan pada *Aframomum corrorima* (famili Zingiberaceae) dengan menggunakan kombinasi TDZ dan BAP. Data penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi TDZ dan BAP cenderung menghasilkan tunas lebih banyak dari pada perlakuan TDZ atau BAP secara tunggal. Menurut Tefera dan Wannakraioj (2005: 1894-1901) sel tumbuhan memiliki *Cytokinin Binding Protein* (CBP) yang memiliki dua sisi pengikat sitokinin. Sisi pertama berfungsi untuk mengikat sitokinin tipe Adenin (BAP). Ikatan tersebut dapat menstimulasi pembelahan sel dan pembentukan tunas. Sementara itu, sisi kedua CBP biasanya digunakan untuk mengikat enzim sitokinin oksidase yang berfungsi dalam mendegradasi sitokinin tipe Adenin yang tidak terpakai. Walaupun demikian, ternyata sitokinin tipe Phenylurea (TDZ) juga memiliki afinitas terhadap sisi kedua pada CBP, bahkan afinitas tersebut lebih besar dibandingkan dengan afinitas sitokinin oksidase. Oleh karena itu penggunaan TDZ dapat menghalangi kerja dari sitokinin oksidase. Selain itu ikatan sitokinin tipe Phenylurea dengan CBP juga dapat menstimulasi

pembentukan dan akumulasi sitokinin endogen. Pada penelitian sebelumnya Mok dan Mok (2001: 101--102) menjelaskan hal yang sama, dan dijelaskan bahwa ikatan kedua tipe sitokinin tersebut membuat kestabilan yang tinggi, sehingga aktivitas sitokinin secara langsung dan tidak langsung dapat bekerja optimal.

Sinergisme antara TDZ dan BAP juga pernah diteliti oleh Sadik *dkk.* (2006: 1352) terhadap pertunasan pada kalus *Musa* sp. (pisang Afrika Timur). Jumlah tunas terbanyak dihasilkan pada perlakuan kombinasi TDZ dan BAP. Sadik *dkk.* menjelaskan bahwa sinergisme tersebut dipengaruhi oleh peran BAP dalam menstimulasi pembelahan dan diferensiasi sel, serta TDZ yang berperan dalam menstimulasi produksi dan akumulasi sitokinin pada sel-sel meristematis eksplan.

Terkait dengan sinergisme yang terjadi antara TDZ dan BAP pada induksi tunas dari potongan daun *Dendrobium antennatum* Lindl., penjelasan oleh Mok dan Mok (2001: 101--102), Tefera dan Wannakraioj (2005: 1894--1901), dan Sadik *dkk.* (2006: 1352) diduga berkaitan dengan sinergisme yang terjadi. Sinergisme antara TDZ dan BAP pada penelitian ini terjadi karena dua hal. Pertama ialah fungsi TDZ dan BAP yang menstimulasi pembelahan sel, diferensiasi sel, dan pembentukan tunas pada eksplan. Kedua ialah fungsi TDZ yang berperan dalam menstimulasi produksi dan akumulasi sitokinin endogen, atau mencegah terjadinya degradasi sitokinin tipe Adenin.

Perlakuan 5 menggunakan konsentrasi TDZ dan BAP paling besar, masing-masing 2 mg l<sup>-1</sup> dan 10 mg l<sup>-1</sup>. Data hasil penelitian menunjukkan

bahwa perlakuan tersebut dapat direspons eksplan walaupun jumlah tunas yang dihasilkan pada perlakuan tersebut paling rendah di antara perlakuan yang lain (Gambar 5). Rata-rata jumlah plb sebanyak  $26,9 \pm 40,3$ ; tunas  $15,9 \pm 16,5$ ; dan total plb dan tunas sebanyak  $42,8 \pm 53,8$  per botol. Hasil tersebut diduga disebabkan oleh penggunaan TDZ dan BAP dalam konsentrasi yang terlalu tinggi.

Terkait dengan tinggi konsentrasi yang digunakan pada perlakuan 5, Hartman *dkk.* (2002: 64) menjelaskan bahwa pada hakikatnya zat pengatur tumbuh merupakan substansi alami ataupun buatan yang digunakan dengan konsentrasi rendah dalam memicu pertumbuhan serta perkembangan eksplan. Lebih lanjut penelitian Tefera dan Wannakraioj (2005: 1894--1901) menjelaskan bahwa penggunaan kombinasi TDZ dan BAP dalam konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan penurunan jumlah tunas yang dihasilkan pada eksplan. Earle & Demarly (1982: 40) dan Goralski *dkk.* (2005:121) telah menjelaskan bahwa kisaran konsentrasi total sitokinin eksogen yang dapat digunakan pada setiap spesies berbeda, dan pada umumnya berkisar antara  $0\text{--}10 \text{ mg l}^{-1}$ .

Beberapa literatur menjelaskan lebih lanjut bahwa penggunaan TDZ dalam konsentrasi yang tinggi dapat mengakibatkan pertumbuhan tunas terhambat, vitrifikasi eksplan, akumulasi senyawa produk oksidasi fenol, nekrosis jaringan eksplan, serta malformasi tunas dan daun yang dihasilkan (Shan *dkk.* 2000: 207—210; Park *dkk.* 2002: 46; Yildiz & Ozgen 2006: 172). Sementara itu penggunaan BAP pada konsentrasi tinggi dapat mengganggu

penyerapan unsur hara serta menghambat pertumbuhan eksplan (Shan *dkk.* 2000: 209; Yildiz & Ozgen 2006: 172; Ruzic & Vujovic 2008: 19).

Berdasarkan penjelasan-penjelasan tersebut dapat diketahui bahwa perlakuan 5 menggunakan TDZ dan BAP dalam konsentrasi terlalu tinggi. Eksplan yang digunakan tidak dapat merespons dengan baik pada konsentrasi tersebut, bahkan jumlah tunas yang dihasilkan paling rendah dibandingkan perlakuan 1, 2, 3, dan 4. Dapat dikatakan juga bahwa perlakuan 5 tidak menunjukkan sinergisme antara TDZ dan BAP, karena jumlah plb dan tunas lebih rendah dibandingkan perlakuan 1 yang hanya mengandung TDZ.

Gambar 5 juga menunjukkan nilai standar deviasi yang besar, bahkan terdapat data perlakuan yang memiliki standar deviasi yang lebih besar dari rata-rata yang dihasilkan. Standar deviasi diperoleh dari data yang terlampir pada Lampiran 2a--2e. Standar deviasi yang besar diduga disebabkan oleh heterogenitas eksplan yang tinggi. Eksplan yang digunakan adalah potongan daun yang diperoleh dari semua daun sehat yang ada pada planlet, tanpa memerhatikan kondisi fisiologis daun tersebut. Daun muda (daun ke-1) dan tua (daun ke-2, ke-3, dan ke-4) digunakan sebagai eksplan. Pada setiap *seedling* daun yang muda cenderung memiliki warna hijau yang lebih muda dibandingkan daun yang lebih tua. Daun muda mudah dipotong, sedangkan daun yang tua lebih sulit dipotong (terasa keras saat dipotong). Perbedaan kondisi eksplan tersebut diduga mengakibatkan respons eksplan yang beragam, sehingga standar deviasi yang dihasilkan besar. Selain itu, pada 1

potong daun mengandung berbagai macam sel yang berada pada fase sel yang berbeda-beda dan memiliki kondisi fisiologis sel yang juga berbeda, oleh karena itu setiap sel akan merespons perlakuan zat pengatur tumbuh dengan respons yang berbeda. Respons tersebut di antaranya adalah pertumbuhan plb, tunas, atau tidak merespons.

Secara umum Gambar 5 juga menunjukkan bahwa pada semua perlakuan terdapat kesamaan, yaitu jumlah plb yang dihasilkan ternyata jumlahnya lebih besar dibandingkan jumlah tunas yang dihasilkan. Gambar tersebut menjelaskan bahwa proses pembentukan plb lebih optimal dari pada pembentukan tunas. Hal tersebut disebabkan pada pembentukan tunas diperlukan lebih banyak nutrisi dan zat pengatur tumbuh (sitokinin dan auksin) dalam memicu terjadinya diferensiasi sel, dibandingkan pembentukan plb. Kemungkinan lain adalah waktu pengamatan 60 hari setelah hari tanam masih berada pada tahap proliferasi atau perbanyak sel-sel yang bersifat meristematis, sehingga tahap pembentukan plb lebih banyak terjadi. Hasil penelitian Chen *dkk.* (2004: 11--15) menjelaskan bahwa, pada 2 bulan setelah hari tanam, potongan daun anggrek *Paphiopedilum* masih dapat membentuk plb walaupun pembentukan tunas juga terjadi.

Data penelitian menunjukkan jumlah eksplan yang dapat bertahan hidup hanya sedikit, bahkan tidak mencapai 50% jumlah potongan daun yang di kultur dalam setiap botol perlakuan. Secara berurutan, jumlah potongan daun yang mampu hidup pada perlakuan 1, 2, 3, 4, dan 5 ialah  $8,4 \pm 4,2$ ;  $9,9 \pm 3,1$ ;  $10 \pm 5,4$ ;  $8,1 \pm 4,5$ ; dan  $10,3 \pm 4,4$  (Lampiran 2a--2e). Hal tersebut



diduga disebabkan oleh pencokelatan, karena menurut hasil pengamatan eksplan yang tidak bertahan hidup berwarna coklat. Menurut Hartmant (2002: 674) dan Visser *dkk.* (1992: 1706) pencokelatan merupakan perubahan warna pada eksplan atau medium yang terjadi karena oksidasi senyawa fenol yang keluar dari sel-sel yang rusak pada eksplan. Senyawa fenol yang telah teroksidasi dapat bersifat toksik, menghambat pertumbuhan eksplan, dan bahkan dapat mengakibatkan kematian eksplan.

Berdasarkan penjelasan dan penjabaran data kuantitatif, dapat terlihat bahwa semua perlakuan yang diberikan dapat mengakibatkan respons pembentukan plb dan tunas pada eksplan potongan daun *Dendrobium antennatum* Lindl. Perlakuan 2, 3, dan 4 merupakan perlakuan yang menunjukkan sinergisme TDZ dan BAP, sedangkan perlakuan 5 tidak menunjukkan sinergisme TDZ dan BAP. Selain itu juga diketahui bahwa eksplan yang mampu bertahan hidup hingga 2 bulan setelah hari tanam hanya sedikit.

## **B. PARAMETER KUALITATIF**

### **1. Pembengkakan eksplan**

Eksplan potongan daun anggrek *Dendrobium antennatum* Lindl. mengawali respons pembentukan plb dan tunas dengan mengalami pembengkakan eksplan pada minggu pertama (Gambar 6). Eksplan yang membengkak tidak mengalami perubahan warna (tetap hijau).

Pembengkakan eksplan tersebut tidak terjadi pada eksplan potongan daun *Phalaenopsis* sp. yang digunakan pada penelitian pendahuluan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pembengkakan terjadi pada hampir seluruh eksplan yang masih hidup (Lampiran 3a--3e). Pembengkakan mungkin terjadi karena proses penyerapan nutrisi atau tahap awal induksi tunas pada eksplan. Seperti pada penelitian Visser *dkk.* (1992: 1705) pembengkakan pada eksplan hipokotil *Geranium* dapat terjadi karena penyerapan nutrisi dan aktivitas BAP dalam menstimulasi pertunasan pada eksplan. Zat pengatur tumbuh BAP dapat menyebabkan penambahan volume sel meristematik pada eksplan, sehingga volume eksplan juga bertambah.

Sementara itu, eksplan yang tidak mengalami pembengkakan diduga tidak responsif untuk terinduksi membentuk plb dan tunas. Eksplan yang tidak responsif mungkin disebabkan karena eksplan terlalu tua untuk terinduksi membentuk tunas. Menurut penelitian Tanaka pada tahun 1974 (*lihat* Arditi & Earnst 1994: 486), Park *dkk.* (2002: 168), dan Chen *dkk.* (2004: 11), eksplan yang berumur muda memiliki banyak sel yang bersifat meristematik, sehingga dapat membentuk tunas lebih mudah dan lebih banyak. Walau demikian, hasil penelitian menunjukkan bahwa daun muda rentan terhadap kematian akibat akumulasi senyawa produk oksidasi fenol (pencokelatan). Menurut Hidayat (1995: 33) sel muda memiliki sedikit lapisan dinding sekunder atau bahkan belum terbentuk, sehingga resistensi terhadap senyawa toksik sangat lemah. Sementara itu, Tanaka, Park *dkk.*, dan Chen

*dkk.* juga menjelaskan bahwa eksplan yang terlalu tua memiliki sedikit sel yang bersifat meristematik, sehingga sulit untuk membentuk tunas. Oleh karena itu pada hasil penelitian ini, eksplan yang berumur sedang (daun ke-2 dan ke-3) lebih responsif membentuk plb dan tunas dibandingkan dengan eksplan muda (daun ke-1) dan eksplan tua (daun ke-4). Selain itu, daun berumur sedang juga memiliki ketahanan hidup hingga umur 2 bulan setelah hari tanam.

## 2. Pembentukan plb dan tunas

Setelah mengalami pembengkakan, eksplan mengalami pembentukan *protocorm like bodies* (plb). Eksplan potongan daun mulai terlihat membentuk plb pada 3--4 minggu setelah penanaman. *Protocorm like bodies* yang diamati dapat dikelompokkan menjadi 2, yaitu terlepas atau tunggal dan menyatu (Lampiran 3a--3e). *Protocorm like bodies* yang terpisah diduga memiliki daya saing tinggi dalam menyerap nutrisi dan zat pengatur tumbuh, sehingga dapat langsung membentuk tunas. Sementara itu, plb yang menyatu diduga karena sel atau plb tersebut memiliki daya serap nutrisi dan zat pengatur tumbuh yang rendah, sehingga kebutuhan nutrisi dan zat pengatur tumbuh yang dapat tercukupi hanya dapat digunakan untuk membentuk plb baru (proliferasi) (Gambar 7). Dugaan tersebut sesuai dengan penelitian Park *dkk.* (2002: 49--50) dan Chen *dkk.* (2003: 13--14) pembentukan tunas membutuhkan jumlah nutrisi dan zat pengatur tumbuh yang lebih besar dan optimal dibandingkan pembentukan plb. Proses

penyerapan tersebut tergantung dari kemampuan masing-masing sel pada eksplan.

*Protocorm like bodies* yang terpisah, pada hasil pengamatan biasanya akan segera membentuk tunas (Gambar 8). Sementara itu, pada plb yang saling menyatu dapat membentuk plb baru atau tumbuh dan berkembang menjadi plb yang terlihat jelas dan membentuk tunas. *Protocorm like bodies* yang menyatu secara makroskopis terlihat seperti tonjolan-tonjolan kecil yang tidak sama ukurannya. *Protocorm like bodies* tersebut diduga berasal dari satu atau beberapa sel meristematik pada eksplan yang terinduksi membentuk plb. Gambar sayatan plb terpisah pernah dilakukan pada penelitian Park *dkk.* (2002: 49) pada potongan daun *Doritaenopsis*; Lee & Lee (2003: 478) pada potongan daun *Paphiopedilum*; dan Marianingsih (2007: 58) pada potongan daun *Phalaenopsis*. Ketiga penelitian tersebut menjelaskan bahwa plb dapat terbentuk dari sel-sel epidermis dan subepidermis potongan daun (anggrek). Sel epidermis yang membelah cenderung membentuk lapisan protoderm plb, sedangkan sel subepidermis membentuk pusat pertumbuhan plb (Lampiran 4a, Gambar C). *Protocorm like bodies* memiliki bentuk globular dan memiliki satu lapis protoderm yang kaku dan mengelilingi pusat pertumbuhan. Kompleks bakal plb yang terbentuk pada sel-sel mesofil terkadang gagal membentuk pusat pertumbuhan. Sel-sel tersebut akan membelah secara tidak beraturan, sehingga dapat membentuk beberapa pusat pertumbuhan dan menghasilkan beberapa plb yang saling menyatu (Lampiran 4b, Gambar A dan B)

Tunas yang teramati pada kultur umumnya merupakan hasil pertumbuhan dan perkembangan plb, walaupun terdapat fenomena pembentukan tunas yang tumbuh tanpa melalui pembentukan plb (Gambar 9). Menurut Park *dkk.* (2002: 48) dan Lee & Lee (2003: 478) tunas dapat terbentuk dari hasil pertumbuhan dan perkembangan dari plb atau dapat terbentuk langsung pada sel yang bersifat meristematik. Pembentukan tunas melalui plb dimulai dari perkembangan protoderm pada lapisan subepidermal, yang kemudian membentuk primodium (bakal daun pertama). *Protocorm like bodies* yang tidak membentuk protoderm plb tidak dapat langsung membentuk tunas. Hal tersebut disebabkan lapisan protoderm merupakan lapisan yang membentuk primordium dan tunica.

Salah satu sampel dari perlakuan 1 menunjukkan pembentukan akar pada pangkal tunas yang tumbuh dari eksplan (Gambar 10). Akar tersebut mulai terbentuk pada minggu ke-5. Pada awal pertumbuhan, akar tumbuh dengan baik. Akar berbentuk silinder dengan ujung menumpul. Akar berwarna hijau dan memiliki serabut-serabut halus berwarna putih. Kemudian pada minggu ke-7 akar mulai berubah warna menjadi coklat dan mengering, hingga mati. Fenomena tersebut mungkin disebabkan kesetimbangan awal zat pengatur tumbuh endogen eksplan lebih banyak mengandung auksin dari pada sitokinin. Penyerapan sitokinin pada eksplan mungkin juga tidak optimal sehingga dengan keadaan fisiologis tersebut menyebabkan pertumbuhan akar pada eksplan di awal induksi. Akar tersebut tidak dapat tumbuh dan berkembang lagi, bahkan terlihat mengering dan

mati. Hal tersebut mungkin disebabkan pengaruh thidiazuron pada media yang dapat menghambat pembentukan akar. Berdasarkan penelitian Talukder *dkk.* (2003: 1060) dan Yildiz & Ozgen (2006: 171--174) kadar auksin yang lebih tinggi dari sitokinin dapat menginduksi perakaran dan pemanjangan tunas pada eksplan. Pembentukan akar bukan berdasarkan atas kesetimbangan auksin dan sitokinin yang ditambahkan pada media, tetapi pada kesetimbangan auksin dan sitokinin endogen pada eksplan. Pembentukan dan pertumbuhan akar pada eksplan dapat dihalangi oleh aktivitas thidiazuron.

Penjelasan-penjelasan yang telah diungkapkan menunjukkan bahwa kombinasi TDZ dan BAP memiliki aktivitas lebih baik dalam menginduksi plb dan tunas dari daun *Dendrobium antennatum* Lindl., dibandingkan TDZ yang digunakan secara tunggal. Walaupun demikian kombinasi TDZ dan BAP dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan penurunan jumlah tunas yang dihasilkan. Sementara itu tahap pembentukan tunas pada eksplan potongan daun *D. antennatum* melalui beberapa tahap, yaitu pembengkakan eksplan, pembentukan plb, dan pembentukan tunas. Selain itu diketahui juga bahwa tunas dapat tumbuh dari eksplan tanpa melalui pembentukan plb.

Mengingat nilai standar deviasi yang dihasilkan besar, maka pemilihan eksplan yang homogen sangat diperlukan. Pemilihan eksplan dilakukan dengan menggunakan *seedling* yang memiliki umur dan ukuran yang sama. Sebelum menentukan umur eksplan yang digunakan, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan umur eksplan yang memiliki kecenderungan

membentuk plb dan tunas paling baik. Dengan eksplan yang baik dan homogen tersebut diharapkan akan menghasilkan penelitian selanjutnya dengan data yang baik dan nilai standar deviasi yang kecil.

Induksi tunas pada eksplan potongan daun *Dendrobium antennatum* Lindl. yang telah dilakukan, diawali dengan respons pembengkakan eksplan. Kemudian dilanjutkan dengan pembentukan plb yang saling menempel ataupun terpisah. *Protocorm like bodies* tersebut akan tumbuh dan berkembang membentuk tunas. tunas tidak hanya dapat tumbuh dari plb tetapi dapat juga tumbuh langsung dari sel meristematik pada eksplan.

Kendala terbesar pada penelitian yang telah dilakukan adalah keragaman umur fisiologis eksplan dan pencokelatan media. Keragaman umur eksplan seharusnya dapat diatasi dengan memilih daun dengan umur fisiologis yang sama, misalnya daun ke-2 *seedling* saja yang digunakan. Walaupun demikian perlu diingat, berdasarkan hasil pengamatan pra penelitian menunjukkan bahwa jumlah eksplan potongan daun yang banyak dapat meningkatkan ketahanan eksplan terhadap pencokelatan, maka perlu diperhatikan ketersediaan tanaman donor. Pencokelatan juga merupakan kendala dalam penelitian ini, akan tetapi langkah pencegahannya tidak dilakukan karena dikhawatirkan akan mempengaruhi kerja sitokinin. Menurut Hartmant *dkk.* (2002: 674) pencokelatan dapat diatasi dengan memberikan zat yang dapat mengadsorpsi senyawa fenol, seperti arang aktif atau polyvinylpyrrolidon (PVP).