

REPUBLIC 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 SURABAYA
JALAN NGAGEL JAYA SELATAN NO. 169
SURABAYA

Untuk Invensi dengan Judul : KIT UNTUK DETEKSI CEPAT INFECTIOUS MYONECROSIS DISEASE (IMNV) PADA UDANG SECARA ISOTHERMAL DENGAN GEN TARGET IMNV MAJOR CAPSID PROTEIN

Inventor : Dr.rer.nat Sulistyo Emantoko Dwi Putra
Ernest Suryadjaja Jahja, S.Si., M. App. Sc

Tanggal Penerimaan : 02 November 2022

Nomor Paten : IDS000011000

Tanggal Pemberian : 05 Agustus 2025

Pelindungan 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
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

**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 : IDS000011000 Tanggal diberi : 05 Agustus 2025 Jumlah Klaim : 1
 Nomor Permohonan : S00202212330 Tanggal Penerimaan : 02 November 2022

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	02/11/2022-01/11/2023	04/02/2026	undefined	0	Klaim 1; Total Klaim: 0; Denda: 0
2	02/11/2023-01/11/2024	04/02/2026	undefined	0	Klaim 1; Total Klaim: 0; Denda: 0
3	02/11/2024-01/11/2025	04/02/2026	undefined	0	Klaim 1; Total Klaim: 0; Denda: 0
4	02/11/2025-01/11/2026	04/02/2026	undefined	0	Klaim 1; Total Klaim: 0; Denda: 0
5	02/11/2026-01/11/2027	03/10/2026	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	02/11/2027-01/11/2028	03/10/2027	1.650.000	1	50.000	1.700.000	0	0	1.700.000
7	02/11/2028-01/11/2029	03/10/2028	2.200.000	1	50.000	2.250.000	0	0	2.250.000
8	02/11/2029-01/11/2030	03/10/2029	2.750.000	1	50.000	2.800.000	0	0	2.800.000
9	02/11/2030-01/11/2031	03/10/2030	3.300.000	1	50.000	3.350.000	0	0	3.350.000
10	02/11/2031-01/11/2032	03/10/2031	3.850.000	1	50.000	3.900.000	0	0	3.900.000

Biaya yang harus dibayarkan hingga tanggal 03-10-2027 (tahun ke-6) adalah sebesar Rp.1.700.000 4

- 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



(12) PATEN INDONESIA

(11) IDS000011000 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 05 Agustus 2025

(51) Klasifikasi IPC⁸ : C 12N 15/11(2006.01), C 12Q 1/68(2006.01)

(21) No. Permohonan Paten : S00202212330

(22) Tanggal Penerimaan: 02 November 2022

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

(43) Tanggal Pengumuman: 27 Desember 2022

(56) Dokumen Pemandang:
WO2022217125A2, (THE UNIVERSITY OF ARIZONA),
13-10-2022

CN112048572B, (FISHERIES RES INSTITUTE OF FUJIAN
FUJIAN AQUATIC DISEASE CONTROL CENTER), 08-12-2020

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UNIVERSITAS SURABAYA
JALAN NGAGEL JAYA SELATAN NO. 169
SURABAYA

(72) Nama Inventor :
Dr.rer.nat Sulistyono Emantoko Dwi Putra, ID
Ernest Suryadajaja Jahja, S.Si., M. App. Sc, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Enecep Sujana, S.Si.

Jumlah Klaim : 1

(54) Judul Invensi : KIT UNTUK DETEKSI CEPAT INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS (IMNV) PADA UDANG SECARA ISOTHERMAL DENGAN GEN TARGET IMNV MAJOR CAPSID PROTEIN

(57) Abstrak :
Invensi ini berhubungan dengan suatu kit deteksi *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV) secara cepat pada udang dengan metode *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP). Kit ini mencakup campuran primer yang didesain khusus untuk mendeteksi IMNV; campuran reaksi LAMP yang mengandung Bst DNA polymerase, dNTP dan larutan penyangga; air bebas nuklease; kontrol positif adalah plasmid rekombinan IMNV MAJOR CAPSID PROTEIN. Deteksi IMNV menggunakan kit ini mempunyai keunggulan pengerjaan lebih singkat dan sederhana dibandingkan metode diagnostik lainnya, sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.



Deskripsi

KIT UNTUK DETEKSI CEPAT INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS (IMNV) PADA UDANG SECARA ISOTHERMAL DENGAN GEN TARGET IMNV MAJOR CAPSID PROTEIN

5 Bidang teknik invensi

Invensi ini berhubungan dengan suatu kit deteksi yang secara cepat dapat mendeteksi *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV) pada udang dengan metode *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP).

10 Latar belakang invensi

Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) adalah virus yang menyebabkan penyakit *Infectious Myonecrosis* (IMN) pada udang. Penyakit ini menyebabkan kematian secara massal sehingga sangat merugikan penambak udang. Hal ini didukung oleh beberapa fakta, di mana IMNV merupakan salah satu virus yang mengancam budidaya udang di dunia termasuk di Indonesia (Umiliana et al., 2016). Serangan IMNV di Indonesia pada tahun 2009 telah mengakibatkan kerugian sebesar 300 milyar rupiah (Kementrian Kelautan dan Perikanan (KKP), 2010). IMNV merupakan virus RNA, sehingga aktif menular dan menyebabkan nekrosis (kerusakan jaringan otot) saat menginfeksi udang. Penularannya sangat cepat dan menyebabkan kematian antara 70-100% dari total populasi. Kematian udang baru dapat teramati umumnya setelah 14 hari pasca infeksi, sehingga sering kali virus sudah terlanjur menyebar sebelum penanganan.

Gejala awal infeksi ini adalah udang mengalami kram dan terdapat gumpalan awan berwarna putih pada jaringan otot yang terserang dan apabila sudah parah, maka nekrosis/kerusakan otot akan menyebar yang menyebabkan udang menjadi warna merah dan jaringan otot tidak dapat berfungsi. Gejala lainnya, seperti respon terhadap pakan mulai menurun dan udang berenang pasif (KKP, 2020). Walaupun virus ini dapat teramati dengan mata telanjang, gejala yang ditimbulkan tidak dapat terlihat secara instan, melainkan di kemudian hari. Hal serupa dilaporkan dari berbagai sumber, yaitu pada pengamatan KKP (2020),



Umiliana et al. (2016), Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan (2010), dan Febriani et al. (2013). Oleh karena itu, diperlukan metode deteksi yang lebih cepat, sederhana, sensitif, dan akurat untuk meminimalisir penyebaran virus pada udang.

5 Metode *polymerase chain reaction* (PCR) telah banyak dikembangkan, salah satunya adalah Metode PCR isothermal yang disebut *Loop-mediated Isothermal Amplification* (LAMP). Jika dibandingkan, metode PCR konvensional memiliki beberapa kelemahan, yaitu diperlukannya mesin berteknologi tinggi seperti *thermal cycler*
10 *machine* serta tenaga profesional dan hasilnya baru dapat diamati setelah tiga jam. Berbeda dengan PCR konvensional, PCR isothermal hanya memerlukan *waterbath* dan dapat dijalankan oleh tenaga tanpa keterampilan khusus (Iwamoto et al., 2003); hasil PCR isothermal dapat diamati setelah 30 menit.

15 Invensi ini merupakan suatu kit dengan prinsip perbanyakan DNA secara isothermal menggunakan alat *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP)-PCR. Berbeda dengan metode deteksi lainnya yang rumit dan mahal, kit LAMP ini menawarkan sensitivitas yang sangat baik dengan waktu pengerjaan yang lebih singkat. Digunakan gen target
20 IMNV *major capsid protein* untuk memberikan spesifisitas yang sangat tinggi karena gen tersebut hanya terdapat di IMNV. Beberapa penelitian sebelumnya telah mengembangkan kit deteksi IMNV berdasarkan metode LAMP. Puthawibool, T. et al. (2009) melaporkan bahwa deteksi IMNV menggunakan metode LAMP dapat dilakukan dalam
25 waktu 60 menit. Penelitian yang dilakukan diawali dengan langkah *reverse transcriptase* untuk mengubah larutan RNA IMNV menjadi DNA. Deteksi yang didahului dengan langkah *reverse transcriptase* juga dilaporkan oleh Andrade and Lightner (2009) yang meneruskan hasilnya dengan *nucleic acid lateral flow assay*. Penelitian lain melaporkan
30 bahwa *Bst. Polymerase*, enzim yang dipergunakan dalam metode LAMP, juga memiliki aktivitas *reverse transcriptase* (Shi et al., 2015). Hal ini memungkinkan penggunaan metode LAMP untuk deteksi IMNV tanpa perlakuan *reverse transcriptase* sebelumnya.



Deteksi virus IMNV galur Indonesia berbasis LAMP yang digagas dalam usulan ini merupakan konsep yang baru dan belum pernah diajukan sebelumnya. Hal ini terbukti melalui penelusuran pada laman Pangkalan Data Kekayaan Intelektual (<https://pdki-indonesia.dgip.go.id/>). Oleh
5 sebab itu, kit deteksi cepat IMNV pada udang secara isothermal dengan gen target IMNV *major capsid protein* merupakan sebuah originalitas dan kebaruan.

Uraian Singkat Invensi

10 Tujuan utama dari invensi ini adalah untuk mengatasi permasalahan yang telah ada sebelumnya, terkait deteksi IMNV dengan metode PCR isothermal dengan cepat agar kerugian besar karena infeksi virus ini dalam pertambakan udang dapat dikurangi. Invensi ini berupa kit untuk deteksi cepat IMNV pada udang secara isothermal dengan gen
15 target IMNV *major capsid protein*. Kit ini mencakup campuran primer yang didesain khusus; campuran reaksi LAMP yang mengandung Bst DNA polymerase, dNTP dan larutan penyangga; air bebas nuklease; dan kontrol positif adalah plasmid rekombinan IMNV *major capsid protein*. Masing-masing bahan dikemas dalam tabung polypropilen berukuran 1,5
20 ml yang dapat dipergunakan hingga 200 kali reaksi pengujian. Dengan proses perwujudan invensi ini, deteksi IMNV dapat dilakukan hanya dengan mencampurkan bahan-bahan tersebut dengan sampel RNA dari udang, diinkubasi di *waterbath* selama 30 menit pada suhu 65°C, lalu hasilnya dielektroforesis.

25

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1, adalah hasil elektroforesis yang menunjukkan sensitivitas kit LAMP. Adapun keterangan dari singkatan pada gambar, yaitu:

30 M: 100 bp DNA ladder (Promega)

1: Udang sehat

2 = Sampel udang petak 2 replikasi 1

3 = Sampel udang petak 2 replikasi 2



- 4 = Sampel udang petak 3 replikasi 1
- 5 = Sampel udang petak 3 replikasi 2
- 6 = Sampel udang petak 4 replikasi 1
- 7 = Sampel udang petak 4 replikasi 2
- 5 + = Kontrol positif (plasmid rekombinan IMNV major capsid protein
- = Kontrol negatif (air bebas nuklease)

Uraian Lengkap Invensi

Invensi ini adalah kit yang lebih mudah, murah, dan cepat dalam mendeteksi IMNV tanpa mengurangi sensitivitas dan spesifisitasnya. Tujuan tersebut dapat dicapai berkat metode LAMP yang menggunakan primer spesifik yang hanya menargetkan gen IMNV *major capsid protein* (GenBank: #ABN05324.1) yang berasal dari IMNV. Waktu inkubasi selama 30 menit di *waterbath* pun jauh lebih singkat daripada metode-metode deteksi lainnya yang juga memerlukan peralatan rumit serta ketrampilan khusus.

Kit deteksi cepat ini berisi bahan-bahan sebagai berikut:

1. Campuran primer yang didesain secara khusus menggunakan *software Primerexplorer V5* (Primerexplorer.jp, Japan).
- 20 2. Campuran reaksi LAMP mengandung Bst DNA polymerase, dNTP dan larutan penyangga.
3. Air bebas nuklease
4. Kontrol positif berupa plasmid rekombinan IMNV *major capsid protein*.

25 Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada kemungkinan bahwa LAMP PCR dapat mendeteksi keberadaan IMNV bahkan sebelum gejala klinis infeksi terlihat. Gambar 1 menunjukkan bahwa sampel udang pada petak 4 terdeteksi positif terinfeksi IMNV padahal belum menunjukkan gejala klinis infeksi IMNV. Kemudian, seminggu kemudian, hasil pengujian 30 dicocokkan dengan lapangan dan ternyata banyak udang yang menunjukkan gejala klinis IMNV, yaitu ruas belakang yang berwarna kemerahan. Hal ini menjadi bukti bahwa deteksi dengan LAMP PCR dapat dilakukan dengan jumlah sampel yang sedikit, namun memberikan hasil yang



akurat, sehingga deteksi dini infeksi IMNV memungkinkan untuk dilakukan.

Salah satu contoh campuran reaksi dapat dilihat pada tabel 1. Tabel ini memperlihatkan total campuran reaksi sebanyak 10 μ l. Setelah semua campuran di atas dimasukkan dalam tabung mini, dilakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu 65°C. Hasil pelaksanaan LAMP selanjutnya di elektroforesis menggunakan agarosa 1,5% untuk memberikan hasil seperti pada Gambar 1.

10

Tabel 1. Contoh reaksi dalam identifikasi LAMP

No	Komponen	Volume (μ l)
1	Primer F3S3P1	0,2
2	Primer B3S3P1	0,2
3	Primer FIP_S3	1,6
4	Primer BIP_S3	1,6
5	Campuran reaksi LAMP	5
6	Template larutan RNA/Kontrol positif	1
7	Air bebas nuklease	0,4
	Total	10

15

**Klaim**

1. Suatu kit deteksi virus *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV) secara cepat pada udang berbasis *isothermal* dengan target gen IMNV MAJOR CAPSID PROTEIN yang mencakup:

5

a. campuran primer yang terdiri dari:

F3S3P1: ATGACGGCACAAAGAAGC

B3S3P1: CTGTCTGTAATGTGTGTTTCA

FIP_S3: TGTTAGCTAGAACAGCGTCGGTTTTACTGTCGGTAATCATCTTCG

BIP_S3: ACTAATACCAAGACAAATTCGTGGATTTCCCTGTAACCGTAATTGCT;

10

b. campuran reaksi LAMP yang mengandung Bst DNA polymerase, dNTP, larutan penyangga;

c. air bebas nuklease; dan

d. kontrol positif adalah plasmid rekombinan IMNV MAJOR CAPSID PROTEIN.

15

20

25

30



Abstrak

KIT UNTUK DETEKSI CEPAT INFECTIOUS MYONECROSIS DISEASE (IMNV) PADA UDANG SECARA ISOTHERMAL DENGAN GEN TARGET IMNV MAJOR CAPSID PROTEIN

5

Invensi ini berhubungan dengan suatu kit deteksi *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV) secara cepat pada udang dengan metode *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP). Kit ini mencakup campuran primer yang didesain khusus untuk mendeteksi IMNV; campuran reaksi LAMP yang mengandung Bst DNA polymerase, dNTP dan larutan penyangga; air bebas nuklease; kontrol positif adalah plasmid rekombinan IMNV MAJOR CAPSID PROTEIN. Deteksi IMNV menggunakan kit ini mempunyai keunggulan pengerjaan lebih singkat dan sederhana dibandingkan metode diagnostik lainnya, sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.

10



Lane 6 menunjukkan band/pita yang sesuai dengan kontrol positif, sehingga dinyatakan positif IMNV

Gambar 1