



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, 50275,
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul : PRIMER GEN VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL
(HULU/HILIR) PADA NYAMUK CULEX
QUENQUEFASCIATUS

Inventor : Dr. drh. Dwi Sutningsih, M.Kes

Tanggal Penerimaan : 26 September 2018

Nomor Paten : IDS000002564

Tanggal Pemberian : 27 September 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) IDS000002564 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 27 September 2019

(51) Klasifikasi IPC⁸ : C 07K 2/00(2006.01)

(21) No. Permohonan Paten : SID201807631

(22) Tanggal Penerimaan: 26 September 2018

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

(43) Tanggal Pengumuman: 31 Desember 2018

(56) Dokumen Pemandang:
S00201606692 (UNDIP) 20 Januari 2017
Martins, W.F.S., Et, Al. Detection and quantitation of copy number variation in the voltagegated sodium channel gene of the mosquito *Culex quinquefasciatus*, Scientific Reports, 19 July 2017
Aditya Yudhana, Dkk., Deteksi Gen Resisten Insektisida Organofosfat pada *Aedes aegypti* di Banyuwangi, Jawa Timur Menggunakan Polymerase Chain Reaction, Jurnal Veteriner, September 2017 Vol. 18 No. 3, Hal: 446-452
Widiarti, Dkk., IDENTIFIKASI MUTASI NOKTAH PADA" GEN VOLTAGE GATED SODIUM CHANNEL" *Aedes aegypti* RESISTEN TERHADAP INSEKTISIDA PYRETHROID DI SEMARANG JAWA TENGAH, Bul. Penelit. Kesehat, Maret 2012, Vol. 40, No. 1, Hal: 31 - 38

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UNIVERSITAS DIPONEGORO
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang,
Semarang, 50275,
INDONESIA

(72) Nama Inventor :
Dr. drh. Dwi Sutningsih, M.Kes, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Nani Nur'aeny, S.Si.

Jumlah Klaim : 1

Judul Invensi : PRIMER GEN *VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL* (HULU/HILIR) PADA NYAMUK *CULEX QUENQUEFASCIATUS*

Abstrak :

Telah diungkapkan invensi tentang pasangan primer gen VGSC untuk nyamuk *Cx.quinquefasciatus* yang dari terdiri dari sekuen dengan urutan nukleotida 5' GAGTATTCAGCGTGAAGTC 3'dan sekuen hilir dengan urutan nukleotida TAGGACCCTGTTTTTG 5', dimana pasangan primer tersebut dapat digunakan untuk mengetahui mekanisme aksi ta/insektisida brusein A dan sipermetrin melalui penghambatan aktivitas gen VGSC pada nyamuk *Cx.quinquefasciatus*. Pasangan nvensi juga bisa digunakan untuk mengetahui penghambatan aktivitas gen VGSC pada jenis larvasida/insektisida kimia, sintetik, dan bahan alam lainnya.



Deskripsi**PRIMER GEN VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL (HULU/HILIR) PADA NYAMUK
CULEX QUENQUEFASCIATUS**

5

Bidang Teknik Invensi :

Invensi ini secara umum berkaitan dengan sekuen primer gen
10 VGSC (*Voltage-Gated Sodium Channel*). Secara khusus berkaitan
dengan sekuen pasangan primer gen VGSC (*Voltage-Gated Sodium
Channel*) untuk mengetahui adanya mekanisme aksi suatu
larvasida/insektisida melalui penghambatan aktivitas gen VGSC
pada nyamuk *Culex queneufasciatus*.

15

Latar Belakang Invensi

Culex queneufasciatus merupakan spesies nyamuk yang
berperan penting sebagai vektor penyakit Filariasis dan *Japanese
Encephalitis* (JE). Pengendalian vektor merupakan upaya
20 menurunkan kepadatan populasi nyamuk penularnya sampai batas
tertentu sehingga tidak berpotensi menularkan penyakit (Sanchez,
2006; Chandra 2010). Sampai saat ini masyarakat masih banyak yang
menggunakan insektisida untuk mengendalikan nyamuk vektor
penyakit (WHO, 2009). Komariah et al. (2010); WHO (2009),
25 menyatakan bahwa penggunaan insektisida secara terus-menerus
dalam waktu lama dan frekuensi tinggi menyebabkan terjadinya
penurunan kerentanan nyamuk sasaran. Selain itu juga
mengakibatkan efek samping diantaranya resistensi terhadap
vektor dan berpengaruh negatif terhadap biota bukan sasaran
30 seperti musuh alami (predator) serta menimbulkan pencemaran
lingkungan. Kondisi ini mengharuskan kebutuhan akan penelitian
dan perkembangan metode pengendalian vektor yang lebih ramah
lingkungan dan murah (Gray et al., 2009). Salah satu cara yang
dapat digunakan untuk mengendalikan vektor adalah dengan
35 penggunaan insektisida ataupun larvasida alami yang berasal dari

An

tumbuhan atau bahan alam lainnya.

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai larvasida/insektisida alami adalah Buah Makasar (*Brucea javanica* L. Merr). Kandungan quasinoid yang terkandung dalam tanaman tersebut seperti brusein A dan brusatol berpotensi sebagai larvasida/insektisida alami karena mampu membunuh nyamuk vektor penyakit (*Cx. quenequefasciatus*). Mekanisme aksi brusein A dalam mematikan nyamuk *Cx. quenequefasciatus* melalui penghambatan aktivitas gen VGSC yang terdapat pada sel syaraf yang berperan dalam potensial aksi sel. Sub unit penyusun VGSC adalah rantai polipeptida yang terdiri dari 1800 asam amino (Kasai et al., 2011; Kuswah et al., 2015). Prinsip kerja gen VGSC adalah meneruskan potensial aksi menjadi *signaling* pada sel syaraf lainnya. Potensial aksi dimulai pada saat serabut syaraf terstimulasi maka VGSC akan terbuka dan ion natrium yang bermuatan positif akan bergerak ke dalam sel mengubah potensial istirahat (polarisasi) menjadi potensial aksi (depolarisasi) sehingga terbentuk membran potensial, beberapa milidetik kemudian kanal/lubang kembali menutup dan sinyal diteruskan ke sel syaraf lainnya (Safar, 2010; Kasai et al., 2011, Kuswah et al., 2015). Bila digunakan larvasida/insektisida brusein A maka kanal Natrium yang seharusnya tertutup akan tetap terbuka sehingga Natrium akan tetap berada di dalam sel menimbulkan pelepasan aksi potensial yang terus-menerus di dalam sel syaraf sehingga menyebabkan hipereksitasi, konvulsi dan paralisis. Adanya penghambatan aktivitas gen VGSC ini dapat diketahui dengan menggunakan teknik pemeriksaan PCR. Berdasarkan hasil amplifikasi fragmen gen VGSC dengan menggunakan primer Hulu: 5' GAGTATTCCAGCGTGAAGTC 3' dan Hilir :3' ATTTAGGACCCTGTTTTTG 5' dengan sasaran \pm 332 bp, yang kemudian di elektroforesis pada gel agarose 2,0% dihasilkan suatu pita spesifik dengan ukuran pita fragmen sepanjang 332 pasangan basa/bp pada sampel nyamuk yang masih peka terhadap brusein A dan sipermetrin. Pasangan primer gen VGSC ini terdiri dari pasangan primer yaitu Hulu (ujung 5') dan Hilir (ujung 3').

Uraian Singkat Invensi

Invensi ini bertujuan untuk menyediakan sekuen primer gen VGSC yang dirancang untuk mengetahui adanya penghambatan aktivitas gen VGSC pada nyamuk *Cx. quenequefasciatus* dengan menggunakan teknik pemeriksaan PCR.

Invensi ini mengenai pasangan primer gen VGSC untuk nyamuk *Cx. quenequefasciatus* yang terdiri dari sekuen hulu dengan urutan nukleotida 5' GAGTATTCCAGCGTGAAGTC 3' dan sekuen hilir dengan susunan 3' ATTTAGGACCCTGTTTTTG 5', dimana pasangan primer tersebut dapat digunakan untuk mengetahui mekanisme aksi larvasida/insektisida pada nyamuk *Cx. quenequefasciatus* melalui penghambatan aktivitas gen VGSC pada sel syaraf.

15 Uraian Singkat Gambar

Gambar 1 adalah hasil visualisasi elektroforesis penghambatan aktivitas gen VGSC pada nyamuk *Cx. quenequefasciatus* setelah perlakuan brusein A dan kontrol (negatif dan positif) dengan metode PCR. Untuk memberikan ilustrasi dari invensi ini, terlihat pada gambar suatu produk PCR berupa fragmen pita spesifik DNA VGSC sepanjang 332 bp pada nyamuk *Cx. quenequefasciatus* setelah pemberian konsentrasi letal brusein A (LC₃₀; LC₅₀, LC₇₀; LC₉₀) yaitu pada nomer 1-4, kontrol positif (sipermetrin 1; 2; 4 μl) (nomer 5-7) dan kontrol negatif (akuades) (nomer 8). Visualisasi produk PCR ini menunjukkan bahwa pasangan primer gen VGSC yang terdiri dari sekuen hulu (5' GAGTATTCCAGCGTGAAGTC 3') dan sekuen hliir (3' ATTTAGGACCCTGTTTTTG 5') sudah ideal. Perlu ditekankan bahwa invensi ini tidak hanya terbatas pada penggunaan larvasida/insektisida brusein A dan sipermetrin tetapi bisa juga digunakan untuk mengetahui mekanisme aksi larvasida/insektisida lainnya melalui penghambatan aktivitas gen VGSC pada nyamuk *Cx. quenequefasciatus*.

Uraian Lengkap Invensi

Invensi ini bertujuan untuk menyediakan sekuen pasangan primer gen VGSC pada nyamuk *Cx. quenuquefasciatus* dengan teknik pemeriksaan PCR. Sekuen primer gen VGSC ini terdiri dari sekuen hulu (5' GAGTATTCCAGCGTGAAGTC 3') dan sekuen hilir (3' ATTTAGGACCCTGTTTTTG 5').

Pasangan primer invensi ini diperoleh dari hasil analisis menggunakan software Primer3. Pasangan primer yang diperoleh kemudian dipakai untuk amplifikasi gen VGSC dengan metode PCR. Visualisasi hasil PCR dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarose 2% gel Tris/Borat/EDTA buffer (TBE buffer ; 89mM Tris ; 89 mM asam borak, 2MM EDTA) selama 90 menit pada tegangan 80 Volt, dan dievaluasi dibawah sinar UV 300 nm. Sampel yang mengandung produk PCR berupa fragmen pita spesifik yang berada pada berat basa masing-masing 332 bp.

Spesifikasi primer hulu sekuen invensi ini berupa urutan basa nukleotida 20 mer (25 nMole DNA Oligo, 3 OD, tm : 54,92 ; GC content : 50%) sedangkan sekuen hilir terdiri dari urutan basa nukleotida 20 mer (25 nMole DNA Oligo, 3OD, tm : 55,74 ; GC content : 40%). Primer gen VGSC ini diencerkan dengan menambahkan 90 mikroliter ddH₂O dalam 10 mikroliter primer. Hasil produk PCR dapat diamati dibawah sinar UV yaitu berupa fragmen pita/band DNA VGSC dengan panjang 332 bp. Primer gen VGSC ini pertama kali digunakan pada tanggal 20 September 2016 di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pasangan primer gen VGSC ini digunakan untuk mengetahui mekanisme aksi brusein A dan sipermetrin pada nyamuk *Cx. quenuquefasciatus* melalui penghambatan aktivitas gen VGSC metode PCR. Dari Gambar 1, menunjukkan adanya produk PCR berupa fragmen pita spesifik DNA VGSC dengan panjang 332 bp. Pemberian Brusein A konsentrasi letal (LC₃₀;LC₅₀,LC₇₀;LC₉₀) pada nyamuk *Cx. quenuquefasciatus* menunjukkan adanya fragmen pita spesifik dengan ukuran 332 bp, seperti halnya pada pemberian Sipermetrin dengan berbagai konsentrasi. Hal ini membuktikan bahwa mekanisme aksi brusein A dalam mematikan nyamuk *Cx.*

quenquefasciatus melalui penghambatan gen VGSC. Produk PCR ini menunjukkan bahwa pasangan primer gen VGSC yang terdiri dari sekuen hulu (5' GAGTATTCCAGCGTGAAGTC 3') dan hilir sekuen (3' ATTTAGGACCCTGTTTTTG 5') sudah ideal. Penggunaan pasangan primer gen VGSC ini tidak hanya untuk larvasida/insektisida brusein A dan sipermetrin tetapi bisa juga digunakan untuk mengetahui mekanisme aksi larvasida/insektisida lainnya melalui penghambatan aktivitas gen VGSC pada nyamuk *Cx. quenquefasciatus* dengan menggunakan metode PCR.

10

15

20

25

30

35

Klaim

1. Suatu pasangan primer gen VGSC untuk nyamuk *Cx. quenequefasciatus* yang terdiri dari :

- 5
- Sekuen hulu, dengan urutan nukleotida (5' GAGTATTCCAGCGTGAAGTC 3') dan
 - Sekuen hilir, dengan susunan (3' ATTTAGGACCCTGTTTTTG 5'),
- 10
- dimana pasangan primer tersebut dapat digunakan untuk mengetahui mekanisme aksi larvasida/insektisida alami dan sintetik/kimia melalui penghambatan aktivitas gen VGSC pada nyamuk *Cx. quenequefasciatus*.

15

20

25

30

35

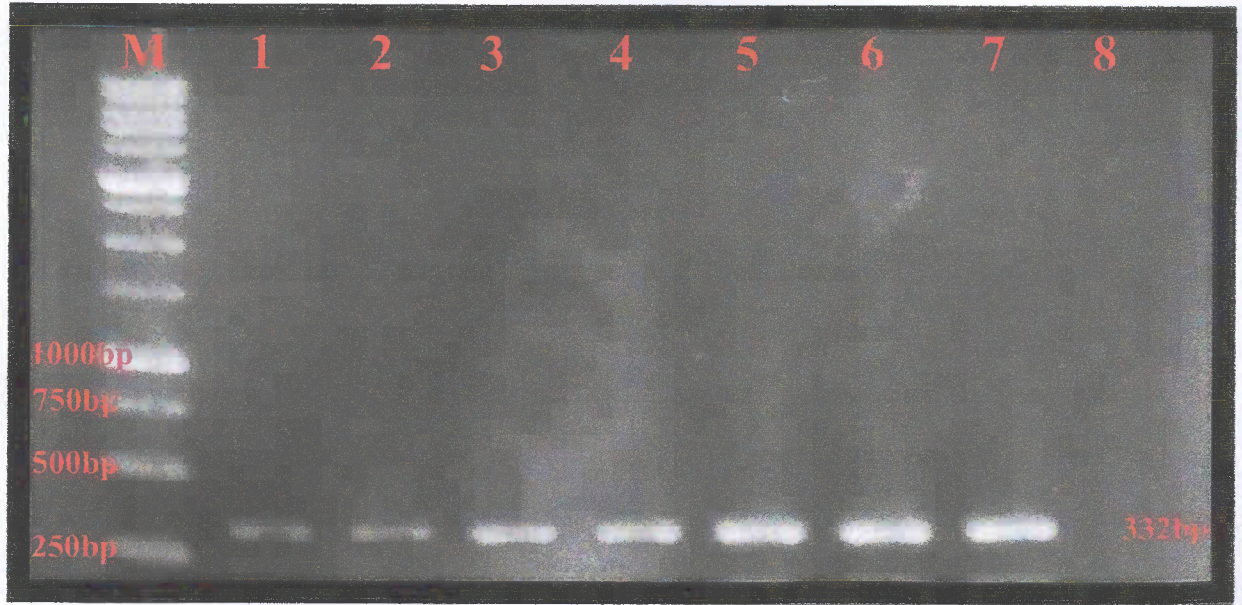
CA

**PRIMER GEN VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL (HULU/HILIR) PADA NYAMUK
*CULEX QUENQUEFASCIATUS***

5

Telah diungkapkan invensi tentang pasangan primer gen VGSC untuk nyamuk *Cx. quenquefasciatus* yang dari terdiri dari sekuen hulu dengan urutan nukleotida 5' GAGTATTCCAGCGTGAAGTC 3' dan sekuen hilir dengan urutan nukleotida 3'ATTTAGGACCCTGTTTTTG 5',
10 dimana pasangan primer tersebut dapat digunakan untuk mengetahui mekanisme aksi larvasida/insektisida brusein A dan sipermetrin melalui penghambatan aktivitas gen VGSC pada nyamuk *Cx. quenquefasciatus*. Pasangan primer invensi juga bisa digunakan untuk mengetahui penghambatan aktivitas gen VGSC pada jenis
15 larvasida/insektisida kimia, sintetik, mikroba dan bahan alam lainnya.

20



Gambar 1

Ca

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 : IDS000002564 Tanggal diberi : 27/09/2019 Jumlah Klaim : 1
Nomor Permohonan : SID201807631 IPAS Filing Date : 26/09/2018
Entitlement Date : 26/09/2018

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	26/09/2018-25/09/2019	26/03/2020	0	1	0	0	0	0	0
2	26/09/2019-25/09/2020	26/03/2020	0	1	0	0	0	0	0
3	26/09/2020-25/09/2021	26/03/2020	0	1	0	0	0	0	0
4	26/09/2021-25/09/2022	27/08/2021	0	1	0	0	0	0	0
5	26/09/2022-25/09/2023	27/08/2022	0	1	0	0	0	0	0
6	26/09/2023-25/09/2024	27/08/2023	1.650.000	1	50.000	1.700.000	0	0	1.700.000
7	26/09/2024-25/09/2025	27/08/2024	2.200.000	1	50.000	2.250.000	0	0	2.250.000
8	26/09/2025-25/09/2026	27/08/2025	2.750.000	1	50.000	2.800.000	0	0	2.800.000
9	26/09/2026-25/09/2027	27/08/2026	3.300.000	1	50.000	3.350.000	0	0	3.350.000
10	26/09/2027-25/09/2028	27/08/2027	3.850.000	1	50.000	3.900.000	0	0	3.900.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali hingga tanggal 30/10/2019 (tahun ke-1 s.d 3) adalah sebesar 0 ₱.

- 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