



REPUBLIC INDONESIA  
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

**SERTIFIKAT PATEN**

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

Nama dan Alamat Pemegang Paten

: AKHMAD TAUFIK MUKTI  
Jl. Gajayana Nomor 797 RT/RW. 008/002 Kel. Dinoyo  
Kec. Lowokwaru, Malang  
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul

: METODE PRODUKSI STOK INDUK IKAN NILA TETRAPLOIDI

Inventor

: Akhmad Taufik Mukti

Tanggal Penerimaan

: 29 April 2011

Nomor Paten

: IDP000043005

Tanggal Pemberian

: 10 Oktober 2016

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten 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) IDP000043005 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 10 Oktober 2016

(51) Klasifikasi IPC<sup>3</sup> : A 01K 61/00

(21) No. Permohonan Paten : P00201100252

(22) Tanggal Penerimaan: 29 April 2011

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

(43) Tanggal Pengumuman: 29 November 2012

(56) Dokumen Pemandang:  
US4697546 (A)  
CN 101103707 (A)  
CN1739343(A)  
CN1596627 (A)  
CN 1943327 (A)  
US5824841 (A)

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :  
AKHMAD TAUFIK MUKTI  
Jl. Gajayana Nomor 797 RT/RW. 008/002 Kel. Dinoyo  
Kec. Lowokwaru, Malang  
INDONESIA

(72) Nama Inventor :  
Akhmad Taufik Mukti, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Drs. Ahmad Muniri

Jumlah Klaim : 6

Judul Invensi : METODE PRODUKSI STOK INDUK IKAN NILA TETRAPLOIDI

Metode untuk memproduksi stok induk ikan nila tetraploidi melalui kejut suhu panas pada telur terfertilisasi. Telur ikan nila dilakukan setelah periode inkubasi awal dan sebelum pembelahan sel pertama (pembelahan mitosis), yaitu 90 menit setelah fertilisasi melalui perendaman (kejut suhu panas) telur terfertilisasi dalam air bersuhu 40°C selama 2,5 menit. Inkubasi telur hasil perendaman sampai menjadi benih ikan nila tetraploid dan stok induk ikan nila tetraploidi yang maturasi. Persilangan induk ikan nila tetraploid normal akan menghasilkan semua keturunan (benih) ikan nila triploidi dengan pertumbuhan cepat.



Gambar 8



Deskripsi**METODE PRODUKSI STOK INDUK IKAN NILA TETRAPLOIDI**

5

**Bidang Teknik Invensi**

Invensi ini berhubungan dengan metode memproduksi stok induk ikan nila tetraploidi yang dapat digunakan untuk memproduksi keturunan (benih) ikan nila triploidi yang steril dan cepat pertumbuhannya secara massal dan alami. Metode ini memiliki potensi untuk meningkatkan efisiensi dan kualitas produksi ikan nila secara komersial.

15 **Latar Belakang Invensi**

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) telah dibudidayakan secara luas secara komersial karena ikan tersebut mudah dipelihara dan merupakan makanan dengan kualitas baik. Potensi ikan nila sebagai ikan budidaya cukup besar, karena memiliki beberapa kelebihan, yaitu mudah berkembang biak, pertumbuhan relatif cepat, kandungan protein cukup tinggi, dapat dipelihara dengan kepadatan tinggi dan dapat menerima pakan yang beragam, daya adaptasi tinggi serta mempunyai toleransi terhadap kualitas air yang lebar kisarannya. Ikan ini disukai oleh masyarakat luas, karena dagingnya tebal dan rasanya enak dengan kandungan protein lebih kurang 17,5 persen, kandungan lemak 4,1 persen dan kandungan asam lemak omega 3 serta kandungan omega 6 yang jumlahnya lebih kurang tiga kali lipat dari omega 3 yang berguna bagi kesehatan manusia.

Meskipun beberapa riset telah menunjukkan tentang peningkatan, kepadatan dan peningkatan nutrisi ikan nila,

sedikit riset yang telah dilakukan ke arah peningkatan genetik yang dapat meningkatkan nilainya sebagai spesies budidaya.

Satu peningkatan genetik yang merupakan keuntungan bagi budidaya ikan adalah produksi individu triploidi. Triploidi adalah satu tipe dari poliploidi yang secara umum dijelaskan sebagai spesimen dengan tiga set kromosom berlawanan dengan umumnya spesimen diploid normal dengan dua set kromosom. Triploidi telah menunjukkan keuntungan pada produksi ikan nila komersial, karena ikan nila triploidi memiliki pertumbuhan tinggi dan cepat serta memiliki konversi pakan yang lebih baik dibandingkan dengan ikan nila diploid normal.

Ikan triploidi telah ditemukan steril. Triploidi spontan secara alami pada ikan adalah sulit atau jarang terjadi, sehingga metode alternatif untuk memproduksi ikan triploidi telah dikembangkan. Sebagai contoh, triploidi telah diproduksi pada spesies ikan tertentu melalui perlakuan kejutan suhu panas maupun suhu dingin pada telur terfertilisasi, seperti pada ikan maskoki (*Carassius auratus*) dan channel catfish (*Ictalurus punctatus*).

Tetraploidisasi dan perkawinan ikan nila tetraploidi dengan ikan nila diploid normal untuk memproduksi semua keturunan (benih) triploidi termasuk suatu peningkatan metode untuk memproduksi triploidi, sebagai pembandingan bagi metode perlakuan kejutan suhu sebelumnya. Beberapa teknik triploidisasi sebelumnya yang memerlukan perlakuan hormonal, penanganan sperma dan telur dan kejutan suhu panas maupun suhu dingin tidak praktis untuk memproduksi ikan nila komersial, karena memerlukan waktu dan tenaga untuk memproduksi hingga ukuran *fingerling* pada kolam pembesaran.

Riset yang menjadi perhatian dalam membuat induksi tetraploidi melalui kejut suhu selama perkembangan embrio awal telah dilakukan. Induksi tetraploidi pada ikan nila sebelumnya telah berhasil dilakukan oleh J. Don dan RR. Avtalion serta RJ. Valenti melalui kejut suhu dingin (Don J, Avtalion RR. 1988. Production of viable tetraploid tilapia using the cold shock technique. *Bamidgeh*, 40:17-21; Valenti RJ. 1975. Induction of polyploidy in *Tilapia aurea* Steindachner by means of temperature shock. *J Fish Biol.* 7:519-528). Akan tetapi, kejut suhu dingin tidak efisien dalam aplikasinya apabila dibandingkan dengan kejut suhu panas dengan efektivitas yang relatif sama. Selain itu, hingga saat ini belum ada publikasi keberhasilan produksi ikan nila, *Oreochromis niloticus*, tetraploidi hingga menjadi dewasa dan mengalami maturasi atau kematangan kelamin.

Kejut suhu panas telah berhasil diaplikasikan untuk induksi tetraploidisasi pada beberapa spesies ikan, seperti salmon, *catfish* (US Patent Number 4697546, 1987: Method for Production of Tetraploid Channel Catfish), *loach* dan karper. Ketika kejut suhu panas diaplikasikan secara cepat sebelum pembelahan pertama, maka sitokinesis dihambat. Sigot memiliki dua replikasi genom dengan hanya satu bagian sitoplasmik. Kejut suhu panas menyebabkan depolimerisasi polimer tubulin yang membentuk mikrotubulin esensial selama pembentukan *apparatus spindle*. Kejut suhu panas menyebabkan penghambatan pembentukan *spindle* dan pergerakan aster.

Untuk memproduksi stok induk ikan nila tetraploidi, maka diperlukan invensi perlakuan kejut suhu panas pada telur terfertilisasi selama periode waktu pertama pembelahan mitosis.

### Uraian Singkat Invensi

Tujuan dari invensi ini adalah untuk menjelaskan metode induksi tetraploidi hingga menjadi stok induk tetraploidi pada ikan nila. Metode terdiri dari tahapan fertilisasi telur dari ikan nila betina, inkubasi telur terfertilisasi selama periode waktu pertama, kejut suhu panas pada telur terfertilisasi pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama periode waktu 2,5 menit, inkubasi telur hasil perlakuan kejut suhu panas sampai menjadi benih dan pemeliharaan benih menjadi stok induk ikan nila tetraploidi yang maturasi. Periode waktu pertama selama inkubasi dari telur terfertilisasi berkisar antara waktu yang diperlukan selama pembelahan sel pertama dari telur terfertilisasi hingga waktu 90 menit selama pembelahan sel pertama (pembelahan mitosis). Periode waktu pertama selama inkubasi tergantung pada beberapa pengaruh pada suhu inkubasi. Pada suhu inkubasi tipikal berkisar antara  $28-29^{\circ}\text{C}$ , periode inkubasi pertama adalah selama 90 menit dari fertilisasi telur. Inkubasi ideal dilakukan pada air mengalir yang teraerasi. Lama perlakuan kejut suhu panas pada telur terfertilisasi pada periode inkubasi pertama secara tipikal adalah lebih kurang 2,5 menit dan tergantung pada suhu perlakuan kejut suhu. Pada suhu lebih kurang  $40^{\circ}\text{C}$ , lama kejut suhu sebaiknya tidak lebih dari 2,5 menit. Pada kejut suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 2,5 menit merupakan perlakuan optimum untuk memproduksi embrio ikan nila tetraploidi hingga menjadi benih dan stok induk ikan nila tetraploidi yang maturasi. Ikan nila tetraploidi dari invensi ini digunakan untuk memproduksi semua keturunan (benih) ikan nila triploidi dengan pertumbuhan cepat melalui perkawinan dengan ikan nila diploid normal.



### **Uraian Singkat Gambar**

Gambar 1. Adalah inkubasi dan penetasan telur ikan nila hasil tetraploidisasi dalam gelas penetasan dengan resirkulasi air dan suhu air inkubasi berkisar antara 28-29°C.

Gambar 2. Adalah metode perendaman (kejut suhu) telur terfertilisasi pada *shocking box* dengan suhu air 40°C selama 2,5 menit.

Gambar 3. Adalah sel darah (eritrosit) ikan nila diploid normal (pembesaran 400 x).

Gambar 4. Adalah sel darah (eritrosit) ikan nila tetraploidi (pembesaran 400 x).

Gambar 5. Adalah perbandingan ukuran tubuh ikan nila tetraploidi dan diploid normal pada umur pemeliharaan 100 hari (T = Tetraploidi; D = Diploid).

Gambar 6. Adalah perbandingan ukuran tubuh ikan nila tetraploidi dan diploid normal pada umur pemeliharaan 240 hari (T = Tetraploidi; D = Diploid).

Gambar 7. Adalah perbandingan ukuran tubuh ikan nila tetraploidi dan diploid normal jantan pada umur pemeliharaan 330 hari (T = Tetraploidi; D = Diploid).

Gambar 8. Adalah perbandingan ukuran tubuh ikan nila tetraploidi dan diploid normal betina pada umur pemeliharaan 330 hari (T = Tetraploidi; D = Diploid).

### **Uraian Lengkap Invensi**

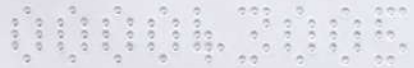
Pemijahan induk ikan nila dilakukan dengan cara memasukkan pasangan induk ikan nila jantan dan betina ke dalam kolam pemijahan dengan perbandingan jantan dan betina adalah 1:2. Ikan nila melakukan perkawinan secara alami dan umumnya berlangsung siang hari dengan selang waktu 1-3 hari setelah dipasangkan. Apabila tampak tanda



ikan nila mulai memijah, induk ikan nila betina dan jantan ditangkap dan dilakukan *stripping* (pengurutan abdominal) untuk mendapatkan telur dan sperma ikan. Telur-telur tersebut ditampung dalam mangkok *melamine* dan disimpan pada suhu ruang yang kering, sedangkan sperma ditampung dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl Fisiologis 0,9 % (pengenceran 9 kali) dan disimpan sementara dalam refrigerator suhu 4°C.

Prosedur tetraploidisasi ikan nila dilakukan melalui tahapan: sejumlah telur ikan nila hasil *stripping* (pengurutan abdominal) diambil menggunakan spatula dan diletakkan dalam mangkok *melamine* bersih dan kering. Larutan sperma ditambahkan pada telur sebanyak 2-3 tetes dan dicampur serta diaduk secara perlahan menggunakan bulu ayam. Selanjutnya, campuran larutan sperma dan telur ditambahkan air bersih sebanyak 3-4 tetes untuk melangsungkan proses fertilisasi telur dan secara perlahan-lahan diaduk menggunakan bulu ayam beberapa menit. Waktu fertilisasi dicatat saat pertama kali penetasan air bersih. Kemudian, telur yang terfertilisasi disebar pada saringan yang ada dalam wadah (bak plastik) berisi larutan garam dan urea dengan perbandingan 4:3 per liter air. Selanjutnya, telur dipindah ke dalam gelas penetasan telur dan diinkubasi pada bak inkubasi secara resirkulasi dengan suhu air berkisar antara 28-29°C (lihat Gambar 1). Pada 90 menit setelah fertilisasi, telur yang telah dipindahkan ke dalam saringan dimasukkan *shocking box* untuk perlakuan kejut suhu panas (40°C) selama 2,5 menit (lihat Gambar 2). Setelah perlakuan, telur direndam dalam larutan *methylene blue* 1 menit, dibilas larutan Ringer's dan dimasukkan ke dalam bak inkubasi (penetasan) telur dengan resirkulasi air.





Penetasan telur dilakukan dalam bak inkubasi (penetasan) telur yang terbuat dari gelas-gelas atau fiber berbentuk corong dan suhu air diatur berkisar antara 28-29°C secara resirkulasi (lihat Gambar 1). Sekitar 12-24 jam setelah fertilisasi, dilakukan penghitungan jumlah telur yang terfertilisasi. Telur-telur ikan nila tersebut akan menetas lebih kurang 4-5 hari. Selanjutnya, jumlah telur yang menetas dan jumlah larva cacat secara morfologis (bila ada) dihitung. Saat larva baru menetas, pakan yang diberikan adalah suspensi kuning telur dan pakan alami *Artemia* spp. Setelah seminggu lamanya, larva ikan dipindahkan ke dalam akuarium atau bak pemeliharaan larva secara terkontrol. Selama pemeliharaan larva, pakan yang diberikan adalah cacing *Tubifex* spp. dan pakan buatan pellet halus yang diberikan secara bertahap sesuai dengan ukuran larva hingga menjadi benih. Selama pemeliharaan benih (1-2 bulan), dihitung kelangsungan hidupnya. Kemudian, benih dipelihara hingga dewasa dan siap menjadi stok induk ikan nila tetraploidi maturasi. Selama pemeliharaan benih hingga stok induk, ikan nila tetraploidi diberi pakan buatan pelet nutrisi tinggi dengan kandungan protein lebih kurang 33 %.

25

30

**Klaim**

1. Suatu metode untuk memproduksi stok induk ikan nila tetraploidi melalui tahapan :

- 5 - memfertilisasi telur dari ikan nila betina,
- menginkubasi telur terfertilisasi selama periode waktu pertama, periode waktu pertama berkisar antara waktu yang diperlukan selama pembelahan sel pertama dari telur terfertilisasi ke waktu sekitar 90 menit
- 10 - memperlakukan telur terfertilisasi melalui perendaman telur dalam air bersuhu 40°C selama 2,5 menit,
- menginkubasi telur terfertilisasi yang telah
- 15 diperlakukan kejut suhu panas, dimana periode waktu inkubasi dilanjutkan pemeliharaan larva dan benih ikan nila tetraploidi secara terkontrol hingga menjadi stok induk ikan nila tetraploidi yang mengalami maturasi.

20

2. Metode seperti yang diklaim dalam klaim 1, dimana setelah inkubasi telur terfertilisasi selama waktu periode pertama, telur diperlakukan melalui perendaman (kejut suhu panas) dalam air bersuhu 40°C selama 2,5

25

3. Metode seperti yang diklaim dalam klaim 1, dimana periode waktu perendaman (kejut suhu panas) adalah 2,5 menit.

30

4. Metode seperti yang diklaim dalam klaim 2, dimana telur terfertilisasi diinkubasi selama waktu

periode pertama dalam air bersuhu 28-29°C dan waktu periode pertama 90 menit.

5. Metode seperti yang diklaim dalam klaim 1, dimana perlakuan telur terfertilisasi diinkubasi selama waktu periode ketiga dalam air mengalir beraerasi pada suhu 28-29°C hingga telur menetas.

6. Metode seperti yang diklaim dalam klaim 5, dimana telur menetas menjadi larva dipelihara secara terkontrol hingga mengalami maturasi.

15

20

25

30

#

Abstrak**METODE PRODUKSI STOK INDUK IKAN NILA TETRAPLOIDI**

5            Suatu metode untuk memproduksi stok induk ikan nila tetraploidi melalui kejut suhu panas pada telur terfertilisasi. Telur ikan nila terfertilisasi diperlakukan setelah periode inkubasi awal dan sebelum pembelahan sel pertama (pembelahan mitosis), yaitu 90  
10            menit setelah fertilisasi melalui perendaman (kejut suhu panas) telur terfertilisasi dalam air bersuhu 40°C selama 2,5 menit. Inkubasi telur hasil kejut suhu panas sampai menjadi benih ikan nila tetraploid dan stok induk ikan nila tetraploidi yang maturasi. Persilangan induk ikan  
15            nila tetraploid dan diploid normal akan menghasilkan semua keturunan (benih) ikan nila triploidi dengan pertumbuhan cepat.

20

25

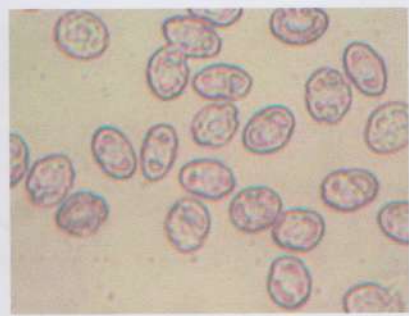
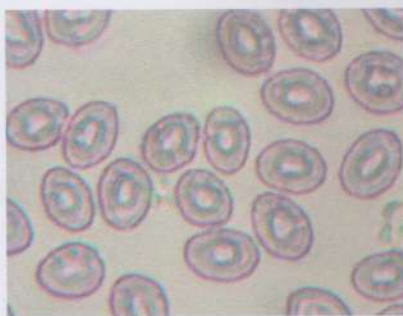
30



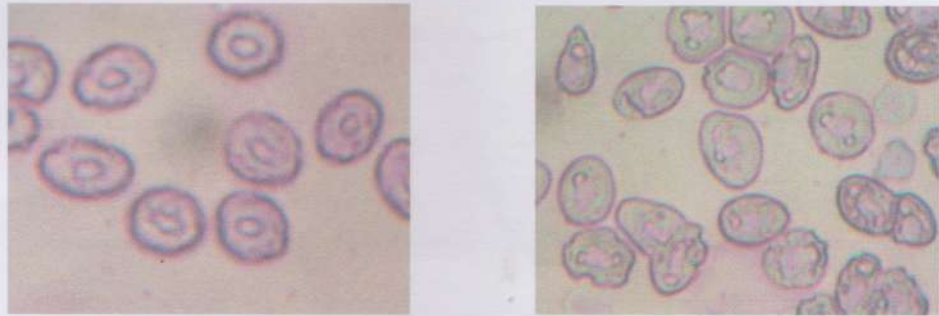
Gambar 1



Gambar 2



Gambar 3



Gambar 4



Gambar 5



Gambar 6

#



Gambar 7



Gambar 8