



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 : LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT (LPPM). UNSOED
Jalan Dr. Soeparno Karangwangkal,
Purwokerto, 53122,
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul : FORMULA MIKROENKAPSULAN *Bacillus subtilis* B298
SEBAGAI BOKONTROL PATOGEN TANAMAN

Inventor : Dr. Ir. Nur Prihatiningsih, M.S
Dr. Ir. Heru Adi Djatmiko, M.P
Dra, Erminawati, M.Sc., Ph.D

Tanggal Penerimaan : 16 Mei 2019

Nomor Paten : IDS000002704

Tanggal Pemberian : 13 Desember 2019

Perlindungan Paten Sederhana untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 10 tahun dihitung 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

Deskripsi

FORMULA MIKROENKAPSULAN *Bacillus subtilis* B298 SEBAGAI BIOKONTROL PATOGEN TANAMAN

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan biopestisida yang berbahan
10 aktif *Bacillus subtilis* B298. Secara khusus invensi ini berkaitan
dengan formula mikroenkapsulan *B. subtilis* B298 sebagai salah satu
teknik formulasi biopestisida untuk mengendalikan patogen tanaman.

Latar Belakang Invensi

15 Salah satu kendala dalam budidaya tanaman adalah adanya
gangguan karena organisme yang dapat menyebabkan penyakit tanaman.
Kerugian hasil karena penyakit dapat mencapai 60-100%.
Pengendalian penyakit tanaman baik karena jamur maupun bakteri
telah dilakukan dengan menggunakan fungisida dan bakterisida
20 sintetik, serta rotasi tanaman, namun belum dapat mengatasi
penyakit, dan dapat berpengaruh negatif pada lingkungan. Oleh
karena itu perlu dicari upaya pengendalian yang berwawasan
lingkungan, aman dan efektif serta dapat berpengaruh positif pada
pertumbuhan dan hasil tanaman. Bakteri *Bacillus* sp., diketahui
25 mampu sebagai agens hayati pengendali penyakit tanaman, dan
mempunyai keunggulan lain mampu memacu pertumbuhan tanaman atau
dikenal sebagai PGPR (*plant growth promoting rhizobacteria*). Di
samping itu *Bacillus* sp. mudah didapat, dipelihara, mampu
menghasilkan antibiotika, enzim dan senyawa semacam zat pengatur
30 tumbuh auksin, sehingga berpengaruh positif pada tanaman dan
lingkungan. Biobakterisida berbahan aktif *Bacillus* sp. di luar
negeri sudah ada, namun berbeda spesies atau strainnya, dan
digunakan pada tanaman serta penyakit yang berbeda pula, sehingga
belum tentu efektif digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman
35 di Indonesia. Berdasarkan paten no US6.060.051 tahun 2000,

menyebutkan bahwa strain *Bacillus* untuk mengendalikan penyakit akar jagung yang disebabkan oleh nematoda. Selanjutnya paten no US006015553A (6,015.553) oleh Germida et al. (2000) disebutkan bahwa strain *B. subtilis* dapat untuk mengendalikan serangga dan nematoda. Oleh karena itu *Bacillus subtilis* B298 sebagai agensia hayati dengan formula mikroenkapsulasi perlu dibuat sebagai biofungisida dan biobakterisida. *Bacillus subtilis* B298 spesifik lokasi, diisolasi dari rizosfer tanaman kentang merupakan strain asli Indonesia. Adapun biopestisida yang memenuhi syarat sebagai pengendali patogen tanaman adalah yang siap pakai, aman terhadap lingkungan, efektif untuk mengendalikan penyakit tanaman dan berpengaruh positif pada tanaman. Diharapkan dengan tersedianya biopestisida berbahan aktif *B. subtilis* B298 formula mikroenkapsulan akan menurunkan intensitas penyakit di lahan yang selama ini menjadi kendala dalam budidaya tanaman, serta mampu meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman yang selanjutnya berdampak pada masyarakat secara luas karena lebih tersedianya bahan pangan dan akan meningkatkan pendapatan petani. Invensi sebelumnya yaitu informasi paten mengenai *Bacillus* sp. sebagai pengendali penyakit tanaman dan akar jagung sudah ada dengan nomor paten US6.291.426. Namun belum diungkapkan spesifikasi formulanya. Strain *B. subtilis* yang menunjukkan aktivitas sebagai insektisida, antijamur dan antibakteri adalah nomor paten US6.291.426 dan nomor US7.081.436 tentang perlakuannya pada benih tanaman. Paten sebelumnya yang sudah diperoleh adalah nomor IDP000037663 tentang formulasi biopestisida berbasis *Bacillus* sp. B298 sebagai pengendali penyakit layu bakteri kentang, dan nomor IDP000041724 tentang formula cair biobakterisida berbasis *Bacillus* sp. B46 dan *Streptomyces* sp. S4, serta nomor IDP000043181 tentang Biopestisida Cair berbasis *Bacillus* sp. sebagai pengendali penyakit hawar daun kentang. *B. subtilis* B298 dibuat dalam formula mikroenkapsulan dimaksudkan agar aktivitas dari senyawa yang dihasilkan dapat lebih

bertahan lama (shelf life), fleksibel terhadap perubahan kondisi lingkungan, senyawa aktifnya dilepas secara perlahan sehingga terjaga keefektifannya dalam jangka yang relatif lama.

Tujuan dari invensi ini adalah mendapatkan formula mikroenkapsulan biopestisida yang berbahan aktif *B. subtilis* B298 untuk mengendalikan patogen tanaman baik jamur maupun bakteri.

Uraian Singkat Invensi

Invensi ini berkaitan dengan formula mikroenkapsulan yang terdiri atas bahan utama adalah *B. subtilis* B298 dan sebagai bahan penyusun formula mikroenkapsulan adalah maltodekstrin dan gom arab dengan perbandingan 3:2 serta air steril. Tujuan dari invensi ini mendapatkan formula mikroenkapsulan biopestisida yang berbahan aktif *B. subtilis* B298 untuk mengendalikan patogen tanaman baik jamur maupun bakteri.

B. subtilis B298 ditumbuhkan pada medium YP cair (yeast pepton glucosa broth) selama 2x24 jam dengan digojok pada shaker dengan kecepatan 150 rpm pada suhu kamar. Invensi tentang formula mikroenkapsulan biopestisida yang berbahan aktif *B. subtilis* B298 akan bermanfaat dalam pengendalian penyakit tanaman berdasarkan keunggulan yang dimiliki *B. subtilis* tersebut yaitu menghasilkan endospora yang dapat bertahan pada kondisi lingkungan yang ekstrim, menghasilkan senyawa bioaktif yang mampu sebagai biokontrol patogen tanaman dan dapat memacu pertumbuhan dan hasil tanaman, yaitu berupa enzim kitinase, amilase dan proteinase, siderofor, nitrogen, IAA, dan sebagai pelarut fosfat.

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1 adalah skema pembuatan biopestisida formula mikroenkapsulan berbahan aktif *Bacillus subtilis* B298, dengan bahan dasar formula adalah maltodekstrin, gom arab, air steril dan

bahan aktifnya adalah *B. subtilis* B298 yang ditumbuhkan pada medium YP cair.

Uraian Lengkap Invensi

5 Invensi berkaitan dengan formula mikroenkapsulan biopestisida yang terdiri atas maltodekstrin dan gom arab dengan perbandingan 3:2 berbahan aktif *B. subtilis* B298 dengan kerapatan 10^{10} cfu/ml. Senyawa aktif yang dihasilkan dari ekstrak *B. subtilis* B298 merupakan hasil ekstraksi metabolit sekunder yang mempunyai peran
10 tinggi dalam pengendalian patogen tanaman. Berdasarkan sifat ini maka *B. subtilis* B298 merupakan bakteri antagonis yang mampu mengendalikan penyakit tanaman baik yang disebabkan oleh jamur maupun bakteri. Mekanisme antagonistik dari *Bacillus* sp. adalah antibiosis, yang secara *in vitro* ditunjukkan dengan terbentuknya
15 zona bening di sekitar koloni *Bacillus* yang ditumbuhkan bersama dengan patogen baik secara *dual culture* maupun dua lapis medium. Metabolit sekunder yang dihasilkan *B. subtilis* B298 sebagai aktivitas antibiosis dalam pengendalian patogen tanaman dapat berupa enzim, protein, antibiotik, alkaloid dan siderofor.
20 Dihasilkannya senyawa aktif dari *B. subtilis* B298 berupa enzim kitinase, amilase dan proteinase, siderofor, nitrogen, IAA, dan sebagai pelarut fosfat menunjukkan bahwa mekanisme *B. subtilis* B298 dalam mengendalikan penyakit tanaman bersifat antibiosis, sekaligus dapat memacu pertumbuhan tanaman karena menghasilkan IAA
25 dan siderofor serta sebagai pelarut fosfat. Biobakterisida yang berbahan aktif *Bacillus* sp. telah ada dengan strain yang berbeda misalnya *B. subtilis* yang disimpan pada DSM German Type Cultur Collection dengan no DSM 24682 berpotensi sebagai agens pengendali hayati patogen tanaman. Dampak yang dirasakan bagi petani adalah
30 tersedianya biopestisida yang mampu bersaing dengan pestisida sintetik namun lebih ramah lingkungan karena aman bagi lingkungan dan berpengaruh positif terhadap tanaman bahkan dapat memacu

pertumbuhan dan hasil tanaman, serta meningkatkan resistensi tanaman terhadap patogen. Berdasarkan uraian di atas, dapat disampaikan bahwa invensi ini merupakan formulasi mikroenkapsulan dari *B. subtilis* B298 dengan produk metabolit sekunder dari *B. subtilis* B298 yang digunakan sebagai bahan aktif pembuatan biopestisida.

B. subtilis B298 dieksplor dari rizosfer tanaman kentang sehat dengan tahap sebagai berikut: 10 g tanah dioven 45 °C selama 2x24 jam, diisolasi pada medium Tryptic Soy Agar, setelah tumbuh koloni tunggal yang mencirikan *Bacillus* yaitu berwarna putih krem tidak mengkilat dengan tepi koloni bergerigi, selanjutnya ditumbuhkan pada medium YPGA untuk pemeliharaan dan pengujian. Pengujian fisiologi dan biokimia terhadap bakteri tersebut menunjukkan gram positif, katalase positif, OF positif, penggunaan sitrat positif, reduksi nitrat positif, mampu tumbuh pada NaCl 7%, mampu menghidrolisis pati dan motil. Koloni ini dipelihara dengan ditumbuhkan pada medium YPGA miring selama 2x24 jam sebagai koloni yang siap untuk perlakuan, sedangkan untuk kepentingan ekstraksi metabolit sekunder maka *B. subtilis* B298 ditumbuhkan pada medium YP cair, selanjutnya sebanyak 8 ml suspensi *B. subtilis* B298 dicampurkan pada bahan penyusun formula mikroenkapsulan

Invensi ini memiliki nilai orisinal karena dimulai dari mengeksplor *Bacillus* sp. sendiri dari rizosfer tanaman kentang sehat di dataran tinggi. Kemudian dilakukan uji laboratorium terhadap isolat tersebut yang meliputi uji sifat fisiologis dan biokimia, sehingga menghasilkan isolat strain B298 dan dalam formula cair sudah dipatenkan sebagai pengendali penyakit layu bakteri kentang dengan no paten IDP000037663 pada tahun 2015. Formula mikroenkapsulan diketahui lebih *applicable*, praktis, fleksibel terhadap lingkungan dan terjaga keefektivannya serta bertahan lama.

Proses pembuatan formula mikroenkapsulan dengan bahan aktif *B. subtilis* B298 adalah sebagai berikut Isolat *B. subtilis* B298 berumur 2 hari pada medium YPGA disiapkan dengan menumbuhkan pada medium YP cair 3x24 jam, pada suhu ruang dan digojog (shaker) dengan kecepatan 150 rpm pada suhu kamar, terbentuk suspensi *B. subtilis* B298 dengan kerapatan 10^{10} cfu/ml. Bahan penyusun formula mikroenkapsulan yang sudah disiapkan berupa maltodekstrin dan gom arab dengan perbandingan 3:2, diaduk merata dengan menambahkan air steril sebanyak 0,4 v/w, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi. Hasil sterilisasi bahan penyusun mikroenkapsulan selanjutnya dicampur dengan 0,2 v/w suspensi *B. subtilis* B298, diaduk secara perlahan kemudian dipaparkan pada suatu tempat kemudian dikeringkan dingin dengan *freeze drying* tipe benchtop model VLC 100 mT pada suhu -73,6°C selama 10-14 jam. Hasil pengeringan pada no 3 selanjutnya diblender dan diayak sampai memperoleh ukuran mikrometer. Berdasarkan pengukuran dengan SEM (*scanning electron microscopy*) dihasilkan ukuran partikel mikroenkapsulan *B. subtilis* B298 sebesar 403,9 x 343,9 μm .

20 Klaim

1. Suatu bahan formula mikroenkapsulan biopestisida yang terdiri atas (Maltodekstrin, Gom arab dengan perbandingan 3:2 ditambah air steril 0,4 v/w), berbahan aktif *B. subtilis* B298 dengan kerapatan 10^{10} cfu/ml ditambahkan pada bahan tersebut sebanyak 0,2 v/w suspensi *B. subtilis* B298

***Bacillus subtilis* B298 FORMULA MIKROENKAPSULAN SEBAGAI BIOKONTROL
PATOGEN TANAMAN**

5

Invensi ini mengenai formula mikroenkapsulan biopestisida
berbahan aktif *B. subtilis* B298. Suspensi *B. subtilis* B298 berisi
10 metabolit sekunder sebagai agens pengendali patogen tanaman.
Senyawa yang dihasilkan *B. subtilis* B298 merupakan mekanisme dari
B. subtilis B298 sebagai biokontrol patogen tanaman dan pemacu
pertumbuhan tanaman. Formula mikroenkapsulan ini membantu petani
dalam mengatasi penyakit tanaman baik disebabkan oleh jamur maupun
15 bakteri. Tersedianya formula mikroenkapsulan menguntungkan karena
bahan aktif dari *B. subtilis* B298 terlepas secara perlahan (slow
release), sehingga terjaga keefektivannya, fleksibel terhadap
kondisi lingkungan, dan mempunyai daya simpan (shelf life) yang
lama dan lebih praktis dalam pengangkutan dan penyimpanan.

20

25