



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : UPN "VETERAN" JATIM
Raya Gunung Anyar
Surabaya

Untuk Inovasi dengan Judul : METODE MEMPRODUKSI ASAM GALAT MENGGUNAKAN KULTUR *IN VITRO* *Camellia sinensis* L

Inventor : Dr. Dra. Hj. Sutini, MPd.
Ir. Widiwurjani, MP
Prof.Dr. H. Djoko Agus P, Apt., M.Si.

Tanggal Penerimaan : 21 Desember 2018

Nomor Paten : IDP000076628

Tanggal Pemberian : 30 April 2021

Perlindungan Paten untuk inovasi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari inovasi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. Menteri Hukum Dan Hak Asasi Manusia
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual
u.b.

Direktur Paten, Desain Tata Letak
Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang


Dra. Dede Mia Yusanti, MLS.
NIP. 196407051992032001

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP000076628 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 30 April 2021

(51) Klasifikasi IPC⁸ : A 01H 4/00(2006.01), C 12N 5/04(2006.01)
(21) No. Permohonan Paten : P00201810886
(22) Tanggal Penerimaan: 21 Desember 2018
(30) Data Prioritas :
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara
(43) Tanggal Pengumuman: 28 Juni 2019
(56) Dokumen Perbandingan:
"Produksi katekin melalui kultur kalus *Camellia sinensis*" (Sutini, SAINTEK Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Teknik dan rekayasa Vol 10. No.1 Juni 2013);

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UPN "VETERAN" JATIM
Raya Gunung Anyar
Surabaya

(72) Nama Inventor :
Dr. Dra. Hj. Sutini, MPd., ID
Ir. Widiwurjani, MP, ID
Prof.Dr. H. Djoko Agus P, Apt., M.Si., ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Ir. Indah Dwi Irawati

Jumlah Klaim : 5

Judul Invensi : METODE MEMPRODUKSI ASAM GALAT MENGGUNAKAN KULTUR *IN VITRO* *Camellia sinensis* L

Abstrak :

Invensi ini berkaitan dengan metode produksi asam galat dimana asam galat tersebut dapat secara aktif berperan juga sebagai zat anti kanker, anti tumor, lebih khusus lagi asam galat sebagai bahan bioaktif tersebut dapat diproduksi melalui kultur *in vitro* kalus *Camellia sinensis* L. Metode produksi bioaktif asam galat ini efektif dan efisien yang mana dapat dipanen relatif lebih cepat dari pada pemanenan dari tanaman yang ditanam di lahan. Pembudidayaan kultur *in vitro* pemeliharaannya mudah dan hanya memerlukan kondisi lingkungan yang sterila aseptis. Metode memproduksi asam galat pada invensi ini menggunakan kultur *in vitro* *Camellia sinensis* L dengan langkah-langkah sebagai berikut: a.mensterilisasi peralatan botol kultur di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 9 menit dengan tekanan satu atmosfer; b.ensterilisasi eksplan daun menggunakan larutan benomil dan NaClO; c.membuat media perlakuan dengan zat pengatur tumbuh kinetin 2,4-diklorofenoksi asetat yang dituangkan ke dalam botol kultur yang telah diisi dengan eksplan daun yang telah disterilisasi; d.inisiasi eksplan dengan menanam potongan pucuk daun *Camellia sinensis* L pada media perlakuan; e.menghimpun eksplan yang menjadi kalus *Camellia sinensis* L dilanjutkan dengan subkultur; f.mengelisitasi kalus *Camellia sinensis* L dengan menggunakan ion untuk mendapatkan asam galat; g. mengamati pertumbuhan kalus yang dilanjutkan dengan uji kandungan kalus secara kualitatif dengan HPLC untuk mendapatkan kadar asam galat. Asam galat yang dihasilkan memiliki kadar sebesar 1,07 %b.



KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA RI
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
DIREKTORAT PATEN, DESAIN TATA LETAK SIRKUIT TERPADU DAN RAHASIA DAGANG
 Jln. H.R. Rasuna Said, Kav. 8-9 Kuningan Jakarta Selatan 12940
 Phone/Facs. (6221) 57905611; Website: www.dgjp.go.id

INFORMASI BIAYA TAHUNAN

Nomor Paten : IDP000076628 Tanggal diberi : 30/04/2021 Jumlah Klaim : 5
 Nomor Permohonan : P00201810886 IPAS Filing Date : 21/12/2018
 Entitlement Date : 21/12/2018

Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 28 tahun 2019 tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Penerimaan negara Bukan Pajak Yang Berlaku Pada Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia, biaya tahunan yang harus dibayarkan adalah sebagaimana dalam tabel di bawah.

Biaya Tahunan Ke-	Periode Perlindungan	Batas Akhir Pembayaran	Biaya Dasar	Jml Klaim	Biaya Klaim	Total	Terlambat (Bulan)	Total Denda	Jumlah Pembayaran
1	21/12/2018-20/12/2019	29/10/2021	0	5	0	0	0	0	0
2	21/12/2019-20/12/2020	29/10/2021	0	5	0	0	0	0	0
3	21/12/2020-20/12/2021	29/10/2021	0	5	0	0	0	0	0
4	21/12/2021-20/12/2022	29/10/2021	0	5	0	0	0	0	0
5	21/12/2022-20/12/2023	22/11/2022	0	5	0	0	0	0	0
6	21/12/2023-20/12/2024	22/11/2023	1.500.000	5	750.000	2.250.000	0	0	2.250.000
7	21/12/2024-20/12/2025	22/11/2024	2.000.000	5	1.000.000	3.000.000	0	0	3.000.000
8	21/12/2025-20/12/2026	22/11/2025	2.000.000	5	1.000.000	3.000.000	0	0	3.000.000
9	21/12/2026-20/12/2027	22/11/2026	2.500.000	5	1.250.000	3.750.000	0	0	3.750.000
10	21/12/2027-20/12/2028	22/11/2027	3.500.000	5	1.250.000	4.750.000	0	0	4.750.000
11	21/12/2028-20/12/2029	22/11/2028	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000
12	21/12/2029-20/12/2030	22/11/2029	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000
13	21/12/2030-20/12/2031	22/11/2030	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000
14	21/12/2031-20/12/2032	22/11/2031	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000
15	21/12/2032-20/12/2033	22/11/2032	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000
16	21/12/2033-20/12/2034	22/11/2033	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000
17	21/12/2034-20/12/2035	22/11/2034	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000
18	21/12/2035-20/12/2036	22/11/2035	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000
19	21/12/2036-20/12/2037	22/11/2036	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000
20	21/12/2037-20/12/2038	22/11/2037	5.000.000	5	1.250.000	6.250.000	0	0	6.250.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali hingga tanggal 07/12/2021 (tahun ke-1 s.d 5) adalah sebesar 0 *l*

- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali wajib dilakukan paling lambat 6 (enam) bulan terhitung sejak tanggal diberi paten
- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali meliputi biaya tahunan untuk tahun pertama sejak tanggal penerimaan sampai dengan tahun diberi Paten ditambah biaya tahunan satu tahun berikutnya.
- Pembayaran biaya tahunan selanjutnya dilakukan paling lambat 1 (satu) bulan sebelum tanggal yang sama dengan Tanggal Penerimaan pada periode perlindungan tahun berikutnya.
- Permohonan penundaan pembayaran biaya tahunan akan diterima apabila diajukan paling lama 7 hari kerja sebelum tanggal jatuh tempo pembayaran biaya tahunan berikutnya, dan bukan merupakan pembayaran biaya tahunan pertama kali.
- Dalam hal biaya tahunan belum dibayarkan sampai dengan jangka waktu yang ditentukan, Paten dinyatakan dihapus

METODE PRODUKSI ASAM GALAT MELALUI KULTUR IN VITRO KALUS *Camellia sinensis* L.

Bidang Metode Invensi

Invensi ini terkait dengan metode pembuatan asam galat menggunakan kultur *in vitro* kalus *Camellia sinensis* L yang mempunyai aktivitas anti kanker. Penekanan terpenting pada metode kultur *in vitro* yang dilakukan adalah metode ini dapat diproduksi dalam skala besar /industri .

Latar Belakang Invensi

Senyawa asam galat berperan sebagai zat anti-inflamasi, anti-karsinogenik, anti-viral, dan anti-bakteri (Eslami *etal.*, 2010). Relevan dengan paten US 7,709,031 B2 ekstraksi dari tanaman *Rubus suavissimus* menggunakan pelarut air diperoleh asam galat dan derivatnya yang digunakan untuk anti angiogenesis, dan mengobati berbagai penyakit terkait pembuluh darah, termasuk penyakit kencing manis, penyakit kulit, tumor, kegemukan, kanker, penyakit rematik. Selain berguna untuk meningkatkan kesehatan asam galat dapat juga digunakan untuk menetralsir senyawa amin yang sekaligus dapat sebagai anti korosi (United States Patent nomor 4,929,364). Paten US 6,180,666 B1 tahun 2001, mengaplikasikan penggunaan asam galat sebagai esternya (*octyl gallate*) yang berguna untuk meningkatkan penyerapan obat pada dinding usus dan menghambat metabolisme sitokrom P450. Invensi lainnya, paten US 6,544,581 B1 tahun 2003, adalah pengekstrakan menggunakan pelarut air panas dari biji anggur menghasilkan asam galat. Invesi berikutnya, dari Eropa paten bernomor 013760 B1, adalah peningkatan teknik esterifikasi dengan menggunakan alkil alcohol dan alkil diol untuk imobilisasi tanase yang dapat digunakan untuk memperoleh ester asam galat. Paten India bernomor 159281 (1N), adalah proses ekstraksi dengan pelarut organik dari kulit buah *Terminallia chebula* menghasilkan trimetil eter asam galat yang berguna pada bidang minuman, obat dan kosmetik.

Memperhatikan metode ekstraksi juga aplikasi asam galat dan derivatnya pada berbagai bidang, maka perlu dilakukan alternatif produksi metabolit sekunder asam galat. Aternatif produksi metabolit sekunder asam galat ini menggunakan Metode kultur *in vitro*. Metode kultur *in vitro* berpotensi untuk memproduksi metabolit

sekunder asam galat dengan prosedur induksi kalus. Prosedur induksi kalus melalui metode kultur *in vitro* didapat beberapa kelebihan diantaranya: 1) metabolit sekunder asam galat dapat segera dipanen dan tidak menunggu tanaman menjadi dewasa, 2) dengan area yang terbatas dapat menghasilkan metabolit sekunder asam galat, 3) tidak tergantung perubahan iklim, 4) dapat dikembangkan menjadi skala industri.

Invensi sebelumnya oleh Banerjee et al., Oktober (2006) melalui US paten bernomor 7,118,882 B2 sebagai berikut: a) menggunakan substrat medium cair Czapek-DOX yang dimodifikasi terdiri dari asam tannic dan karbohidrat perbandingan 0,8:1. b) medium cair modifikasi diperkaya tanin dari buah *Terminalia chebula* dan kulit buah *Caesalpinia digyna* dari yang dibuat powder dengan perbandingan 1:3. c) medium cair juga diperkaya dengan jamur *Rhizopus Oryzae* dan *Aspergillus foetidus*. d) medium cair yang telah bercampur rata kemudian dilakukan fermentasi. e) medium cair yang telah difermentasi ditambah pelarut organik dan diuapkan untuk mendapatkan asam galat

Invensi yang dilakukan inventor masa sekarang adalah memberikan metode produksi asam galat dari eksplan daun pertama sampai dengan ke tiga tanaman *Camellia sinensis* L, dengan metode kultur *in vitro* yang dilakukan pada kondisi aseptis akan diperoleh produk metabolit sekunder berupa asam galat.

Invensi ini sangat berbeda dengan invensi United States Patent bernomor 7,118,882 B2, diantaranya adalah: (a) penggunaan bahan baku menggunakan medium cair Czapek-DOX. (b) penggunaan bahan baku menggunakan tanin dari buah *Terminalia chebula* dan kulit buah *Caesalpinia digyna* yang dibuat powder. (c) penggunaan bahan baku menggunakan medium cair yang ditambah jamur *Rhizopus Oryzae* dan *Aspergillus foetidus*. (d) asam galat diperoleh dengan proses fermentasi. Sedangkan invensi ini menggunakan zat pengatur tumbuh benzyl aminopurin dan 2,4-Diklorophenoksiasetat dengan modifikasi penggunaan konsentrasi pospor yang berfungsi untuk mendapatkan biomasa yang tetap menjadi kalus dengan tujuan memproduksi metabolit sekunder asam galat. Asam galat yang terkandung dalam kalus *Camellia sinensis* L bersifat bioaktif yang dapat digunakan untuk anti maligna, anti oksidan, anti tumor, dan dapat sebagai anti korosi pada peralatan industri.

Uraian Singkat Invensi

Invensi ini merupakan metode produksi bioaktif asam galat yang efektif dan efisien yang dapat dipanen relatif lebih cepat dari pada memanen dari tanaman yang ditanam di lahan. Pembudidayaan kultur *in vitro* pemeliharaannya mudah dan hanya memerlukan kondisi lingkungan yang serba aseptis. Proses yang dilakukan untuk produksi asam galat dengan Metode kultur *in vitro* pada invensi ini terdiri dari: (1) teknik aseptis terhadap ruangan, alat dan media, (2) metode peracikan beberapa bahan menjadi media, (3) metode inisiasi eksplan pada media, (4) penghimpunan kalus dilanjutkan dengan subkultur, (5) elisitasi dengan elisitor ion pospor, (6) pengamatan pertumbuhan kalus kemudian pengidentifikasian kualitatif maupun kuantitatif kalus asam galat. Metode produksi asam galat dengan teknik kultur *in vitro* sesuai invensi ini menghasilkan kadar asam galat sebesar 1,07 %.

Uraian Lengkap Invensi

Metode produksi asam galat dengan kultur *in vitro* sesuai invensi ini diawali dengan teknik aseptis pada ruangan, alat dan media dengan cara disterilisasi. Sterilisasi alat-alat dan bahan dilakukan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 9 menit tekanan 1 (satu) atmosfer. Sterilisasi ruangan maupun tempat inokulasi dengan menggunakan lampu ultraviolet. Sterilisasi sangat penting untuk mencegah kontaminasi bakteri maupun jamur. Sterilisasi peralatan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 9 menit tekanan satu atmosfer. Selanjutnya sterilisasi eksplan daun menggunakan larutan benomyl dan natrium hipoklorit (NaClO)

Media nutrisi yang digunakan adalah media Murashige & Skoog (MS) yang dimodifikasi dengan penambahan zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4-Diklorophenoksi asetat (2,4-D). Pembuatan media padat adalah sebagai berikut: erlenmeyer 500 mL diisi makronutrien Murashige & Skoog (MS) yang berisi: (NH₄NO₃ 1650 %, KNO₃ 190 %, CaCl₂·2H₂O 44 %, MgSO₄·7H₂O 37 %), ditambah mikronutrien MS (FeSO₄·7H₂O 2,78 %, Na₂EDTA·2H₂O 3,73%, H₃BO₃ 0,62 %, MnSO₄·4H₂O 2,23%, ZnSO₄·7H₂O 0,86 %, KI 0,083%, Na₂MoO₄·2H₂O 0,025 %, CuSO₄·5H₂O 0,0025 %), ditambah myoinositol 100% ditambah vitamin B₅ 0.5-2 % ditambah Sucrosa 2 %. Selanjutnya diatur pH nya pada 5,8 dengan penambahan larutan NaOH atau HCl encer dengan menggunakan pH meter. Tahapan selanjutnya ditambahkan bubuk agar sebanyak 4 gram dan dipanaskan sambil diaduk dengan stirer hingga mendidih. Larutan medium panas kemudian dimasukkan kedalam botol kultur masing-masing botol sebanyak 12,5 mL medium.

Selanjutnya botol kultur berisi medium MS yang telah dimodifikasi ditutup dengan aluminium foil dan disterilisasi di autoklaf.

Bahan eksplan dipetik dari pucuk daun teh posisi 1, 3 dari tanaman yang diperoleh dari lahan perkebunan yang selanjutnya dicuci dengan air yang mengalir sampai bersih. Untuk mendukung kondisi steril, selanjutnya direndam dalam larutan benomyl 0,2-0,3 % selama 20 menit untuk mematikan jamur. Proses selanjutnya dilakukan di laminar air flow (LAF), pucuk daun direndam sambil dikocok pelan dalam larutan berbahan aktif 5,25% NaCLO selama 30 menit. Selanjutnya dibilas dengan akuades steril, sambil dikocok pelan selama 5 menit, ulangi kegiatan ini 3 kali. Daun steril dipindahkan pada cawan petri, hilangkan tulang dan tepi daun, kemudian daun dipotong-potong ukuran 0,5-1 cm. Potongan daun ditanam pada botol kultur, sebanyak 4-5 eksplan. Botol kultur diinkubasi di ruang terang pada suhu 25°C dan diamati kemampuannya untuk membentuk kalus dan kalus yang terbentuk disubkultur. Kalus yang disubkulturkan dipilih bagian yang berwarna putih kehijauan karena pada bagian tersebut sel-selnya masih aktif mengalami pembelahan. Subkultur dilakukan dengan cara memindahkan kalus pada media baru secara aseptis diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu 25°C selama 1 bulan dengan pencahayaan untuk pemeliharaan kalus dan perbanyakkan. Kalus hasil perbanyakkan dipindahkan ke media elisitasi dengan ion KH_2PO_4 . Setelah umur 1 (satu) bulan dari masa elisitasi, dipanen dengan cara mengeluarkan dari botol, ditiriskan di tisu kemudian ditimbang, didapat berat basah.

Penetapan kadar ekstrak kalus dengan *High-Performance Liquid Chromatography* atau HPLC yang dimodifikasi (Hanifa, 2017) dengan tahapan sebagai berikut:

a. Pembuatan standar asam galat.

Standar asam galat dibuat larutan dengan konsentrasi 10%. Larutan yang didapat disaring dengan penyaring *Whatman* dengan diameter pori 0,2 μm , kemudian diinjeksikan pada HPLC sebanyak 20 μl melalui injektor dan dielusi dengan kondisi HPLC yang terpilih, menghasilkan profil kromatogram standar asam galat. Dari kromatogram puncak diperoleh data waktu retensi. Waktu retensi dapat digunakan untuk analisis kualitatif sedangkan kromatogram tinggi puncak atau area puncak dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

b. Ekstraksi sampel kalus

Ekstrak sampel kalus yang diperoleh dilarutkan dalam metanol kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml. Larutan yang didapat kemudian disaring

dengan penyaring *Whatman* dengan diameter pori 0,2 μm , lalu diinjeksikan pada HPLC sebanyak 20 μl melalui injektor dan dielusi dengan kondisi HPLC yang terpilih. Dari puncak-puncak tersebut, diperoleh data waktu retensi. Waktu retensi dapat digunakan untuk analisis kualitatif sedangkan kromatogram tinggi puncak atau area puncak dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

c. Contoh perhitungan penentuan kadar asam galat

Contoh perhitungan penentuan kadar asam galat menggunakan data kromatogram dan area dari sampel maupun standar asam galat. Perhitungan kadar asam galat mengikuti Metode Mustafa, R.A. et. al (2010) sebagai berikut:

Kadar asam galat = $\frac{\text{kromatogram area asam galat (sampel)}}{\text{kromatogram area standar asam galat}} \times \text{konsentrasi standar asam galat}$
didapat kadar asam galat sebesar 1,07 %.

Klaim

1. Metode produksi asam galat menggunakan kultur *in vitro* *Camellia sinensis* L dengan langkah-langkah sebagai berikut:
 - a. sterilisasi peralatan botol kultur di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 9 menit tekanan satu atmosfer
 - b. sterilisasi eksplan daun menggunakan larutan benomyl dan NaClO;
 - c. pembuatan media perlakuan dengan zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4-Diklorophenoksi asetat yang dituangkan dalam botol kultur yang diisi eksplan daun yang telah disterilisasi;
 - d. inisiasi eksplan dengan menanam potongan pucuk daun *Camellia sinensis* L pada media perlakuan;
 - e. penghimpunan eksplan yang telah menjadi kalus *Camellia sinensis* L dilanjutkan dengan subkultur;
 - f. elisitasi kalus *Camellia sinensis* L dengan menggunakan ion posphor untuk mendapatkan asam galat;
 - g. pengamatan pertumbuhan kalus dilanjutkan uji kandungan kalus secara kualitatif-kuantitatif dengan HPLC untuk mendapatkan kadar asam galat.
2. Metode produksi asam galat dengan kultur *in vitro* sesuai dengan klaim 1, dimana sterilisasi dilakukan dengan merendam bahan dalam larutan benomyl 0,2-0,3% selama 20 menit dan dilanjutkan dengan merendam bahan dalam larutan berbahan aktif 5,25% NaClO selama 30 menit.
3. Metode produksi asam galat dengan kultur *in vitro* sesuai dengan klaim 1 dimana zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah kinetin sebesar 1-3 % dan 2,4-Diklorophenoksi asetat sebesar 0,3-0,5 %.
4. Metode produksi asam galat dengan kultur *in vitro* sesuai dengan klaim 1, dimana potongan pucuk daun teh yang digunakan adalah pucuk daun pada posisi 1-3 dari tangkainya seluas 1-2 cm².
5. Metode produksi asam galat yang dihasilkan sesuai klaim-klaim sebelumnya mempunyai kadar asam galat sebesar 1,07 %.

Abstrak**METODE PRODUKSI ASAM GALAT MELALUI KULTUR IN VITRO KALUS
Camellia sinensis L.**

Invesi ini terkait dengan metode produksi asam galat dimana asam galat tersebut dapat secara aktif berperan juga sebagai zat anti kanker, anti tumor, lebih khusus lagi asam galat sebagai bahan bioaktif tersebut dapat diproduksi melalui kultur *in vitro* kalus *Camellia sinensis* L dalam skala besar, yang meliputi langkah-langkah: sterilisasi, pembuatan media perlakuan dengan zat pengatur tumbuh, inisiasi eksplan dengan menanam potongan pucuk daun *Camellia sinensis* L pada media, induksi kalus dilanjutkan subkultur, elisitasi kalus *Camellia sinensis* L dengan menggunakan ion pospor, pengawasan pertumbuhan kalus dilanjutkan uji kualitatif-kuantitatif asam galat dengan HPLC. Dengan proses metode invensi ini, dihasilkan produk asam galat yang kadarnya sebesar 1,07 %. Metode produksi asam galat melalui kultur *in vitro* ini diantaranya dapat dilakukan pada suatu ruangan yang terbatas, mudah pengawasannya dan dapat dikembangkan menjadi skala industri.