



REKONSTRUKSI, SUBKLONING GEN GLUKOSA OKSIDASE (GOX-Xho) KE DALAM PLASMID pPICZ α B, DAN EKSPRESINYA PADA *Pichia pastoris*

HANIFAH ARYANI



**PROGRAM STUDI BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul Rekonstruksi, Subkloning Gen Glukosa Oksidase (*GOX-Xho*) ke dalam Plasmid pPICZ α B, dan Ekspresinya pada *Pichia pastoris* adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2024

Hanifah Aryani

NIM G8501212014



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

HANIFAH ARYANI. Rekonstruksi, Subkloning Gen Glukosa Oksidase (*GOX-Xho*) ke dalam Plasmid pPICZ α B, dan Ekspresinya pada *Pichia pastoris*. Dibimbing oleh LAKSMI AMBARSARI, POPI ASRI KURNIATIN, dan ASRUL MUHAMAD FUAD

Glukosa oksidase (*GOX*, EC1.1.3.4) adalah enzim yang mengkatalisis oksidasi β -D-glukosa menjadi δ -glukonolakton dan hidrogen-peroksida (H_2O_2), dimana δ -glukonolakton yang terhidrolisis berubah menjadi asam glukonat yang bermanfaat dalam bidang kesehatan. Sumber utama *GOX* industri dihasilkan oleh jamur dari kelompok *Aspergillus* dan *Penicilium*. Pada penelitian terdahulu diketahui bahwa *GOX* dari isolat *A. niger* IPBCC-08.160 menunjukkan aktivitas intraseluler yang lebih tinggi daripada ekstraselulernya. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan produksi *GOX* ekstraseluler dengan teknologi DNA rekombinan pada sistem ekspresi *Pichia pastoris*. Gen *GOX* asal *A. niger* IPBCC-08.160 dimodifikasi dengan menghilangkan sinyal sekresi naturalnya, menambahkan situs restriksi *XhoI* di kedua ujungnya, *spacer* glu-ala-glu-ala di ujung 5', dan situs *XbaI* di ujung 3'. Gen yang dimodifikasi ini, dinamai *GOX-Xho* (1797 pb), telah berhasil diklon ke dalam plasmid kloning pTA2 dan dikarakterisasi melalui analisis sekuen DNA. Selanjutnya gen *GOX-Xho* berhasil disubklon ke dalam vektor ekspresi terinduksi pPICZ α B pada situs *XhoI* dan menghasilkan plasmid rekombinan dengan orientasi gen yang benar. Gen tersebut telah terfusi dengan peptida sinyal *mating factor- α* (MF- α) untuk ekspresi protein ekstraseluler pada sel inang. Plasmid ini berhasil ditransformasi ke dalam sel *P. pastoris* BG11 melalui metode elektroporasi dan menghasilkan beberapa koloni ragi rekombinan. Selanjutnya koloni tersebut diseleksi pada media YPD dengan konsentrasi zeocin 100, 200, 1000 dan 2000 μ g/ml untuk memperoleh koloni transforman yang stabil secara genetik. Sekitar 20% koloni tumbuh baik pada media dengan konsentrasi zeocin 1000 μ g/mL dan sebagian koloni tersebut digunakan dalam uji ekspresi protein. Analisis ekspresi protein menunjukkan bahwa beberapa galur berhasil mengekspresikan *GOX* rekombinan (± 60 kDa) secara ekstraseluler. Selain itu, variasi ekspresi protein juga teramati dari beberapa galur rekombinan yang diujikan.

Kata kunci: *Aspergillus niger* IPBCC 08.610, enzim rekombinan, glukosa oksidase (*GOX*), kloning gen, *Pichia pastoris*, vektor induksi

ABSTRACT

HANIFAH ARYANI. Reconstruction, Subcloning of Glucose Oxidase Gene (*GOX-Xho*) into Plasmid pPICZ α B, and its Expression in *Pichia pastoris*. Supervised by LAKSMI AMBARSARI, POPI ASRI KURNIATIN, and ASRUL MUHAMAD FUAD.

*Glucose oxidase (GOX, EC1.1.3.4) is an enzyme that catalyzes the oxidation of β -D-glucose to δ -gluconolactone and hydrogen-peroxide (H_2O_2), where the hydrolyzed δ -gluconolactone turns into gluconic acid which is useful in the health sector. The main industrial source of *GOX* is produced by fungi from the *Aspergillus**

and *Penicillium* groups. In previous research, it was known that GOX from the *A. niger* isolate IPBCC 08.160 showed higher intracellular activity than extracellular activity. This research aims to increase extracellular GOX production using recombinant DNA technology in the *Pichia pastoris* expression system. The GOX gene from *A. niger* IPBCC 08.160 was modified by removing the natural secretion signal, adding *XhoI* restriction sites at both ends, a glu-ala-glu-ala spacer at the 5'-end, and an *XbaI* site at the 3'-end. This modified gene, named GOX-*Xho* (1797 bp), was successfully cloned into the pTA2 cloning plasmid and characterized through DNA sequence analysis. Next, the GOX-*Xho* gene was successfully subcloned into the pPICZ α B inducible expression vector at the *XhoI* site and produced a recombinant plasmid with the correct gene orientation. The gene has been fused with the mating factor- α (MF- α) signal peptide for extracellular protein expression in host cells. This plasmid was successfully transformed into *P. pastoris* BG11 cells via the electroporation method and produced several recombinant yeast colonies. Next, those colonies were further selected on YPD media with zeocin concentrations of 100, 200, 1000, and 2000 μ g/ml to obtain genetically stable transformant colonies. Approximately 20% of colonies grew well on media with 1000 μ g/mL of zeocin and some of those colonies were used for protein expression assay. Protein expression analysis showed that some strains successfully expressed recombinant GOX (\pm 60 kDa) extracellularly. In addition, variations in protein expression were also observed from several recombinant strains tested.

Keywords: *Aspergillus niger* IPBCC 08.610, gene cloning, glucose oxidase (GOX), inducible vector, *Pichia pastoris*, recombinant enzyme

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



REKONSTRUKSI, SUBKLONING GEN GLUKOSA OKSIDASE (GOX-XHO) KE DALAM PLASMID pPICZ α B, DAN EKSPRESINYA PADA *Pichia pastoris*

HANIFAH ARYANI

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Magister Biokimia

**PROGRAM STUDI BOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Tim Penguji pada Ujian Tesis :

1. Dr. Inda Setyawati, S.T.P., M.Si

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Tesis : Rekonstruksi, Subkloning Gen Glukosa Oksidase (*GOX-Xho*) ke dalam Plasmid pPICZ α B, dan Ekspresinya pada *Pichia pastoris*
Nama : Hanifah Aryani
NIM : G8501212014

Disetujui oleh

Pembimbing 1
Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, MS

Pembimbing 2
Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si

Pembimbing 3
Dr. Asrul Muhamad Fuad, M.Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi
Prof. Dr. drh. Hasim, DEA
NIP. 196103281986011002

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si
NIP. 19780723100711001



Tanggal Ujian: 8 Agustus 2024

Tanggal Lulus:

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanaahu wa ta'ala* atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Rekonstruksi, Subkloning Gen Glukosa Oksidase (*GOX-Xho*) ke dalam Plasmid pPICZαB, dan Ekspresinya pada *Pichia pastoris*” yang telah dilakukan di Laboratorium Genomik dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, MS selaku pembimbing I, Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si selaku pembimbing II, dan Dr. Asrul Muhamad Fuad, M.Si selaku pembimbing III. Terima kasih kepada Direktorat Manajemen Talenta BRIN melalui Program Bantuan Riset bagi Talenta Riset dan Inovasi (BARISTA). Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada orang tua dan kakak penulis yang selalu memberikan dukungan dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini. Ungkapan terima kasih penulis ucapkan kepada Yuliawati, M.Si yang turut memberi bimbingan selama penelitian berlangsung. Terima kasih kepada Nadhira Fathiaz Akbar, S.Si selaku rekan bekerja dalam mengerjakan penelitian ini. Ucapan terima kasih kepada seluruh pengelola Laboratorium Genomik dan Lingkungan, BRIN, Cibinong atas bantuannya selama penulis menyelesaikan penelitian.

Penulis berharap semoga tesis ini bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan, industri, dan masyarakat.

Bogor, Agustus 2024

Hanifah Aryani



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	2
1.4. Manfaat Penelitian	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Glukosa Oksidase	3
2.2. <i>Pichia pastoris</i>	4
2.3. Plasmid pTA2 untuk Kloning Gen	5
2.4. Plasmid pPICZ α untuk Ekspresi Protein Rekombinan pada <i>P. pastoris</i>	6
2.5. Konstruksi Gen <i>GOX</i>	7
III METODE PENELITIAN	9
3.1. Waktu dan Tempat	9
3.2. Alat dan Bahan	9
3.3. Prosedur Kerja	9
3.3.1. Optimasi PCR Tahap 1	9
3.3.2. Optimasi PCR Tahap II	10
3.3.3. Kloning Gen <i>GOX-Xho</i> ke dalam Plasmid Target Clone (pTA2) dan Transformasi pTA2- <i>GOX-Xho</i> ke dalam <i>E. coli</i> DH5 α	11
3.3.4. Isolasi Metode Alkali Lisis dan Pemurnian Plasmid pTA2- <i>GOX-Xho</i>	11
3.3.5. Konfirmasi gen <i>GOX-Xho</i> menggunakan PCR	12
3.3.6. Analisis Pola Restriksi dan Pengurutan Basa Nitrogen pTA2- <i>GOX-Xho</i>	12
3.3.7. Restriksi Plasmid pPICZ α B dan Gen <i>GOX-Xho</i>	12
3.3.8. Subkloning Gen <i>GOX-Xho</i> ke dalam Plasmid pPICZ α B dan Transformasi pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i> ke dalam <i>E. coli</i> DH5 α	12
3.3.9. Penentuan Orientasi Gen <i>GOX-Xho</i> pada pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i> dengan PCR	13
3.3.10. Analisis Pola Restriksi pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i>	13
3.3.11. Linierisasi pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i> dengan <i>Pme</i> I	13
3.3.12. Transformasi pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i> ke <i>P. pastoris</i> BG11 AOX1	13
3.3.13. Seleksi Transforman terhadap Tekanan Zeocin	14
3.3.14. Ekspresi <i>GOX</i> Rekombinan	14

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

IV HASIL	15
4.1. Hasil Optimasi PCR Tahap I	15
4.2. Hasil Optimasi PCR Tahap II	15
4.3. Hasil Kloning Gen <i>GOX-Xho</i> ke dalam Vektor Kloning Target Clone (pTA2)	17
4.4. Transforman <i>E. coli</i> DH5 α _pTA2- <i>GOX-Xho</i>	17
4.5. Hasil Isolasi dan Pemurnian pTA2- <i>GOX-Xho</i>	17
4.6. Hasil Identifikasi pTA2- <i>GOX-Xho</i>	18
4.7. Hasil Subklon Gen <i>GOX-Xho</i> ke dalam Plasmid pPICZ α B	20
4.8. Transforman <i>E. coli</i> DH5 α _pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i>	21
4.9. Hasil Identifikasi Plasmid Rekombinan pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i>	21
4.10. Transforman <i>P. pastoris</i> BG11 <i>AOX1</i> _pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i>	22
4.11. Hasil Seleksi Transforman terhadap Tekanan Zeocin	23
4.12. Analisis Ekspresi <i>GOX</i> Rekombinan	23
V PEMBAHASAN	25
5.1. Amplikon PCR Tahap I	25
5.2. Amplikon PCR Tahap II	25
5.3. Hasil Kloning Gen <i>GOX-Xho</i> ke dalam Vektor Kloning Target Clone (pTA2)	26
5.4. Transforman <i>E. coli</i> DH5 α _pTA2- <i>GOX-Xho</i>	27
5.5. Hasil Isolasi dan Pemurnian Plasmid pTA2- <i>GOX-Xho</i>	28
5.6. Identifikasi Plasmid pTA2- <i>GOX-Xho</i>	29
5.7. Hasil Subklon Gen <i>GOX-Xho</i> ke dalam Plasmid pPICZ α B	31
5.8. Transforman <i>E. coli</i> DH5 α _pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i>	32
5.9. Identifikasi Plasmid Rekombinan pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i>	32
5.10. Transforman <i>P. pastoris</i> BG11 <i>AOX1</i> _pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i>	34
5.11. Hasil Seleksi Transforman Terhadap Tekanan Zeocin	35
5.12. Analisis Ekspresi <i>GOX</i> Rekombinan	35
VI KESIMPULAN DAN SARAN	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	46
RIWAYAT HIDUP	62

DAFTAR GAMBAR

1	Jalur metabolisme metanol pada <i>P. pastoris</i>	5
2	Peta plasmid pTA2	6
3	Peta pPICZ α	7
4	Peta plasmid rekombinan pPICZ α -GOX	8
5	Posisi penempelan primer FPI-GOX dan RPI-GOX pada gen GOX	15
6	Elektroforegram amplikon hasil optimasi PCR tahap I gen GOX	16
7	Posisi penempelan primer FPI-GOX dan RPI-GOX pada ORF gen GOX	16
8	Elektroforegram amplikon optimasi PCR tahap II	16
9	Koloni <i>E. coli</i> DH5 α transforman pTA2-GOX-Xho	17
10	Elektroforegram pTA2-GOX-Xho isolasi dari <i>E. coli</i> DH5 α	18
11	Elektroforegram amplikon gen GOX-Xho	18
12	Elektroforegram restriksi dengan XbaI	19
13	Sekuens pTA2-GOX-Xho	19
14	Elektroforegram digesti dengan XhoI	20
15	Transforman <i>E. coli</i> DH5 α pPICZ α B-GOX-Xho	21
16	Elektroforegram identifikasi pPICZ α B-GOX-Xho	22
17	Elektroforegram linierisasi pPICZ α B-GOX-Xho	22
18	Transforman <i>P. pastoris</i> BG11 AOX1 pPICZ α B-GOX-Xho	23
19	Seleksi koloni <i>P. pastoris</i> BG11 AOX1	23
20	Analisis ekspresi protein dengan SDS-PAGE	24

DAFTAR TABEL

1	Urutan DNA Primer	10
2	Pengaturan PCR tahap II sebelum dan sesudah modifikasi	10
3	Kuantifikasi gen GOX-Xho dan pTA2-GOX-Xho	17
4	Kuantifikasi gen GOX-Xho dan pPICZ α B hasil potong	20
5	Urutan DNA dan Tm primer	26
6	Perubahan asam amino gen GOX-Xho sebelum dan setelah mutasi	31

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	47
2	Komposisi media	48
3	Preparasi reagen	51
4	Peta plasmid pPICZ α B-GOX-Xho	54
5	Multiple cloning site pTA2	54
6	Urutan basa nukleotida GOX-Xho	55
7	Perhitungan reaksi ligasi gen GOX-Xho dengan pPICZ α B	56
8	Urutan basa nukleotida pPICZ α B-GOX-Xho-3A2 forward dan reverse	57

9	Penomoran koloni pada seleksi transforman terhadap tekanan zeocin	58
10	Sekuen <i>GOX A. niger</i> IPBCC 08.610 (MH593586.1)	59
11	Pensejajaran asam amino <i>GOX-Xho</i>	60

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.