



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM

SERTIFIKAT PATEN SEDERHANA

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

Nama dan Alamat Pemegang Paten : UNIVERSITAS DIPONEGORO
Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang, Semarang

Untuk Inovasi dengan Judul : METODE PEMBUATAN KULTUR CAMPURAN *Bacillus flexus* dan *Bacillus aerius* SEBAGAI PROBIOTIK BAGI IKAN BANDENG (*Chanos chanos*)

Inventor : Dr. rer. nat. Anto Budiharjo, S.Si., M.Biotech.
Dr. Diana Chilmawati, S.Pi., M.Si.
Dr. Dra. Arina Tri Lunggani, M.Si.
Dyah Wulandari, S.Si., Ph.D.
Eki Adiarsa, S.Si.
Lantika Intania

Tanggal Penerimaan : 28 Agustus 2024

Nomor Paten : IDS000010223

Tanggal Pemberian : 14 April 2025

Pelindungan Paten Sederhana untuk inovasi tersebut diberikan untuk selama 10 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 23 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

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



a.n MENTERI HUKUM
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
u.b.

Direktur Paten, Desain Tata Letak Sirkuit Terpadu dan
Rahasia Dagang



Dra. Sri Lastami, S.T., M.IPL.
NIP. 196512311991032002



(12) PATEN INDONESIA

(11) IDS000010223 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 14 April 2025

(51) Klasifikasi IPC⁸ : A 23K 50/00(2016.01), A 61K 35/00(2006.01), C 12N 1/00(2006.01)

(21) No. Permohonan Paten : S00202408528

(22) Tanggal Penerimaan: 28 Agustus 2024

(30) Data Prioritas :

(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

(43) Tanggal Pengumuman: 09 September 2024

(56) Dokumen Pemandang:

P00201912215

P00201506276

P00201500586

P00202004599

S00202208714

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UNIVERSITAS DIPONEGORO
Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang, Semarang

(72) Nama Inventor :

Dr. rer. nat. Anto Budiharjo, S.Si., M.Biotech., ID

Dr. Diana Chilmawati, S.Pi., M.Si., ID

Dr. Dra. Arina Tri Lunggani, M.Si., ID

Dyah Wulandari, S.Si., Ph.D., ID

Eki Adiarsa, S.Si., ID

Lantika Intania, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

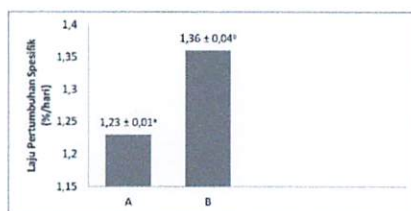
Pemeriksa Paten : Drs. Ahmad Muniri

Jumlah Klaim : 1

(54) Judul Invensi : METODE PEMBUATAN KULTUR CAMPURAN *Bacillus flexus* dan *Bacillus aerius* SEBAGAI PROBIOTIK BAGI IKAN BANDENG (*Chanos chanos*)

(57) Abstrak :

Inveni ini berhubungan dengan suatu metode pembuatan probiotik kultur campuran *B. flexus* dan *B. aerius* dalam meningkatkan produktivitas pertumbuhan ikan bandeng yang terdiri langkah-langkah: menyediakan media campuran yang terdiri dari molase cair (5% molase + air); menginokulasi kultur campuran pada media molase 5% selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27C sebagai stock; menginokulasi dan menginkubasi kultur campuran probiotik dengan komposisi 2.5% probiotik + 5% molase + 200 mL air selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27C sampai mencapai populasi campuran 1010 CFU/mL. Dimana probiotik mampu secara efektif meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng (*Chanos chanos*). Tujuan utama dari invensi ini adalah untuk menyediakan proses pembuatan probiotik kultur campuran *B. flexus* dan *B. Aerius*. Tujuan lain invensi ini adalah untuk menyediakan probiotik campuran *B. flexus* dan *B. Aerius* untuk meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng (*Chanos chanos*). Tujuan selanjutnya mengurangi limbah organik pada budidaya ikan bandeng. Tujuan selanjutnya pada penggunaan probiotik kultur campuran ini mampu membunuh bakteri patogen *Vibrio parahaemolyticus*. Tujuan dan manfaat manfaat yang lain serta pengertian yang lebih lengkap dari invensi berikut ini sebagai perwujudan yang lebih disukai dan akan dijelaskan dengan mengacu pada gambar-gambar yang menyertainya.



Keterangan : A : Kontrol; B : Pemberian *B. flexus* dan *B. Aerius*

Gambar 1



Deskripsi

METODE PEMBUATAN KULTUR CAMPURAN *Bacillus flexus* dan *Bacillus aerius* SEBAGAI PROBIOTIK BAGI IKAN BANDENG (*Chanos chanos*)

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini mengenai metode pembuatan kultur campuran *Bacillus flexus* dan *Bacillus aerius* sebagai probiotik, lebih khusus lagi, invensi ini berhubungan dengan aktifitas antagonistik kultur campuran terhadap bakteri patogen *Vibrio harveyi* serta menghasilkan enzim ekstraseluler, yaitu enzim protease, selulase, dan kitinase yang dapat memfermentasi pakan, sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng (*Chanos chanos*).

Latar Belakang Invensi

Upaya peningkatan produksi akuakultur terus dilakukan untuk memenuhi permintaan dan meningkatkan keuntungan. Ikan bandeng (*C. chanos*) merupakan salah satu komoditas akuakultur yang bernilai tinggi dari segi ekonomi. Peningkatan kualitas pakan menjadi salah satu upaya yang biasa dilakukan dalam proses budidaya ikan bandeng. Beberapa zat aditif sering ditambahkan pada pakan seperti probiotik, enzim eksogen, dan imunostimulan untuk meningkatkan kualitas dan efisiensi pakan.

Pada umumnya pengendalian serangan *V. harveyi* pada bandeng dilakukan dengan pemberian antibiotik. Penambahan antibiotik mampu menimbulkan efek negatif berupa patogen menjadi resisten. Probiotik digunakan sebagai pengganti antibiotik yang lebih ramah bagi hewan air. Probiotik merupakan suplemen yang berisi sel hidup dari mikroba dan bersifat menguntungkan bagi inangnya. Peran probiotik dalam budidaya ikan bandeng yaitu mencegah infeksi patogen pada



usus, membantu penyerapan pakan dengan menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler, serta dapat meningkatkan pertumbuhan.

B. flexus yang berasal dari perairan laut memiliki aktivitas proteolitik. *B. flexus* yang diisolasi dari tanah dapat menghasilkan enzim selulase. *B. aerius* B81e yang diisolasi dari usus ikan lele memiliki kemampuan menghasilkan enzim pencernaan seperti protease. Penemuan ini berhubungan dengan metode pembuatan kultur campuran *Bacillus flexus* dan *Bacillus aerius* dengan kemampuan antagonistik terhadap *V. harveyi* dan potensi enzimatik yang beragam. Probiotik akan meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng dengan cara menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat meningkatkan kinerja sistem pencernaan ikan bandeng. Permohonan paten sebelumnya terkait dengan invensi ini adalah *Bacillus* sp. telah banyak diketahui memiliki berbagai mekanisme aksi sebagai probiotik seperti aktivitas antagonis, kemampuan kolonisasi pada usus, sekresi enzim pencernaan, produksi nutrisi tambahan (vitamin, asam lemak, asam amino esensial) dan faktor pertumbuhan lain yang diperlukan oleh udang pada tahun 2019 oleh Toledo, et al. 2019 *Aquaculture* 500: 196-205, sedangkan *B. aerius* B81e yang diisolasi dari usus ikan lele memiliki kemampuan menghasilkan enzim pencernaan protease yang berpotensi menjadi probiotik pada tahun 2018 oleh Meidong, et al. 2018 *Fish Shellfish Immunol* 73:1-10.

Permohonan paten sebelumnya terkait dengan invensi ini adalah penggunaan *Bacillus subtilis* P23 dan *Staphylococcus lentus* L1k sebagai probiotik untuk ikan air tawar dan proses pembuatannya oleh Lusiastuti, et al. (IDP000077159) pada tahun 2021; dan penggunaan *Photobacterium damsela* strain N-5, *Bacillus subtilis* strain C-1, *Bacillus oceaniseminis* strain H-3, dan *Bacillus amyloliquefaciens* strain I-5 sebagai probiotik untuk lobster oleh Haryanti, et al. (IDP000070944) pada tahun 2020.



Permohonan paten di atas tidak ada mengungkapkan tentang penggunaan kultur campuran *B. flexus* dan *B. aerius* sebagai probiotik untuk pertumbuhan ikan bandeng. Oleh karena itu tujuan dari invensi ini adalah untuk mendapatkan probiotik dari kultur campuran *B. flexus* dan *B. aerius*.

Uraian Singkat Invensi

Investasi ini berhubungan dengan suatu metode pembuatan probiotik kultur campuran *B. flexus* dan *B. aerius* dalam meningkatkan produktivitas pertumbuhan ikan bandeng yang terdiri langkah-langkah: menyediakan media campuran yang terdiri dari molase cair (5% molase + air); menginokulasi kultur campuran pada media molase 5% selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27°C sebagai stock; menginokulasi dan menginkubasi kultur campuran probiotik dengan komposisi 2.5% probiotik + 5% molase + 200 mL air selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27°C sampai mencapai populasi campuran 10^{10} CFU/mL. Dimana probiotik mampu secara efektif meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng (*Chanos chanos*).

Tujuan utama dari invensi ini adalah untuk menyediakan proses pembuatan probiotik kultur campuran *B. flexus* dan *B. Aerius*.

Tujuan lain invensi ini adalah untuk menyediakan probiotik campuran *B. flexus* dan *B. Aerius* untuk meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng (*Chanos chanos*).

Tujuan selanjutnya mengurangi limbah organik pada budidaya ikan bandeng.

Tujuan selanjutnya pada penggunaan probiotik kultur campuran ini mampu membunuh bakteri patogen *Vibrio parahaemolyticus*.

Tujuan dan manfaat-manfaat yang lain serta pengertian yang lebih lengkap dari invensi berikut ini sebagai perwujudan



yang lebih disukai dan akan dijelaskan dengan mengacu pada gambar-gambar yang menyertainya.

Uraian Singkat Gambar

- 5 Gambar 1, adalah merepresentasikan diagram parameter pertumbuhan ikan bandeng yang diamati setelah pemberian probiotik selama 1 bulan.

Uraian Lengkap Invensi

- 10 Invesi ini berhubungan dengan suatu metode pembuatan probiotik kultur campuran *B. flexus* dan *B. aerius* dalam meningkatkan produktivitas pertumbuhan ikan bandeng yang terdiri langkah-langkah: menyediakan media campuran yang terdiri dari molase cair (5% molase + air); menginokulasi
- 15 kultur campuran pada media molase 5% selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27C sebagai stock; menginokulasi dan menginkubasi kultur campuran probiotik dengan komposisi 2.5% probiotik + 5% molase + 200 mL air selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27C sampai mencapai populasi campuran 10^{10}
- 20 CFU/ml. Dimana probiotik mampu secara efektif meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng (*Chanos chanos*).

- Invensi ini akan secara lengkap diuraikan melalui proses skrining enzim protease, selulase, dan kitinase *B. flexus* dan *B. aerius* pada media selektif agar. Validasi
- 25 menunjukkan *B. flexus* and *B. aerius* dapat menghasilkan enzim protease, selulase, dan kitinase yang ditandai dengan adanya zona bening setelah inkubasi.

- Hasil uji antagonis antara *B. flexus* dan *B. aerius* pada media MHA menunjukkan kedua bakteri tidak menunjukkan sifat antagonis yang ditandai tidak terbentuknya zona bening selama inkubasi, sehingga dapat dijadikan kultur campuran.
- 30 Mengacu pada Gambar 1, merupakan hasil parameter pertumbuhan ikan bandeng perlakuan kontrol tanpa penambahan



probiotik dan perlakuan uji dengan penambahan probiotik. Probiotik *B. flexus* dan *B. aerius* terbukti meningkatkan respon pertumbuhan dan kelulushidupan terhadap ikan bandeng dimana memiliki nilai yang signifikan terhadap perlakuan kontrol.

5 Prosedur melaksanakan invensi ini yaitu

Isolat *B. flexus* dan *B. aerius* dikultur pada media marine agar pada suhu 37°C selama 24 jam. Skrining enzim protease, selulase, dan kitinase dilakukan pada media agar selektif dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Skrining enzim protease pada media skim milk + agar ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni setelah inkubasi. Skrining enzim selulase pada media CMC + agar ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni setelah ditetesi iodine dan diinkubasi 24 jam. Skrining enzim kitinase pada media koloidal kitin + agar ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni setelah ditetesi iodine dan diinkubasi 24 jam.

Uji antagonis dilakukan dengan metode overlay dengan menginokulasi kultur cair *B. flexus* dan *B. aerius* pada media MHA. Hasil uji menunjukkan kedua bakteri dapat dijadikan kultur campuran karena tidak menghasilkan zona bening disekitar koloni setelah diinkubasi 24 jam.

Pembuatan probiotik dilakukan dengan mengkulturkan *B. flexus* dan *B. aerius* pada media marine broth pada suhu 37°C selama 24 jam 120 rpm. Kultur campuran diinokulasikan pada media molase 5% dengan komposisi 5 mL kultur + 10 mL molase + 200 mL air.

Persiapan uji in vivo dilakukan dengan karantina ikan bandeng selama 1 minggu di kolam besar yang sudah disiapkan, sterilisasi akuarium dengan Methylene Blue, pengisian air dengan salinitas 5 ppt, dan instalasi aerator untuk suplai oksigen pada akuarium. Ikan bandeng yang sudah dikarantina dipindahkan ke akuarium.



Pemberian probiotik dilakukan secara dua kali dalam seminggu dengan interval 3 hari.

Parameter yang diukur yaitu pertumbuhan (berat badan mutlak (W), nilai *survival rate* (SR), nilai *feed conversion ratio* (FCR), nilai *specific growth rate* (SGR)), dan kualitas air (salinitas, pH, oksigen terlarut, dan suhu).

Parameter	Nilai	Nilai Rujukan
Salinitas (ppt)	5-15	7-57 (Hendrajat, 2018)
pH	7,5-8,5	7-8,5 (Cahyanurani <i>et al.</i> , 2023)
Oksigen Terlarut (mg/L)	5-8	3-8 (Hendrajat, 2018)
Suhu (°C)	26,5-27,3	23-32 (Hendrajat, 2018)

Dari uraian diatas jelas bahwa hasil dari invensi ini dapat memberi manfaat bagi budidaya ikan bandeng karena secara praktis dan efisien probiotik *B. flexus* dan *B. aerius* mampu berperan sebagai pertumbuhan ikan bandeng dan invensi ini benar-benar menyajikan suatu penyempurnaan yang sangat praktis khususnya pada metode pembuatan probiotik *B. flexus* dan *B. aerius* untuk pertumbuhan ikan bandeng (*Chanos chanos*).

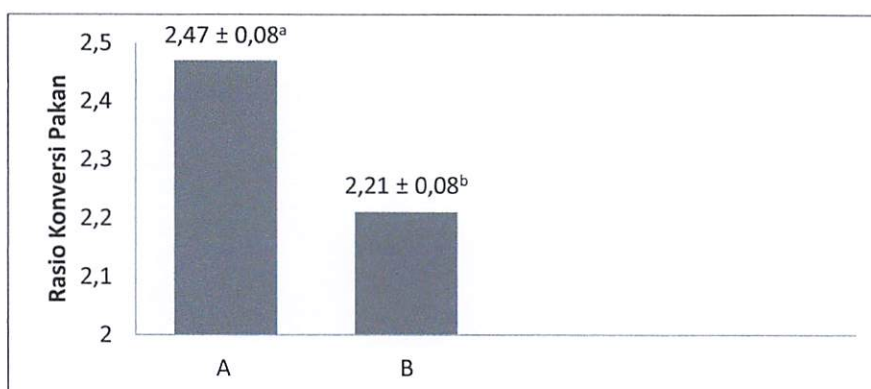
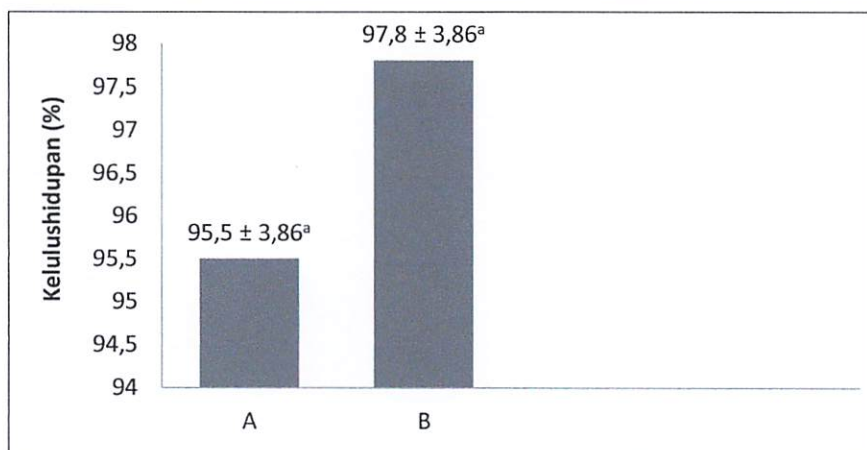
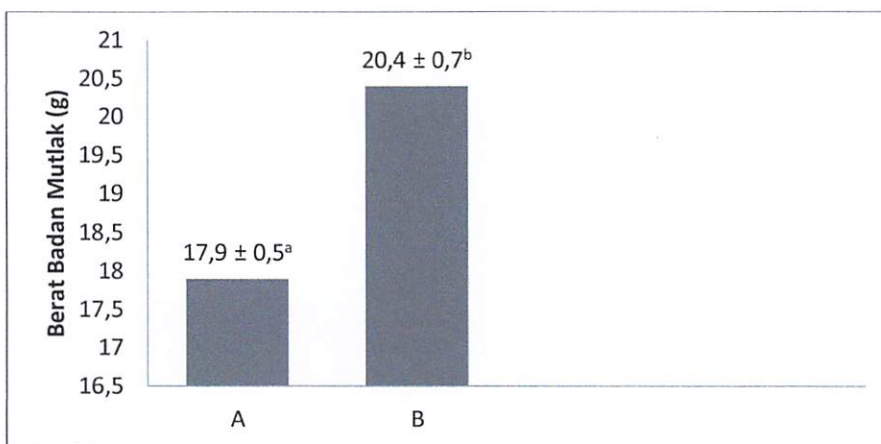
**Klaim**

1. Suatu metode pembuatan probiotik kultur campuran *B. flexus* dan *B. aerius* dalam meningkatkan produktivitas pertumbuhan ikan bandeng yang terdiri langkah-langkah:
 - 5 a. menyiapkan kultur campuran *Bacillus flexus* dan *Bacillus aerius* dengan kerapian 10^6 CFU/ml;
 - b. menyediakan media campuran yang terdiri dari molase cair (5% molase + air);
 - 10 c. menginokulasi kultur campuran pada media molase 5% selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27C sebagai stock;
 - d. menginokulasi dan menginkubasi kultur campuran probiotik dengan komposisi 2.5% probiotik + 5% molase +
15 200 mL air selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27C sampai mencapai populasi campuran 10^{10} CFU/ml.

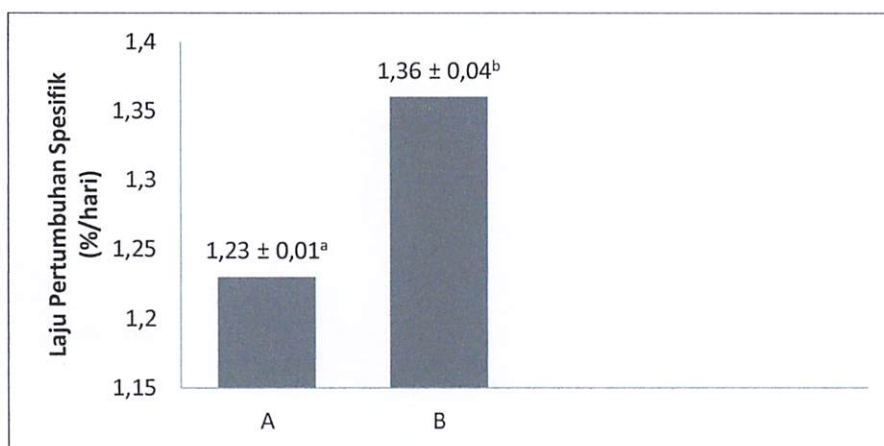
Abstrak

**METODE PEMBUATAN KULTUR CAMPURAN *Bacillus flexus* dan
Bacillus aerius SEBAGAI PROBIOTIK BAGI IKAN BANDENG (*Chanos
chanos*)**

Invesi ini berhubungan dengan suatu metode pembuatan probiotik kultur campuran *B. flexus* dan *B. aerius* dalam meningkatkan produktivitas pertumbuhan ikan bandeng yang terdiri langkah-langkah: menyediakan media campuran yang terdiri dari molase cair (5% molase + air); menginokulasi kultur campuran pada media molase 5% selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27C sebagai stock; menginokulasi dan menginkubasi kultur campuran probiotik dengan komposisi 2.5% probiotik + 5% molase + 200 mL air selama 24 jam dengan shaker pada 120 rpm suhu 27C sampai mencapai populasi campuran 10^{10} CFU/ml. Dimana probiotik mampu secara efektif meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng (*Chanos chanos*). Tujuan utama dari invensi ini adalah untuk menyediakan proses pembuatan probiotik kultur campuran *B. flexus* dan *B. Aerius*. Tujuan lain invensi ini adalah untuk menyediakan probiotik campuran *B. flexus* dan *B. Aerius* untuk meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng (*Chanos chanos*). Tujuan selanjutnya mengurangi limbah organik pada budidaya ikan bandeng. Tujuan selanjutnya pada penggunaan probiotik kultur campuran ini mampu membunuh bakteri patogen *Vibrio parahaemoliticus*. Tujuan dan manfaat-manfaat yang lain serta pengertian yang lebih lengkap dari invensi berikut ini sebagai perwujudan yang lebih disukai dan akan dijelaskan dengan mengacu pada gambar-gambar yang menyertainya.



Handwritten signature



Keterangan : A : Kontrol; B : Pemberian *B. flexus* dan *B. Aerius*

Gambar 1

Handwritten signature

**KEMENTERIAN HUKUM
REPUBLIK INDONESIA
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.dgip.go.id

INFORMASI BIAYA TAHUNAN

Nomor Paten : IDS000010223 Tanggal diberi : 14 April 2025 Jumlah Klaim : 1
Nomor Permohonan : S00202408528 Tanggal Penerimaan : 28 Agustus 2024

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

Perhitungan biaya tahunan yang sudah dibayarkan adalah :

Biaya Tahunan Ke-	Periode Perlindungan	Batas Akhir Pembayaran	Tgl Pembayaran	Jumlah Pembayaran	Keterangan
1	28/08/2024-27/08/2025	13/10/2025	undefined	0	Klaim 1; Total Klaim: 0; Denda: 0
2	28/08/2025-27/08/2026	13/10/2025	undefined	0	Klaim 1; Total Klaim: 0; Denda: 0
3	28/08/2026-27/08/2027	29/07/2026	undefined	0	Klaim 1; Total Klaim: 0; Denda: 0
4	28/08/2027-27/08/2028	29/07/2027	undefined	0	Klaim 1; Total Klaim: 0; Denda: 0
5	28/08/2028-27/08/2029	29/07/2028	undefined	0	Klaim 1; Total Klaim: 0; Denda: 0

Perhitungan biaya tahunan yang belum dibayarkan adalah :

Biaya Tahunan Ke-	Periode Perlindungan	Batas Akhir Pembayaran	Biaya Dasar	Jml Klaim	Biaya Klaim	Total	Terlambat (Bulan)	Total Denda	Jumlah Pembayaran
6	28/08/2029-27/08/2030	29/07/2029	1.650.000	1	50.000	1.700.000	0	0	1.700.000
7	28/08/2030-27/08/2031	29/07/2030	2.200.000	1	50.000	2.250.000	0	0	2.250.000
8	28/08/2031-27/08/2032	29/07/2031	2.750.000	1	50.000	2.800.000	0	0	2.800.000
9	28/08/2032-27/08/2033	29/07/2032	3.300.000	1	50.000	3.350.000	0	0	3.350.000
10	28/08/2033-27/08/2034	29/07/2033	3.850.000	1	50.000	3.900.000	0	0	3.900.000

Biaya yang harus dibayarkan hingga tanggal 29-07-2029 (tahun ke-6) adalah sebesar Rp.1.700.000 27

- 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