UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Development of a Baseline Callus Culture Protocol and Extracellular Metabolite Profiling of Purple Okra (Abelmoschus esculentus (L.) Moench 'ZAHIRA IPB')
Achmad Nadhmi Arfa, Woro Anindito Sri Tunjung, S.Si., M.Sc., Ph.D.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DEVELOPMENT OF A BASELINE CALLUS CULTURE PROTOCOL AND EXTRACELLULAR METABOLITE PROFILING OF PURPLE OKRA (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench 'ZAHIRA IPB')

By:

Achmad Nadhmi Arfa
22/492373/BI/10913
Supervisor: Woro Anindito Sri Tunjung, S.Si., M.Sc., Ph.D.

ABSTRACT

Phytotherapy has emerged as a promising alternative to synthetic drugs by utilizing bioactive compounds from medicinal plants with fewer side effects. Among medicinal plants with pharmaceutical potential, okra (*Abelmoschus esculentus*) is rich in bioactive compounds and has been reported to exhibit various pharmacological activities, including anticancer, cardioprotective, etc. To support the sustainable production of these valuable metabolites, plant tissue culture provides a scalable and efficient in-vitro platform for pharmaceutical applications. This study aimed to establish and evaluate a sequential experimental pipeline for okra leaf callus culture, comprising of optimization of explant surface sterilization, assessment of callus induction through callogenesis stages and induction frequency, and metabolite profiling of culture medium exudates using LC-HRMS. The methodology included ex-vitro cultivation of okra plants, leaf sterilization optimization, in-vitro callus culture, culture medium extraction, and LC-HRMS analysis. Results showed that the optimized sterilization protocol consisted of immersion in a 1.5 ppm bactericide-fungicide solution for 20 minutes, followed by treatment with 0.6% NaOCl-Tween 20 for 3 minutes, 70% alcohol for 30 seconds, and mechanical removal of leaf trichomes. Using this optimized protocol, three sequential stages of callogenesis were observed, namely wound response, cell division, and callus formation, with 68% of explants reaching the final pluripotency stage. Furthermore, LC-HRMS analysis identified 32 compounds belonging to 9 metabolite groups, predominantly primary metabolites such as amino acids and organic acids. Overall, this study successfully established an effective protocol for okra leaf callus culture through optimized surface sterilization and demonstrated a high callogenesis success rate. In addition, the metabolite profile of culture medium exudates indicates their potential as biomarkers for callus growth monitoring. Future studies should investigate elicitor treatment to enhance secondary metabolite production and a comparison between different plant growth regulators (PGRs) to improve callus organogenesis and metabolite accumulation.

Keywords: *Abelmoschus esculentus*, callus culture system, callogenesis, surface sterilization, LC-HRMS.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Development of a Baseline Callus Culture Protocol and Extracellular Metabolite Profiling of Purple Okra (Abelmoschus esculentus (L.) Moench 'ZAHIRA IPB')
Achmad Nadhmi Arfa, Woro Anindito Sri Tunjung, S.Si., M.Sc., Ph.D.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PENGEMBANGAN PROTOKOL DASAR KULTUR KALUS DAN PROFIL METABOLIT EKSTRASELULER PADA OKRA UNGU (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench 'ZAHIRA IPB')

Oleh:

Achmad Nadhmi Arfa
22/492373/BI/10913
Pembimbing: Woro Anindito Sri Tunjung, S.Si., M.Sc., Ph.D.

INTISARI

Penerapan fitoterapi muncul sebagai alternatif yang memiliki potensi besar terhadap obat-obatan sintetis melalui pemanfaatan senyawa bioaktif dari tanaman obat dengan efek samping yang minimal. Di antara tanaman obat dengan potensi medis, okra (*Abelmoschus esculentus*) merupakan tanaman obat yang kaya akan senyawa bioaktif dan telah dilaporkan menunjukkan berbagai aktivitas farmakologis, termasuk antikanker, kardioprotektif, dll. Untuk mendukung produksi metabolit ini secara berkelanjutan, kultur jaringan tanaman menyediakan *platform in-vitro* yang skalabel dan efisien untuk aplikasi farmasi. Penelitian ini bertujuan untuk membangun dan mengevaluasi suatu jalur eksperimental yang berhubungan antara satu sama lain pada kultur kalus daun okra, yang meliputi optimasi sterilisasi permukaan eksplan, penilaian induksi kalus melalui tahapan kalogenesis dan frekuensi induksi, serta *profiling* metabolit eksudat medium kultur menggunakan LC-HRMS. Metodologi yang digunakan mencakup budidaya tanaman okra secara ex-vitro, optimasi sterilisasi daun, kultur kalus in-vitro, ekstraksi medium kultur, dan analisis LC-HRMS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa protokol sterilisasi yang dioptimalkan terdiri atas perendaman dalam larutan bakterisida-fungisida 1.5 ppm selama 20 menit, dilanjutkan dengan perlakuan NaOCl 0.6%–Tween 20 selama 3 menit, alkohol 70% selama 30 detik, dan pencukuran trikoma daun. Dengan protokol optimal ini, tiga tahapan kalogenesis telah diamati, yaitu respons luka, pembelahan sel, dan pembentukan kalus, dengan 68% eksplan berhasil mencapai tahap pluripotensi akhir. Analisis LC-HRMS mengidentifikasi 32 senyawa yang termasuk dalam 9 kelompok metabolit, dengan dominasi metabolit primer seperti asam amino dan organik. Secara keseluruhan, penelitian ini berhasil mengembangkan protokol efektif untuk kultur kalus daun okra melalui sterilisasi permukaan yang optimal, dan menunjukkan tingkat keberhasilan kalogenesis yang tinggi. Selain itu, profil metabolit eksudat medium kultur menunjukkan potensinya sebagai biomarker untuk *monitoring* pertumbuhan kalus. Saran penelitian untuk ke depannya adalah pengkajian pemberian elisitor untuk produksi metabolit sekunder, serta perbandingan zat pengatur tumbuh (ZPT) untuk organogenesis kalus dan akumulasi metabolit.

Kata kunci: *Abelmoschus esculentus*, sistem kultur kalus, kalogenesis, sterilisasi, LC-HRMS