



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN SEDERHANA

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia 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 Invensi dengan Judul : BIOMATERIAL AKTIF ANTI-ANTRAX DARI ENDOFIT DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*) SEBAGAI BAKTERIOSIDA TERHADAP *Staphylococcus aureus* MRSA

Inventor : Khuzyia Rizqi Triavi Ananda
Muhamad Fikri Zulfikar
Hafsah Avisha
Muhamad Nastain
Ridwan Abdullah
Sunarno

Tanggal Penerimaan : 10 Mei 2017

Nomor Paten : IDS000002354

Tanggal Pemberian : 10 Mei 2019

Perlindungan Paten Sederhana untuk invensi 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 invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDS000002354 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 10 Mei 2019

(51) Klasifikasi IPC⁸ : C 12N 1/00, C 12Q 1/04, A 61P 31/04

(21) No. Permohonan Paten : S00201702991

(22) Tanggal Penerimaan: 10 Mei 2017

(30) Data Prioritas :
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

(43) Tanggal Pengumuman: 25 Agustus 2017

(56) Dokumen Pembanding:
DE 3420230 A1 (Steroid, the Isolatin thereof and Use as
Pharmaceutical) , 30 Mei 1984

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

(72) Nama Inventor :
Khuzyia Rizqi Triavi Ananda, ID
Muhamad Fikri Zulfikar, ID
Hafsah Avisha, ID
Muhamad Nastain, ID
Ridwan Abdullah, ID
Sunarno, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Dra. Farida, M.IPL.

Jumlah Klaim : 2

Judul Invensi : BIOMATERIAL AKTIF ANTI-ANTRAX DARI ENDOFIT DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*) SEBAGAI BAKTERIOSIDA
TERHADAP *Staphylococcus aureus* MRSA

Abstrak :

Invensi ini tentang penanganan penyakit antraks di Indonesia dengan memanfaatkan biomaterial aktif anti antraks dari mikroba endofit daun mimba (*Azadirachta indica*). Sediaan biomaterial aktif yang diperoleh memiliki potensi sebagai bakteriostatik dan bakteriosida terhadap bakteri *S. aureus* MRSA sebagai bakteri uji dengan patogenisitas yang setara dengan *B. anthracis* secara *in vitro*.



Deskripsi

BIOMATERIAL AKTIF ANTI-ANTRAKS DARI ENDOFIT DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*) SEBAGAI BAKTERIOSIDA TERHADAP *Staphylococcus aureus* MRSA

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berupa sediaan biomaterial aktif *Anti-antraks* dari hasil ekstraksi mikroba endofit daun mimba (*Azadirachta indica*) yang memiliki kemampuan bakteriostatik dan bakteriosida terhadap *Staphylococcus aureus* MRSA yang setara dengan *Bacillus anthracis* penyebab penyakit antraks.

Latar Belakang Invensi

Antraks merupakan salah satu penyakit yang digunakan dalam bioterrorisme yang terjadi melalui konsumsi makanan ataupun inhalasi. Jenis bakteri yang digunakan sebagai bioterrorisme adalah *B. Anthracis* (US7459700B2). Spora dari bakteri jenis ini dapat bertahan hidup pada temperatur dan bahan kimia yang ekstrim dan merupakan agen penular dengan potensi yang besar untuk biowarfare dan bioterrorisme (US20040061076).

Fakta ini membuktikan bahwa bioterrorisme menggunakan *B. anthracis* sangat berbahaya sehingga diperlukan suatu terobosan baru untuk penangkalan kasus tersebut secara efisien dan efektif melalui mekanisme netralisasi, serta dengan metode penelitian yang aman.

Penggunaan vaksin suspensi spora *B. anthracis* galur Sterne 34F2, tidak berkapsul dan toksigenik terkadang menimbulkan rasa sakit dan nekrosis di tempat suntikan, oedema subkutan dan kematian hewan ternak pasca vaksinasi (US 2151364A). Ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) diketahui

dapat melawan bakteri patogen *Bacillus anthracis* (US5698423A); (WO2002022147A1).

Mengacu pada fakta tersebut, penanganan kasus antraks perlu untuk dikembangkan dengan pemanfaatan biomaterial berbasis bakteri endofit. Pemanfaatan endofit atau mikroba simbion dalam tanaman dapat menggantikan metode ekstraksi yang bersifat tidak efisien, karena memerlukan banyak tanaman yang harus di ekstrak dalam skala besar (WO1990013224A1).

Dari fakta di atas telah dilakukan suatu inovasi untuk penanganan kasus bioterrorism di Indonesia dengan menggunakan herbal, biomaterial endofit. Skrining endofit daun mimba (*Azadirachta indica*) berpotensi sebagai bakteriosida melalui uji anti *Staphylococcus aureus* MRSA. Biomaterial aktif anti antraks dari invensi ini dari hasil ekstraksi endofit daun mimba dapat melawan pertumbuhan vegetatif Antraks-Agen *Bioterrorism*.

Uraian Singkat Invensi

Tujuan dari invensi ini adalah untuk memberikan solusi terhadap ancaman penyakit antraks di Indonesia melalui sediaan biomaterial aktif anti-Antraks dari mikrobia endofit daun mimba (*Azadirachta indica*) yang memiliki kemampuan bakteriostatik dan bakteriosida terhadap *S. aureus* MRSA yang bersifat patogen setara dengan bakteri antraks.

25

Uraian Lengkap Invensi

Pembuatan Biomaterial Aktif

Metode pembuatan adalah metode isolasi dengan menggunakan medium MRSA (*deMann Rogosa Sharpe Agar*), kemudian seleksi dengan uji patogenisitas menggunakan agar darah, dilanjutkan dengan ekstraksi endofit menggunakan mikrosentrifuse 1000 rpm dan skrining pada medium biakan *S.*

aureus MRSA untuk mendapatkan isolat terpilih (yang tidak melisis sel darah merah).

Isolasi bakteri endofit penghasil biomaterial anti antraks dengan prosedur sebagai berikut; bagian daun mimba (*Azadirachta indica*) dicuci dengan air mengalir selama 5
5 menit, lalu disterilisasi permukaan dengan memasukkannya ke dalam larutan alkohol 70% selama 5 menit, dilanjutkan ke dalam larutan natrium hipoklorit yang berfungsi sebagai desinfektan, kemudian dimasukkan ke dalam larutan garam
10 oksalat selama 5 menit dan dikeringkan dengan tissue steril, daun dibilas dengan akuades, dan daun dipotong secara membujur sebanyak 4 potongan tetapi tidak sampai terputus lalu ditanam pada cawan petri yang berisi media *Nutrient Agar*. Endofit yang digunakan adalah endofit yang tumbuh di
15 sekitar bagian potongan daun. Endofit yang diperoleh selanjutnya diinokulasikan pada medium cair dengan temperature 37^o selama 48 jam dengan kecepatan 200 rpm. Ekstraksi kultur endofit kemudian disentrifuse dengan kecepatan 1000 rpm untuk memperoleh biomaterial aktif anti
20 antraks.

Skrining bakteri endofit dari daun mimba (*Azadirachta indica*) dengan potensi anti antraks dilakukan pada media padat biakan *S. aureus* MRSA (Heindl et al., 2012) yang setara dengan *B. antracis* dan dilanjutkan dengan inokulasi bakteri
25 endofit pada medium agar darah.

Uji Aktivitas Anti Antraks

Uji aktivitas sebagai anti antraks dari biomaterial aktif berupa bakteri endofit terpilih dari invensi ini
30 dilakukan dengan metode antagonisme.

Biomaterial aktif diletakkan pada *paper disk* pada koloni bakteri yang akan diuji dengan konsentrasi 200, 400, dan 600 μ l. Biakan kemudian diinkubasikan pada 37^oC selama 24 jam.

Uji ini dilakukan dengan dua kali ulangan. Adanya sifat penghambatan terhadap bakteri patogen ditandai dengan adanya zona hambat di sekitar *paper disk*.

5 Hasil uji antagonisme menunjukkan bahwa biomaterial aktif anti-antraks yang memiliki kemampuan menghambat setengah maksimal (IC50) terhadap koloni bakteri (10^8 CFU) yang diujikan terdapat pada konsentrasi 200 μ l.

Kesimpulan

10 Berdasarkan uji aktivitas anti antraks tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa biomaterial aktif Anti Antraks yang mengandung isolat endofit daun mimba (*Azadirachta indica*) 200 μ L dari invensi ini mampu sebagai bakteriostatik dan bakteriosida terhadap *Staphylococcus aureus* MRSA secara *in*
15 *vitro* dengan patogenisitas setara dengan *B. antracis*.

Penerapan dalam Industri

Biomaterial aktif Anti Antraks yang mengandung isolat endofit daun mimba (*Azadirachta indica*) dari invensi ini dapat diproduksi secara massal dan berulang.

Klaim

1. Biomaterial aktif anti antraks yang mengandung isolat endofit daun mimba (*Azadirachta indica*) sebagai bakteriostatik dan bakteriosida terhadap *Staphylococcus aureus* MRSA secara *in vitro* yang memiliki patogenesis setara dengan *B. antracis*.
5
2. Biomaterial aktif anti antraks sesuai dengan klaim 1, di mana konsentrasi isolat endofit daun mimba sebagai bakteriosida adalah 200 μL .
10

15

20

25

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.dgip.go.id

INFORMASI BIAYA TAHUNAN

Nomor Paten : IDS000002354 Tanggal diberi : 10/05/2019 Jumlah Klaim : 2
 Nomor Permohonan : S00201702991 IPAS Filing Date : 10/05/2017
 Entitlement Date : 10/05/2017

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	10/05/2017-09/05/2018	09/11/2019	0	2	0	0	0	0	0
2	10/05/2018-09/05/2019	09/11/2019	0	2	0	0	0	0	0
3	10/05/2019-09/05/2020	09/11/2019	0	2	0	0	0	0	0
4	10/05/2020-09/05/2021	09/11/2019	0	2	0	0	0	0	0
5	10/05/2021-09/05/2022	11/04/2021	0	2	0	0	0	0	0
6	10/05/2022-09/05/2023	11/04/2022	1.650.000	2	100.000	1.750.000	0	0	1.750.000
7	10/05/2023-09/05/2024	11/04/2023	2.200.000	2	100.000	2.300.000	0	0	2.300.000
8	10/05/2024-09/05/2025	11/04/2024	2.750.000	2	100.000	2.850.000	0	0	2.850.000
9	10/05/2025-09/05/2026	11/04/2025	3.300.000	2	100.000	3.400.000	0	0	3.400.000
10	10/05/2026-09/05/2027	11/04/2026	3.850.000	2	100.000	3.950.000	0	0	3.950.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali hingga tanggal 16/07/2019 (tahun ke-1 s.d 4) adalah sebesar 0 HL

- 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