



BAB IV HASIL PENELITIAN ASTAXANTHIN

A. EKSTRAKSI ASTAXANTHIN

Ekstraksi karotenoid merupakan suatu proses untuk memperoleh karotenoid dari bahan yang diduga mengandung karotenoid, seperti kulit udang. Karotenoid dalam kulit udang merupakan senyawa kompleks yang berikatan secara nonkovalen dengan protein (Gimeno *et al.*, 2007).

Babu *et al.*, (2008) menyatakan ekstraksi karotenoid telah banyak dilakukan dengan berbagai metode, yaitu menggunakan pelarut kimia, minyak, superkritikal karbondioksida, bakteri, dan enzim. Ekstraksi karotenoid menggunakan pelarut kimia telah banyak dilakukan diantaranya menggunakan heksana, aseton, metanol, dan etanol.

Ekstraksi karotenoid menggunakan pelarut kimia memang efektif akan tetapi memiliki beberapa



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber.

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.

2. Dilarang memurnikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

kekurangan, yaitu proses pemisahan pelarut kimia dengan karotenoid sangat sulit sehingga dapat terdegradasi karotenoid dan hasil ekstraksinya tidak aman bagi kesehatan. Maoka dan Akimoto (2008) telah mengekstraksi karotenoid dari kulit udang menggunakan aseton menghasilkan rendemen sebesar 0,1 mg/g.

Gimeno *et al.*, (2007) menyatakan bahwa ekstraksi karotenoid menggunakan aseton lebih efektif dibandingkan dengan etanol. Ekstraksi menggunakan pelarut minyak tidak dapat dijadikan sebagai suplemen kesehatan karena kandungan asam lemak tak jenuhnya sangat tinggi sehingga tidak baik untuk kesehatan (Lee *et al.*, 1999).

Shacindra *et al.*, (2005) telah melakukan ekstraksi karotenoid menggunakan pelarut aseton pada berbagai bagian tubuh udang dan menghasilkan rendemen sebesar 10,4-17,4 ppm pada daging udang, 35,8-153,1 ppm pada kepala, dan 59,8-104,7 ppm pada kulit udang.

Ekstraksi karotenoid menggunakan superkritikal karbondioksida juga telah banyak dilakukan. Hasil ekstraksi menggunakan metode ini sangat kecil dan



merusak struktur dari astaxanthin. Lopez *et al.*, (2004) membandingkan bahwa ekstraksi karotenoid menggunakan superkritikal karbondioksida menghasilkan rendemen 71% lebih kecil dibandingkan dengan cara manual.

Chakrabarti (2002) telah melakukan penelitian ekstraksi karotenoid menggunakan enzim protease dan rendemen yang dihasilkan sebesar 30 – 40 ppm. Penggunaan enzim protease berguna untuk memutus ikatan protein dengan karotenoid sehingga diperoleh karotenoid bebas. Penggunaan enzim dalam ekstraksi karotenoid tidak menghasilkan residu yang berbahaya bagi tubuh dan lingkungan

Saat ini udang beku diekspor tanpa menggunakan kepala dan kulit sehingga menghasilkan banyak limbah padat. Kepala dan kulit udang mengandung pigmen karotenoid yang berwarna merah keoranyean. Pigmen ini memiliki banyak fungsiantaranya sebagai antioksidan. Proses ekstraksi karotenoid dapat dilakukan dengan pelarut bahan kimia, super kritikal karbondioksida dan secara enzimatis.



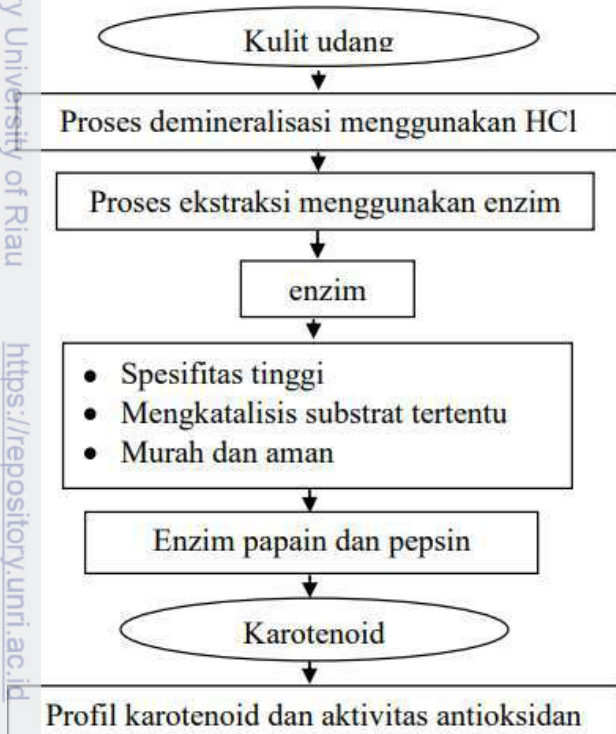
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber.
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.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

Proses ekstraksi menggunakan pelarut bahan kimia menghasilkan banyak limbah cair dan berbahaya bagi kesehatan. Ekstraksi karotenoid menggunakan metode superkritikal karbondioksida menghasilkan rendemen yang kecil. Ekstraksi karotenoid secara enzimatik lebih ramah lingkungan dan menghasilkan rendemen yang tinggi. Ekstraksi karotenoid dari limbah kepala udang dengan enzim dapat lebih ekonomis bila menggunakan enzim komersial yang berharga rendah, misalnya enzim papain dibandingkan menggunakan enzim murni, seperti enzim pepsin.

Enzim papain dan pepsin merupakan enzim protease yang memiliki spesifitas tinggi, hanya mengkatalisis substrat tertentu, tidak membentuk produk samping yang tidak diinginkan, mempunyai produktivitas yang tinggi sehingga dapat mengurangi biaya. Produk akhir pada umumnya tidak terkontaminasi sehingga mengurangi biaya purifikasi dan mengurangi efek kerusakan terhadap lingkungan. Kerangka pemikiran penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.



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



Gambar 2. Ekstraksi Astaxanthin.

B. Pigmen Karatenoid (Astaxanthin)

Karotenoid adalah pigmen alami yang disintesis oleh tanaman, alga, jamur, kapang dan bakteri. Karotenoid juga ditemukan dalam ikan (salmon, trout, sea beam, kakap merah, dan tuna), kulit, cangkang atau kerangka luar hewan air, seperti moluska (clam, oyster,



scallop) dan crustacea (lobster, kepiting, udang). Gimeno *et al.*, (2007) menyatakan pigmen ini tidak dapat disintesis sendiri oleh hewan-hewan tersebut tetapi diperoleh dari makanan, yaitu alga. Jenis pigmen karotenoid terdiri dari beberapa jenis, seperti likopen, karoten, xanthophil, zeaxanthin, dan astaxanthin.

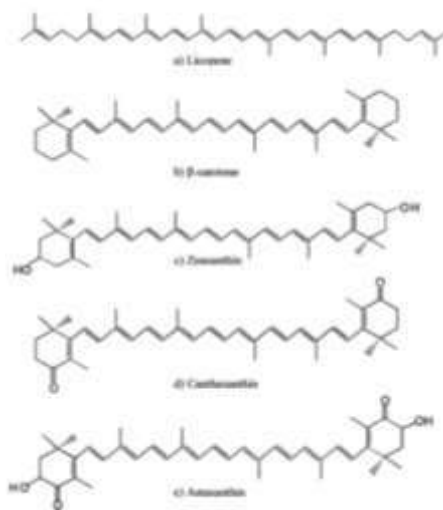
Hal ini disebabkan karotenoid dapat mengalami reaksi kimia yang menghasilkan turunannya dengan sifat kimia yang masih sama (Rodriguez-Amaya *et al.*, 2006). Struktur karotenoid merupakan turunan dari likopen yang masing-masing terdiri dari 40 atom C dengan dua cincin pada bagian ujungnya. Cincin yang terdapat pada karotenoid dihubungkan oleh atom C yang terkonjugasi atau sistem polien.

Dua pigmen karotenoid, yaitu α dan β -karoten hanya disusun oleh atom C dan H yang pada bagian ujungnya mengalami siklisasi. Xanthophil merupakan turunan karotenoid yang mengalami substitusi oksigen, zeaxanthin merupakan turunan karotenoid yang mengalami hidrogenasi dan mengandung gugus hidroksi. Gugus oksi terdapat dalam canthaxanthin, sedangkan



komposisi gugus hidroksi dan okso terdapat dalam astaxanthin. Ikatan ganda terkonjugasi pada karotenoid merupakan gugus kromofor yang memberikan warna.

Setiap ikatan rangkap pada rantai alifatiknya akan memberikan dua bentuk konfigurasi geometri, yaitu isomer *cis* dan *trans*. Isomer *cis* lebih stabil dibandingkan *trans*. Karotenoid yang terdapat dalam berbentuk *trans*. Karotenoid merupakan pigmen yang memberikan warna kuning, oranye atau merah pada ikan dan udang (Ciapara *et al.*, 2006). Struktur Pigmen karotenoid dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Jenis karotenoid (Ciapara *et al.* 2006).



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber.

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak mengizinkan kepentingan Universitas Riau.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

Hasil penelitian Babu *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa astaxanthin merupakan komposisi pigmen karotenoid terbesar dalam crustacea (lobster, kepiting, udang). Gugus hidroksil dan keton pada cincin dalam molekul astaxanthin mengindikasikan bahwa senyawa tersebut lebih polar dibandingkan karotenoid lainnya dan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi. Gugus hidroksi dapat bereaksi dengan satu atau dua asam lemak membentuk monoester dan diester. Bentuk teresterifikasi ini mengakibatkan astaxanthin bersifat hidrofobik (tidak larut dalam air), diester bersifat lebih hidrofobik dibandingkan dengan bentuk monoester. Astaxanthin dalam keadaan bebas bersifat tidak stabil dan mudah teroksidasi.

Astaxanthin stabil dalam bentuk terkonjugasi dengan protein atau membentuk ester dengan asam lemak seperti palmitat, oleat atau linoleat (Hussein *et al.*, 2006). Karotenoid memiliki sifat tidak larut dalam air, sedikit larut dalam minyak, larut dalam hidrokarbon alifatik dan aromatik serta larut dalam hidrokarbon teroklorinasi, seperti kloroform dan metilen klorida



(Simpson, 1982). Karotenoid sangat bermanfaat bagi kesehatan karena dapat mencegah oksidasi asam lemak tak jenuh (Khanafari, 2007). Karotenoid bermanfaat bagi kesehatan manusia, sebab karotenoid dapat mencegah aktivitas kanker paru-paru, kanker prostat, penyakit jantung dan katarak (Olson, 1999). Ciapara *et al.*, (2006) menyatakan bahwa karotenoid juga dapat mencegah infeksi bakteri, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mencegah peradangan dan sebagai pelindung kerusakan DNA akibat sinar UV.

Olson (1999) menyatakan beta karoten dapat mencegah beberapa aktivitas kanker, seperti kanker tenggorokan dengan konsumsi sebesar 15 mg selama 6 tahun, kanker usus dengan dosis sebesar 25 mg selama 5 tahun, kanker kulit dengan dosis 50 mg selama 5 tahun, dan kanker prostat dengan dosis 20 mg selama 5-8 tahun.

Astaxanthin dapat mencegah aktivitas kanker karena dapat menekan pertumbuhan kanker dan meningkatkan daya tahan tubuh untuk melawan antigen. Chew *et al.*, (1999) menyatakan bahwa 0,1 dan 0,4% astaxanthin dapat mencegah kanker payudara pada tikus.



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

Astaxanthin juga dapat mencegah penyakit jantung, sebab astaxanthin dapat mencegah oksidasi Low Density Lipoprotein (LDL) yang merupakan kolesterol jahat penyebab arteriosclerosis.

Astaxanthin dapat berfungsi sebagai antibakteri dari *Helicobacter pylori* penyebab kanker usus. Koloni *H. pylori* di lapisan mukosa usus dihambat karena adanya astaxanthin pada lapisan mukosa usus (Wadstron & Alejung, 2001). Astaxanthin memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat sitokin dan chemokin. Astaxanthin bisa mencegah kelelahan mata, katarak diabetik, mempertajam penglihatan. meningkatkan daya tahan otot, dan mencegah kerut (Hussein *et al.*, 2006).

C. Penentuan B-Karoten & Astaxanthin

Kadar beta karoten ditentukan dengan metode HPLC. Sampel dielusi dengan HPLC Shimadzu Liquid Chromatograph, kolom C18 15 cm x 4 mm, detector UV-VIS Photodiode Array, dengan fasa gerak metanol : asetonitril : tetrahidrofuran (75:20:5) pada kecepatan alir 1,2 mL/menit. Eluen dimonitor menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm.



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

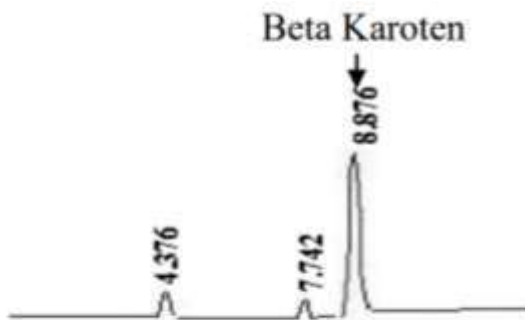
Kadar astaxanthin ditentukan dengan menggunakan metode HPLC. Sampel sebanyak 0,3 mL direaksikan dalam 5 mL aseton kemudian diinjeksikan dalam HPLC melalui kolom ODS (25 cm X 4,6 mm dengan ukuran partikel 5 μ m). Sampel dielusi menggunakan campuran metanol: diklorometan: asetonitril: air (67,5: 22,5: 9,5: 0,5) dengan daya alir 1 mL/mnt. Eluen dimonitor menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm.

Ekstraksi karotenoid dari kepala udang dilakukan dengan menggunakan enzim papain dan enzim pepsin, merupakan modifikasi dari metode Babu *et al.*, (2008). Beta karoten termasuk pigmen karotenoid yang memiliki gugus kromofor, berupa ikatan rangkap terkonjugasi. Gugus kromofor ini yang menyebabkan terbentuknya warna pada karotenoid, semakin banyak ikatan rangkap terkonjugasi semakin mengarah kewarna merah atau oranye. Analisis beta karotenoid menggunakan metode HPLC memiliki prinsip bahwa respon yang diberikan adalah berdasarkan kemampuan adsorben dalam kolom untuk memisahkan komponen dari senyawa yang



dianalisis, tentunya hal ini tergantung pada pelarut yang digunakan (Delia, 2004).

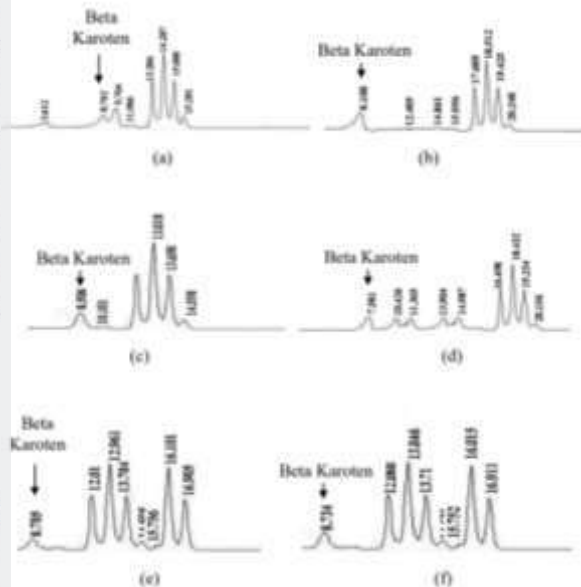
Identifikasi beta karoten menggunakan HPLC dengan kecepatannya yang tinggi dapat langsung digunakan dalam proses pemisahan serta penentuan kosentrasi (Bushway, 1986). Analisis beta karoten menggunakan HPLC menggunakan kolom C18 (15 cm x 4 mm) detektor UV-VIS Photodiode Array dengan menggunakan fasa gerak isokratikmetanol: asetonitril: tertahidrofuran (75:20:5) pada kecepatan alir 1,2 mL/menit pada suhu ruang dengan panjang gelombang 400 nm (Zhao *et al.*, 2004).



Gambar 4. Profil standar B-karoten



Gambar 4. menunjukkan bahwa profil beta karoten waktu retensi 8,876 menit, luas area 5905,26 dengan konsentrasi sebesar 100 ppm. Kromatogram dari standar beta karoten dijadikan acuan untuk mencari profil beta karoten dalam hasil ekstraksi. Analisis profil beta karoten dalam hasil ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Profil beta karoten untuk hasil ekstraksi menggunakan: (a) enzim pepsin 2%, (b) enzim pepsin 3%, (c) enzim pepsin 4%, (d) enzim papain 4%, (e) enzim papain 6% dan (f) enzim papain 8%



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

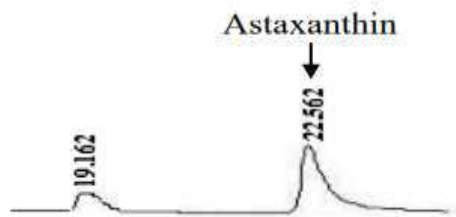
Hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam kepala udang mengandung beta karoten, hal ini ditunjukkan dalam hasil kromatogram. Kromatogram menunjukkan bahwa terdapat kemunculan puncak pada waktu retensi sekitar 8 menit yang sesuai dengan standar beta karoten. Ekstraksi menggunakan enzim pepsin 3% dan enzim papain 8% memiliki kandungan beta karoten yang sama yaitu sekitar 15,58 ppm.

Hasil analisis menunjukkan bahwa selain beta karoten dimungkinkan terdapat senyawa karotenoid lainnya. Pigmen karotenoid yang ada dalam kepala udang selain beta karoten adalah astaxanthin, alfa karoten, cantaxanthin, lutein, zeaxanthin dan crustacyanin. Pigmen-pigmen karotenoid hasil analisa HPLC muncul pada waktu retensi 1 hingga 40 menit (Babu *et al.*, 2008).

Kepala udang banyak mengandung pigmen karotenoid (Holanda dan Netto, 2006). Astaxanthin merupakan pigmen dominan dalam kulit udang yang merupakan golongan karotenoid (Firdaus, 2001).



Astaxanthin memiliki kemampuan untuk menghambat terjadinya oksidasi tujuh kali lebih baik dibandingkan dengan beta karoten (Naguib, 2000). Analisis kualitatif dan kuantitatif dilakukan dengan pengukuran konsentrasi astaxanthin menggunakan HPLC. Analisis astaxanthin menggunakan HPLC menggunakan kolom ODS (25 cm x 4,6 mm) detektor UV-VIS Photodiode Array dengan menggunakan fasa gerak isokratik metanol:diklorometan:asetonitril:air (67,5:22,5:9,5:0,5) pada kecepatan alir 1 mL/menit pada suhu ruang dengan panjang gelombang 450 nm (Lee et al. 2004). Adapun kromatogram standar astaxanthin dapat dilihat pada Gambar 6.

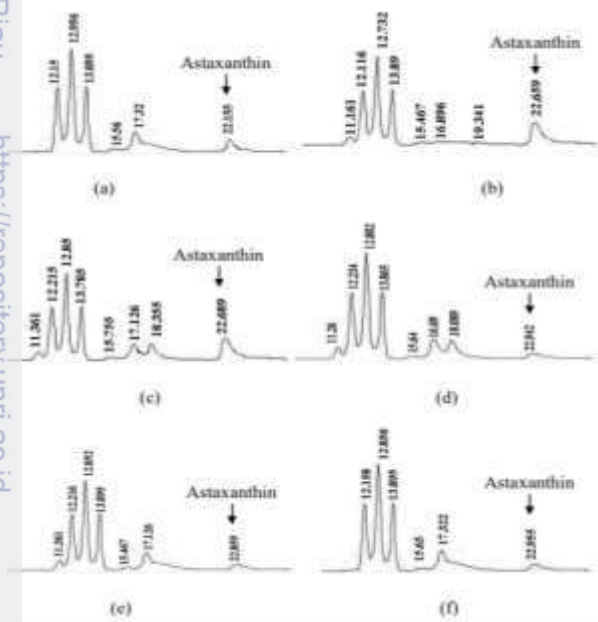


Gambar 6. Profil standar Astaxanthin

Gambar 6 menunjukkan bahwa profil astaxanthin waktu retensi 22.562 menit dengan konsentrasi sebesar



100 ppm. Kromatogram dari standar astaxanthin dijadikan acuan untuk mencari profil astaxanthin dalam hasil ekstraksi. Analisis profil astaxanthin dalam hasil ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Profil astaxanthin untuk hasil ekstraksi menggunakan: (a) enzim pepsin 2%, (b) enzim pepsin 3%, (c) enzim pepsin 4%, (d) enzim papain 4%, (e) enzim papain 6% dan (f) enzim papain 8%.



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

Hasil kromatogram menunjukkan bahwa ekstraksi karotenoid dari kepala udang menggunakan enzim pepsin 3% menghasilkan kandungan astaxanthin yang tinggi yaitu sekitar 13,65 ppm sedangkan ekstraksi menggunakan enzim papain 4% menghasilkan kandungan astaxanthin yang tinggi yaitu sekitar 11,62 ppm.

Hasil penelitian Babu *et al.*, (2008) menyatakan bahwa terdapat beberapa kandungan senyawa karotenoid lain dalam hasil ekstraksi dari kepala udang antara lain seperti beta karoten, alfa karoten, cantaxanthin, lutein, zeaxanthin dan crustacyanin. Senyawa-senyawa ini merupakan golongan karotenoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Senyawa pigmen karotenoid lain tersebut memiliki jumlah yang relatif kecil yaitu sekitar 1-9% recovery. Kandungan pigmen karotenoid dalam kepala udang dipengaruhi oleh makanan udang, karena pigmen ini tidak dapat disintesis sendiri akan tetapi diperoleh melalui makanan.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menjadi donor elektron atau reduktan. Antioksidan dapat



mencegah reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007).

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode DPPH. Kemampuan hasil ekstraksi dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi adalah 4,05-32,87%. Ekstraksi menggunakan enzim pepsin memiliki kemampuan untuk menghambat terjadinya oksidasi lebih baik dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan enzim papain, hal ini dimungkinkan pigmen karotenoid dan senyawa fenol yang terekstraksi menggunakan enzim pepsin lebih banyak dibandingkan dengan yang menggunakan enzim papain.

Pigmen karotenoid memiliki komponen kimia yang aktif menetralkan radikal bebas, yaitu ikatan rangkap pada karotenoid. Ikatan rangkap ini akan bereaksi melalui mekanisme pemecahan rantai radikal bebas. Kemampuan hasil ekstraksi untuk menghambat terjadinya antioksidan memiliki korelasi yang positif dengan total fenol dalam sampel. Hasil pengukuran total



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber.

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

fenol menyatakan bahwa ekstraksi menggunakan enzim papain 8% dan enzim pepsin 3% memiliki kandungan fenol tertinggi, sehingga sampel hasil ekstraksi ini memiliki kemampuan untuk menghambat terjadinya oksidasi lebih besar dibandingkan dengan sampel lainnya.

Sahidi dan Wanasundara (1992) menyatakan bahwa senyawa fenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena senyawa ini dapat menyumbangkan hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas. Senyawa-senyawa fenol ini merupakan senyawa aktif dari bahan alam yang dapat dijumpai atau diperoleh dari makanan.

Kemampuan hasil ekstraksi dalam menghambat oksidasi tidak hanya tergantung dari jumlah kandungan beta karoten dan astaxanthin, tetapi juga dipengaruhi oleh pigmen karotenoid lainnya, seperti crustacyanin, alfa karoten, lutein, canthaxanthin yang terdapat dalam hasil ekstraksi karotenoid dari kepala udang.

Hasil penelitian Babu *et al.*, (2008) menyatakan bahwa dalam hasil ekstraksi karotenoid dari kepala udang mengandung beberapa pigmen lainnya selain



astaxanthin dan beta karoten diantaranya adalah alfa karoten, crustacyanin, canthaxanthin, lutein dan zeaxanthin. Pigmen-pigmen ini teridentifikasi melalui analisis menggunakan HPLC dengan waktu retensi dan panjang gelombang yang berbeda.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

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