

**BIOKONVERSI ASAM LEMAK BEBAS TERHIDROLISIS
DARI MINYAK KEDELAI MENJADI BIODIESEL
MENGUNAKAN *Lactobacillus plantarum* DAN *Acetobacter
aceti***

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
mencapai gelar Sarjana Sains S.Si., Program Studi Kimia pada
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta**



Diajukan oleh:

ADWI HANTONI

No. Mahasiswa: 16612138

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2021**

**BIOKONVERSI ASAM LEMAK BEBAS TERHIDROLISIS
DARI MINYAK KEDELAI MENJADI BIODIESEL
MENGUNAKAN *Lactobacillus plantarum* DAN *Acetobacter
aceti***

SKRIPSI

yang diajukan oleh :

ADWI HANTONI

No. Mahasiswa: 16612138

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Pengujian Skripsi Prodi Kimia Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Yogyakarta, 12 Maret 2021

Dewan Penguji

Dr. Tatang Shabur Julianto, M.Si.

Dr. Habibi Hidayat, S.Pd., M.Si.

Ika Yanti, S.Si., M.Sc.

Tanda Tangan



Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto, S. Pd., M.Si., Ph.D.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Adwi Hantoni

NIM : 16612138

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi Saya dengan judul Biokonversi Asam Lemak Terhidrolisis Dari Minyak Kedelai Menjadi Biodiesel Menggunakan *Lactobacillus plantarum* Dan *Acetobakter aceti* bersifat asli dan tidak berisi material yang telah diterbitkan sebelumnya kecuali referensi yang disebutkan didalam skripsi ini. Apabila terjadi kontribusi dari penulis lain, maka penulis tersebut secara eksplisit telah disebutkan didalam skripsi ini. Apabila di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku. Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan penuh tanggung jawab.

Yogyakarta, 12 Maret 2021

Yang menyatakan,



(Adwi Hantoni)

NIM. 16612138

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr.wb.

Alhamdulillah hirobbil'alamin penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir/Proposal Skripsi yang berjudul **“BIOKONVERSI ASAM LEMAK TERHIDROLISIS DARI MINYAK KELAPA MENJADI BIODIESEL MENGGUNAKAN *Lactobacillus plantarum* DAN *Acetobacter aceti*”**. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada Akhiirul anbiyaa' Nabiyallah Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan seluruh pengikutnya hingga akhir zaman.

Tugas akhir/ Proposal Skripsi adalah salah satu mata kuliah wajib bagi mahasiswa semester VII Program Studi S-1 untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains (S.Si). tujuan dari penelitian ini adalah Untuk mengetahui potensi metode elektrokimia (elektrosintesis/elektroreduksi) untuk mengkonversi komponen minyak nabati trigliserida menjadi suatu senyawa alkana dan Untuk mengetahui kondisi reaksi yang sesuai (jenis elektroda, jenis elektrolit, potensial listrik, dan waktu reaksi) untuk dapat mengkonversi komponen minyak nabati trigliserida menjadi senyawa alkana secara elektrokimia dengan nilai % konversi dan kemurnian tinggi.

Dalam penyusunan laporan ini penulis banyak dibimbing dan didukung oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengungkapkan rasa terimakasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa selalu melimpahkan rahmat serta karunia_Nya.
2. Amak dan ayah tercinta yang tiada hentinya memberikan dukungan dan nasihat serta mengirimkan doa disetiap waktunya.
3. Prof. Fathul Wahid, S.T., M.Sc., Ph.D. Selaku Rektor Universitas Islam Indonesia.
4. Prof. Riyanto, M.Sc., Ph.D. Selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

5. Dr. Dwiwarso Rubiyanto, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
6. Dr. Tatang Shabur Julianto., M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan berbagai macam masukan juga telah banyak meluangkan waktu dan juga masukan dalam melakukan penelitian hingga skripsi ini.
7. Keluarga besar penulis yang setia untuk menyemangati dan selalu *support* penulis.
8. Teman-teman JB fams yang setia menemani belajar dan juga yang sudah banyak membantu penulis hingga terselesaikan skripsi ini.
9. Teman seperjuangan Helmi, Afrida, yang selalu memberi *support*, motivasi dan dukungan yang hebat hingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.
10. Seluruh teman-teman seangkatan, terutama kelas C angkatan 16 yang selalu mengisi hari demi hari menjadi sangat menyenangkan.
11. Seluruh Bapak/Ibuk dosen jurusan KIMIA yang telah memberikan pengetahuan yang sangat bermanfaat selama masa perkuliahan.
12. Seluruh staf dan karyawan Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan bantuan kepada penulis.
13. Semua pihak yang sudah membantu dan memberikan informasi baik secara langsung maupun secara tidak langsung dalam pembuatan proposal tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kesalahan yang dilakukan dalam penyusunan laporan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang bermanfaat untuk perbaikan laporan ini. Semoga laporan kerja praktik lapangan ini dapat bermanfaat bagi kami semua.

Wassalamu 'allaikum wr.wb

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
INTISARI	x
ABSTRACT	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
BAB III. DASAR TEORI	7
3.1 Minyak Kedelai	7
3.2 Biokonversi/Biotransformasi.....	8
3.3 Hidrolisis	8
3.4 Biodiesel Fatty Acid Methyl Ester (FAME)	9
3.5 <i>Lactobacillus plantarum</i>	9
3.6 <i>Acetobacter aceti</i>	10
3.7 Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS)	11
3.8 Spektrofotometer uv-vis	12

BAB VI. METODOLOGI PENELITIAN	15
4.1.1 Alat	15
4.2 Cara Kerja.....	15
4.2.1 Hidrolisis Minyak Kedelai.....	15
4.2.2 Penentuan bilangan asam lemak bebas hasil hidrolisis.....	15
4.2.3 Pembuatan Medium Pertumbuhan dan Proses Inokulasi.....	16
4.2.4 Perhitungan Mikroba Menggunakan Metode McFarland	16
4.2.5 Proses Fermentasi	17
4.2.6 Ekstraksi Hasil Fermentasi	17
BAB V. PEMBAHASAN	18
5.1 Hidrolisis Minyak Kedelai dan Penentuan Bilangan Asam	18
5.2 Perhitungan Mikroba dengan Metode McFarland.....	19
5.3 Proses Fermentasi	21
5.4 Karakterisasi GC-MS Hasil Fermentasi Pada Variasi Waktu 24 jam	22
5.4 Karakterisasi GC-MS Hasil Fermentasi Pada Variasi Waktu 48 jam	23
5.5 Karakterisasi GC-MS Hasil Fermentasi Pada Variasi Waktu 72 jam	25
5.6 Mekanisme Pembentukan FAME Oleh Mikroba <i>Lactobacillus Plantarum</i> dan <i>Acetobacter aceti</i>	26
BAB VI. PENUTUP	29
6.1 Kesimpulan.....	29
6.2 Saran.....	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN 1. Perhitungan	35
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	38

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi minyak kedelai secara umum	7
Tabel 2. Standar McFarland CFU (x10 ⁶ /mL), Absorbansi Standar mcFarland dan Absorbansi Sampel Mikroba (<i>L. plantarum</i> dan <i>A. aceti</i>).....	20
Tabel 3. Hasil GC-MS terhadap produk biokonversi asam lemak bebas terhidrolisis oleh mikroba <i>L. plantarum</i> dan <i>A.aceti</i> dengan variasi waktu 24 jam	22
Tabel 4. Hasil GC-MS terhadap produk biokonversi asam lemak bebas terhidrolisis oleh mikroba <i>L. plantarum</i> dan <i>A.aceti</i> dengan variasi waktu 48 jam	24
Tabel 5. Hasil GC-MS terhadap produk biokonversi asam lemak bebas terhidrolisis oleh mikroba <i>L. plantarum</i> dan <i>A.aceti</i> dengan variasi waktu 72 jam	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Lactobacillus Plantarum</i>	10
Gambar 2. Prinsip Instrumen GC-MS	12
Gambar 3. Prinsip Instrumen Spectrofotometer uv-vis	13
Gambar 4. Reaksi hidrolisis minyak kedelai menjadi asam lemak.....	18
Gambar 5. Kurva Kalibrasi Hasil Analisis Spektrofotometer uv-vis Standar McFarland	20
Gambar 6. Kromatogram hasil analisis GC-MS produk fermentasi variasi waktu 24 jam.....	22
Gambar 7. Kromatogram hasil analisis GC-MS produk fermentasi variasi waktu 48 jam.....	24
Gambar 8. Kromatogram hasil analisis GC-MS produk fermentasi variasi waktu 72 jam.....	25
Gambar 9. Reaksi Pembentukan Asam Lemak Metil Ester dari Asam Lemak Oleh mikroba <i>L. plantarum</i> dan <i>A. aceti</i>	27

**BIOKONVERSI ASAM LEMAK BEBAS TERHIDROLISIS
DARI MINYAK KEDELAI MENJADI BIODIESEL
MENGUNAKAN *Lactobacillus plantarum* DAN *Acetobacter
aceti***

ADWI HANTONI

No Mhs : 16612138

INTISARI

Dewasa ini, *green process* sedang dikembangkan mengingat prosesnya yang tidak menghasilkan limbah berbahaya, ramah lingkungan, dan tidak memerlukan energi tinggi. Penelitian mengarah pada penggunaan biokonversi/bioteknologi yang biasanya didasarkan pada proses fermentasi mikroba, menjadikannya sebagai alternatif yang berpotensi dan layak. Metode fermentasi mikroba memiliki potensi yang besar dalam mengkonversi asam lemak bebas terhidrolisis menjadi biodiesel secara enzimatik menggunakan mikroba *Lactobacillus plantarum* dan *Acetobacter aceti* dengan produk FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*). Senyawa FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*) didapatkan melalui proses fermentasi oleh mikroba *Lactobacillus plantarum* dan *Acetobacter aceti* pada variasi waktu fermentasi 24 jam, 48 jam, 72 jam dengan total % konversi masing-masing sebesar 85,87%, 41,88%, dan 93,25%.

Kata kunci: Fatty Acid Methyl Ester (FAME), Biodiesel, Lactobacillus plantarum, Acetobacter aceti.

**BIOCONVERSION OF HYDROLYZED FREE FATTY ACIDS FROM
SOYBEAN OIL TO BIODIESEL USING *Lactobacillus plantarum* AND**

Acetobacter aceti

ADWI HANTONI

No Mhs : 16612138

Abstract

Currently, the green process is being developed considering the process that doesn't produce hazardous waste, it's environmental friendly, and doesn't require high energy. The research has led to the use bioconversion/ biotechnology which are usually based on microbial fermentation process, making them a potential and viable alternative. Microbial fermentation method has a great potential in converting hydrolyzed free fatty acids into biodiesel using enzymatic system of *Lactobacillus plantarum* and *Acetobacter aceti* bacteria with FAME (Fatty Acid Methyl Ester) as the products. The compound FAME (Fatty Acid Methyl Ester) was obtained through a fermentation process by the microbes *Lactobacillus plantarum* and *Acetobacter aceti* at the variation of fermentation time that is 24 hours, 48 hours, 72 hours with the conversion total is 85.87%, 41.88%, and respectively. 93.25%.

Keywords: Fatty Acid Methyl Ester (FAME), Biodiesel, Lactobacillus plantarum, Acetobacter aceti.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Dunia saat ini dicemaskan oleh semakin memburuknya kualitas lingkungan yang disebabkan pencemaran lingkungan salah satunya adalah pertambangan minyak bumi. Hal ini terjadi karena penambangan minyak bumi memerlukan lahan yang luas mengakibatkan penggundulan hutan dan setiap tanah yang ada digunakan untuk olahan minyak bumi tidak akan bisa lagi digunakan untuk lahan hutan atau pertanian. Gas alam dari minyak bumi merupakan bahan baku dalam pembuatan metanol dimana metanol ini merupakan salah satu bahan dasar dari biodiesel. Produksi biodiesel secara kimia memiliki kelebihan yaitu penggunaan teknologi yang murah dan proses produksi yang relatif cepat. Akan tetapi, dalam proses produksinya, produk yang disintesis secara kimia memerlukan banyak tahapan dan tidak dipungkiri dalam hasilnya menghasilkan produk samping berupa limbah yang tidak diinginkan yang dapat membahayakan lingkungan.

Dewasa ini, *green process* sedang dikembangkan mengingat prosesnya yang tidak menghasilkan limbah berbahaya, ramah lingkungan, dan tidak memerlukan energi tinggi. Hal ini bertujuan agar lingkungan dan kelangsungan makhluk hidup tetap terjaga. *Green production process*, merupakan suatu cara memproduksi dengan teknologi yang membatasi polusi atau memiliki manfaat terhadap lingkungan (Prakash, 2002). *Green process* mengacu pada langkah-langkah untuk menghilangkan beban lingkungan sedemikian rupa meliputi input sumber daya, penggunaan zat kimia, dan konsumsi energi untuk digunakan seminimal mungkin dari semua proses yang terlibat dalam pembuatan produk. Salah satu langkah tersebut adalah dengan biokonversi.

Berdasarkan hal tersebut penelitian mulai mengarah pada penggunaan biokonversi yang biasanya didasarkan pada proses fermentasi mikroba, menjadikannya sebagai alternatif yang berpotensi dan layak. Biokonversi adalah sebuah proses yang mampu mengubah bahan organik menjadi produk lain yang berguna dan memiliki nilai tambah dengan

memanfaatkan proses biologis dari mikroorganisme dan enzim (Hardjo et al., 1989). Metode ini dianggap sangat berpotensi karena tidak menggunakan zat kimia berbahaya, tidak membutuhkan energi tinggi, dan tidak menghasilkan produk samping atau residu yang berbahaya bagi lingkungan.

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah asam lemak bebas dari minyak kedelai. Pemilihan bahan ini didasarkan pada kegunaannya yang beragam dan sumber daya yang mudah diperoleh serta memiliki jalur paling mudah dalam produksi biodiesel. Biodiesel dapat diperoleh dari proses esterifikasi menggunakan alkohol (contoh: metanol, etanol, dll) dengan bantuan katalis asam sehingga menjadi alkil-ester (Zahriyah, 2009). Namun, proses atau produk tersebut masih menggunakan metode konvensional yang membutuhkan energi tinggi serta membutuhkan biaya produksi yang besar. Oleh karena itu, alternatif yang mungkin untuk biodiesel berbasis minyak nabati adalah produksi biodiesel langsung secara biosintetik dalam mikroorganisme (Sherkhanov et al., 2016).

Produksi biodiesel dengan cara fermentasi mikroba dapat dibedakan menjadi dua pendekatan yang berbeda yaitu produksi biodiesel tidak langsung dari mikroba *oleaginous* dengan transesterifikasi (*in vitro*), dan produksi biodiesel langsung dari metabolisme mikroba (*in vivo*) (Shi et al., 2011). Cara produksi biodiesel secara tidak langsung dari mikroba atau *in vitro* ini dilakukan dengan mengekstraksi mikroba spesies *oleaginous* sebagai sumber lemak yang kemudian dilakukan transesterifikasi menggunakan metanol dan bantuan katalis asam atau basa (Kuan et al., 2018). Mikroba dianggap spesies *oleagenus* jika ia memiliki kemampuan mengakumulasi lebih dari 20% b/b lemak pada basis berat kering sel (Patel et al., 2020). Sedangkan untuk produksi biodiesel secara langsung dihasilkan dari metabolisme mikroba dalam penelitian ini *C. Antarctica* dimana lipase yang terimobilisasi mengubah 95-98% trigiliserida menjadi *Fatty Acid methyl Ester* (FAME) dengan penambahan metanol secara bertahap (Hou & Shimada, 2009). Akan tetapi, penggunaan bahan baku metanol sebagai alkohol yang dibutuhkan dalam produksi biodiesel terutama jenis FAME merupakan hambatan utama untuk

penggunaan biodiesel yang lebih luas karena metanol dihasilkan dari turunan bahan bakar fosil yang bersifat *unrenewable* (sumber tidak terbarukan). Karena adanya alkohol berupa metanol dari bahan fosil tersebut mengakibatkan produk FAME dianggap 80% *renewable* sedangkan 20% *unrenewable* (Toscano & Duca, 2009). FAME sangat penting bagi lingkungan dan ekonomi karena digunakan sebagai bahan bakar alternatif baik dalam bentuk murni atau dicampur dengan proporsi yang bervariasi (Ginn *et al.* 2009).

Baru-baru ini, produksi FAME tanpa penggunaan metanol mulai digagas oleh peneliti. Namun, penelitian dan kajian mengenai jalur produksi dan mikroba yang digunakan dalam produksi FAME secara *in situ* ini masih sangat terbatas. Penelitian sebelumnya, *Escherichia coli* telah direkayasa untuk menghasilkan FAME secara *in situ* menggunakan asam lemak *O-methyltransferase* (FAMT) dari *Mycobacterium marinum* atau homolog serupa dengan menggunakan S-adenosylmethionine (SAM) sebagai pendonor metil. Dalam studi ini, suplai SAM ditingkatkan dengan penghapusan metJ yaitu pengatur protein yang menghambat enzim yang terlibat dalam sintesis SAM. Tetapi hasil FAME sangat rendah, karena kurangnya aktivitas thioesterase untuk memproduksi asam 3-hidroksidekanoat, substrat yang disukai FAMT dari *M. marinum* (Lennen & Pflieger, 2013). Jauh lebih sederhana lagi, jalur untuk mendapatkan biodiesel (FAME) adalah dengan metilasi langsung *S-adenosyl-L-methionine* (SAM) yang bergantung pada asam lemak bebas yang dihasilkan mikroba, tetapi produksi FAME dengan rute ini terbatas hanya ~ 16 mg/L (Sherkhanov *et al.*, 2016). Selain itu, produksi biodiesel yang dihasilkan memerlukan jalur yang rumit karena perlunya rekayasa genetika dan produk biodiesel yang dihasilkan masih sangat sedikit karena masih mengandalkan asam lemak yang dihasilkan dari tubuh mikroba itu sendiri. Oleh karena itu, perlu dilakukan biokonversi tanpa menggunakan reagen metanol sehingga mengatasi masalah FAME yang dianggap 80% *renewable* menjadi 100% *renewable* dengan jalur yang lebih sederhana tanpa rekayasa genetik dan menghasilkan produk biodiesel yang lebih banyak.

Pada penelitian ini telah dilakukan proses biokonversi asam lemak terhidrolisis dari minyak kedelai menjadi biodiesel (FAME) dengan enzimatis mikroba menggunakan *Lactobacillus plantarum* dan *Acetobacter aceti*. Penggunaan dua mikroba ini bertujuan untuk meningkatkan hasil FAME yang dihasilkan karena berdasarkan penelitian sebelumnya produk SAM pada *Lactobacillus plantarum* hanya 1,47mM. Proses fermentasi dilakukan dengan tiga variasi waktu fermentasi yang berbeda, yaitu: 24 jam, 48 jam, dan 72 jam.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dirumuskan suatu rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana potensi metode fermentasi dalam mengkonversi asam lemak bebas terhidrolisis menjadi biodiesel secara enzimatis mikroba menggunakan mikroba *Lactobacillus plantarum* dan *Acetobacter aceti* ?
2. Bagaimana pengaruh waktu proses fermentasi ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan masalah tersebut, dilakukan penelitian yang bertujuan untuk:

1. Untuk mengetahui potensi metode fermentasi mikroba dalam mengkonversi asam lemak bebas terhidrolisis menjadi biodiesel.
2. Untuk mengetahui kondisi optimal waktu fermentasi untuk dapat mengkonversi asam lemak bebas terhidrolisis menjadi biodiesel.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui dan membuka jalan baru untuk pengembangan pembuatan produk biodiesel dengan jalur bioteknologi untuk mendapatkan hasil dalam jumlah yang banyak dengan bahan pembuatan yang lebih murah serta ramah lingkungan sehingga membuka peluang untuk diterapkan pada skala industri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Produksi biodiesel dengan cara fermentasi mikroba dapat dibedakan menjadi dua pendekatan yang berbeda yaitu produksi biodiesel tidak langsung dari mikroba *oleaginous* dengan transesterifikasi (*in vitro*), dan produksi biodiesel langsung dari metabolisme mikroba (*in vivo*) (Shi et al., 2011). Biodiesel (FAME) yang berasal dari mikroba *oleaginous* (mikroalga, ragi, dan bakteri) secara aktif sedang dikejar sebagai pengganti potensial terbarukan untuk solar minyak bumi (Wahlen et al., 2013). Penelitian yang dilakukan Kuan, transesterifikasi langsung 1 g biomassa *R. glutinis* kering dalam 20 mL metanol yang dikatalisis oleh 0,6 M H₂SO₄ pada 70 °C selama 20 jam, rendemen asam lemak methyl ester (FAME) mencapai 111%. Menggunakan jumlah biomassa dan metanol yang sama tetapi dikatalisis oleh 1 g/L NaOH pada 70 °C selama 10 jam, hasil FAME mencapai 102%. Dibandingkan dengan transesterifikasi konvensional, yang memerlukan pra-ekstraksi lemak, transesterifikasi langsung tidak hanya menyederhanakan proses dan mempersingkat waktu reaksi, tetapi juga meningkatkan hasil FAME (Kuan et al., 2018).

Escherichia coli juga telah direkayasa untuk menghasilkan FAME secara *in situ* menggunakan asam lemak *O-methyltransferase* (FAMT) dari *Mycobacterium marinum* atau homolog serupa. Enzim yang diuji paling banyak aktif pada C₈-C₁₂ jenuh dan FFA 3-terhidroksi dan menggunakan S-adenosylmethionine (SAM) sebagai pendonor metil. Dalam studi ini, suplai SAM ditingkatkan dengan penghapusan metJ yaitu pengatur protein yang menghambat enzim yang terlibat dalam sintesis SAM. Tetapi hasil FAME sangat rendah, karena kurangnya aktivitas thioesterase untuk memproduksi asam 3-hidroksidekanoat, substrat yang disukai FAMT dari *M. marinum*. FAME mencapai hasil lebih tinggi kemungkinan akan membutuhkan kombinasi rekayasa protein (meningkatkan thioesterase dan aktivitas FAMT melawan berbagai asam lemak) dan proses metabolisme (mengoptimalkan daur ulang SAM) (Lennen & Pflieger, 2013).

Sampai saat ini, jalur paling efektif untuk produksi biodiesel dalam bakteri menghasilkan asam lemak etil ester (FAEEs) hingga ~1,5 g/L. Jauh lebih sederhana jalur ke biodiesel menghasilkan FAME dengan metilasi langsung bergantung *S-adenosyl-L-methionine* (SAM) dan asam lemak pada mikroba, tetapi produksi FAME dengan rute ini hanya ~16 mg/L. Sherkhanov memberikan sebuah alternatif yaitu dengan cara memperluas spektrum methyltransferase, *Drosophila melanogaster* Juvenile Hormone Acid *O-Methyltransferase* (DmJHAMT). Dengan memperkenalkan DmJHAMT dalam *E. coli* yang direkayasa untuk menghasilkan rantai sedang asam lemak dan memproduksi SAM berlebih, diperoleh FAME rantai menengah pada titer 0,56 g/L, 35 kali lipat meningkat melebihi titer yang dicapai sebelumnya. Sherkhanov menyadari bahwa perlu perbaikan yang cukup besar dibutuhkan agar dapat bertahan produksi bakteri FAME dan FAEE untuk biofuel, menurutnya mungkin lebih mudah untuk mengoptimalkan dan menggunakan jalur produksi FAME ke mikroorganisme lain karena melibatkan lebih sedikit enzim (Sherkhanov et al., 2016).

S-Adenosylmethionine (AdoMet) di *Lactobacillus plantarum* ditemukan meningkat bersamaan dengan produksi asam lemak siklopropana membran di bawah normal kondisi pertumbuhan. Aktivitas sintetase AdoMet sebagian besar tidak dipengaruhi oleh variasi pH kultur medium (Smith & Norton, 1980). Bakteri asam laktat (BAL) dapat menghasilkan SAM konsentrasi tinggi, BAL diisolasi dari kimchi komersial dan dari produk kimchi olahan yang mengandung jeotgal udang (makanan laut asin yang difermentasi) atau jeotgal tombak pasir yang difermentasi masing-masing pada suhu 5 atau 10 °C. *Lactobacillus* menghasilkan SAM hingga 1,47 mM dalam kultur strain (Myung-ki lee, 2008).

BAB III DASAR TEORI

3.1 Minyak Kedelai

Kedelai (*Glycine max L*) merupakan tanaman tahunan yang termasuk dalam famili Fabaceae. Ini didistribusikan secara luas di Asia Timur, Australia, dan Afrika, dan didomestikasi lebih dari 3000 tahun yang lalu. Sekarang tanaman ini merupakan tanaman kacang-kacangan terpenting di dunia ke-6 dari semua tanaman budidaya dalam hal panen. Kedelai paling banyak diproduksi untuk minyaknya, dan ditanam di berbagai iklim di seluruh dunia. Kedelai adalah salah satu kacang terpenting di dunia, menyediakan protein nabati bagi jutaan manusia dan bahan untuk ribuan produk kimia. Kedelai dianggap sebagai salah satu sumber protei terkaya dan murah (Badole et al., 2015).

Kandungan minyak kedelai berupa lemak kasar yang terdiri dari trigliserida sebesar 90-95% dan sisanya berupa fosfatida, asam lemak bebas, sterol dan tokofenol. Fosfatida yang terkandung dalam kedelai sekitar 2% yang terdiri dari lesithin dan sephalin. Komposisi minyak kedelai secara umum sesuai dengan (**Tabel 1**) sebagai berikut (Ketaren, 2005) :

Tabel 1. Komposisi minyak kedelai secara umum

Asam lemak tidak jenuh	Kadar (%)
Asam linolenat	15-64
Asam oleat	11-60
Asam linoleat	1-12
Asam arachidonat	1,5
Asam lemak jenuh	
Asam palmitat	7-10
Asam stearat	2-5
Asam arachidat	0,2-1
Asam laurat	0-0,1
Fosfolipida	Jumlah sangat kecil
Lecithin	Jumlah sangat kecil

3.2 Biokonversi

Biokonversi adalah sebuah proses yang mampu mengubah bahan organik menjadi produk lain yang berguna dan memiliki nilai tambah dengan memanfaatkan proses biologis dari mikroorganisme dan enzim (Hardjo et al., 1989). Metode/proses ini dianggap sangat berpotensi karena tidak menggunakan zat kimia berbahaya, tidak membutuhkan energi tinggi, dan tidak menghasilkan produk samping atau residu yang berbahaya bagi lingkungan. Penggunaan biokonversi/bioteknologi biasanya didasarkan pada proses fermentasi mikroba tanpa menggunakan bahan kimia berbahaya.

Biotransformasi menggunakan enzim bebas sebagai biokatalis sekarang menjadi metodologi sintetik yang sepenuhnya diterima dan divalidasi untuk menyiapkan senyawa homochiral yang digunakan dalam industri farmasi, bahan tambahan makanan, atau agrokimia (Carballeira et al., 2009). Senyawa kiral yang akan digunakan sebagai bahan kimia pertanian, farmasi, wewangian, dan sebagai bahan tambahan makanan dapat dengan mudah disintesis dengan biotransformasi, biasanya dalam kondisi ringan jika dibandingkan dengan sintesis kimia. Resolusi kinetik zat rasemat menjadi proses yang umum dan sukses. Penerapan biotransformasi dalam proses industri menjelaskan lebih lanjut keberhasilan penggunaan enzim dan sel mikroba untuk produksi senyawa yang menarik secara komersial (de Carvalho & da Fonseca, 2011).

3.3 Hidrolisis

Hidrolisis adalah proses antara reaktan dengan air agar suatu senyawa pecah atau terurai. Hidrolisis melibatkan reaksi bahan kimia organik dengan air untuk membentuk dua atau lebih banyak zat baru dan biasanya diartikan dengan pemutusan ikatan kimia oleh penambahan air. Hidrolisis bisa menjadi kebalikan dari kondensasi reaksi di mana dua molekul bergabung bersama menjadi lebih besar dengan menghilangkan molekul air. Jadi hidrolisis menambahkan air untuk memecah, sedangkan kondensasi menumpuk dengan menghilangkan air (J. G. Speight, 2017).

Reaksi hidrolisis adalah pemutusan ikatan kimia dengan penambahan air atau basa yang memasok ion hidroksil (ikatan tunggal OH^-). Sebuah ikatan kimia terputus, dan dua ikatan baru terbentuk, masing-masing memiliki komponen hidrogen (H^+) atau komponen hidroksil (OH^-) dari molekul air (J. Speight, 2018).

3.4 Biodiesel *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME)

Biodiesel merupakan bahan bakar transportasi cair terbarukan yang dapat menjadi bahan bakar untuk menggantikan bahan bakar diesel yang diturunkan dari minyak bumi tanpa modifikasi signifikan pada mesin yang ada. Biodiesel terdiri dari alkil ester dari asam lemak dan biasanya diproduksi dari trigliserida (misalnya, minyak kedelai) dan alkohol (misalnya, metanol) dengan adanya basa atau asam sebagai katalisator (Wahlen et al., 2013).

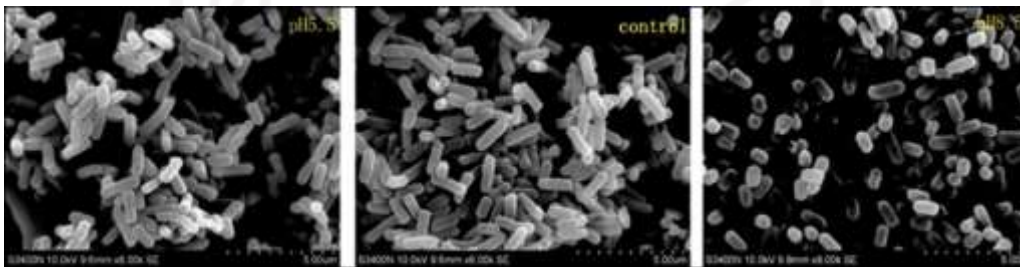
Dalam proses yang paling umum, FAME diproduksi melalui transesterifikasi bahan baku melalui reaksi dengan metanol dengan adanya katalis. Campuran yang dihasilkan mengandung FAME dan gliserin (gliserol) dan terakhir dipisahkan dari FAME sebelum digunakan. FAME dapat bersumber dari berbagai macam bahan baku termasuk minyak nabati (rapeseed, kedelai, sawit, bunga matahari dan jagung), lemak hewani (lemak, lemak babi, dan unggas dan minyak ikan) dan minyak dan lemak sisa (minyak goreng bekas) (Ginn et al., 2009).

FAME memiliki struktur molekul umum $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOCH}_3$ (jenuh) dan $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n(\text{CH})_x\text{COOCH}_3$ (tidak jenuh) dan contoh FAME yang dihasilkan dari minyak nabati utama yang digunakan untuk produksi biodiesel yaitu asam palmitat metil ester, asam stearat metil ester, asam oleat metil ester, asam linoleat metil ester, dll (Thomas et al., 2017).

3.5 *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum adalah anggota genus *Lactobacillus* yang tersebar luas, umumnya ditemukan pada daging dan makanan olahan, pada banyak produk makanan fermentasi serta bahan tanaman anaerobik. *L. plantarum* memiliki salah satu genom terbesar yang dikenal BAL dan merupakan spesies yang sangat fleksibel dan serbaguna. Ini adalah bakteri

Gram-positif aerotolerant yang tumbuh pada suhu 15 ° C dan dengan konsentrasi NaCl 4%, tetapi tidak pada suhu 45 ° C, dan menghasilkan kedua isomer asam laktat (D dan L). *L. plantarum* umumnya ditemukan di banyak produk makanan fermentasi termasuk sauerkraut, acar, zaitun asin, kimchi Korea, Ogi Nigeria, dan bahan tanaman fermentasi lainnya, beberapa keju, sosis fermentasi, dan ikan kaldu (Lorenzo et al., 2018). Spesies BAL ini sangat serbaguna dan mampu bertahan di berbagai ekosistem. Di antara sistem bakteriosin berbeda yang dijelaskan dalam spesies *L. plantarum* (Ruiz-Larrea, 2011).



Sumber : Wang et al., 2018

Gambar 1. *Lactobacillus Plantarum*

Adaptasi ekologis yang luar biasa dari *L. plantarum* ke lingkup ekologi yang berbeda mencerminkan kemampuannya untuk memanfaatkan sejumlah besar karbohidrat, yang mana asam laktat diproduksi sebagai metabolit akhir utama. *L. plantarum* digunakan sebagai *starter* dan kultur tambahan dalam fermentasi bahan mentah yang berasal dari tumbuhan dan hewan, yang berkontribusi untuk meningkatkan kualitas sensorik dan memperpanjang umur produk terfermentasi. Beberapa strain juga digunakan sebagai probiotik hewan atau manusia (Mayo & Flórez, 2020)

3.6 *Acetobacter aceti*

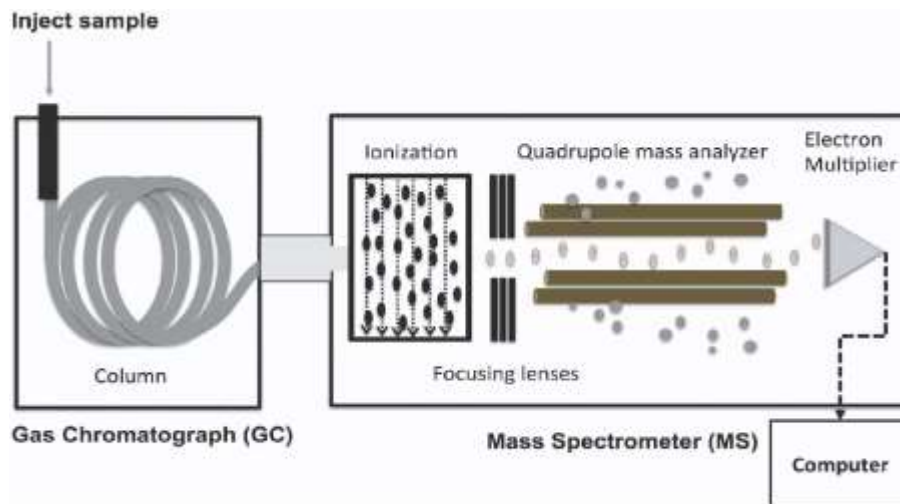
Acetobacter aceti adalah bakteri Gram-negatif yang bergerak menggunakan flagela peritrichous. Louis Pasteur membuktikannya sebagai penyebab konversi etanol menjadi asam asetat pada tahun 1864. Ini adalah mikroorganisme jinak yang ada di mana-mana di lingkungan, ada di lingkup ekologi beralkohol yang meliputi bunga, buah-buahan, dan lebah madu, serta di air dan tanah. Ia hidup di mana pun fermentasi gula terjadi. Tumbuh paling

baik pada suhu yang berkisar dari 25 hingga 30 derajat Celcius dan dalam pH yang berkisar antara 5,4 hingga 6,3 (De Ley et al., 1984)

Pembentukan asam asetat hanya dapat berlangsung bila oksigen yang cukup tersedia, yaitu pada buah-buahan, jus, dan kentang tumbuk. Di bawah kondisi anaerobik pembuatan anggur, peleburan cuka jarang terjadi. Kemunculannya ditunjukkan dengan meningkatnya konsentrasi asam asetat, etil asetat dan d-laktat (Hommel, R. K., & Ahnert, P., 1999) Bakteri ini juga digunakan dalam produksi produk metabolisme lainnya, misalnya asam glukonat dan l-sorbosa dengan aplikasi potensial dalam industri makanan dan biomedis. Klasifikasi AAB (Acetic Acid bacterial) menjadi general yang berbeda telah mengalami beberapa modifikasi selama beberapa tahun terakhir, berdasarkan karakteristik morfologi, fisiologis dan genetik (Gomes et al., 2018).

3.7 Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS)

James dan Martin memperkenalkan teknik GC pertama kali pada tahun 1952 (Sparkman *et al.*, 2011), yang seiring dengan perkembangan teknologi teknik GC sering digunakan secara bersama-sama dengan instrumen lain seperti *Mass-Spectrometer* (MS). GC merupakan salah satu teknik kromatografi yang hanya dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap. Sedangkan MS merupakan spektrometer massa yang diperlukan untuk identifikasi senyawa sebagai penentu bobot molekul dan penentuan rumus molekul (Darmapatni dkk, 2016).



Sumber : Kim et al., 2016

Gambar 2. Prinsip Instrumen GC-MS

Instrumen GC-MS terdiri dari dua komponen utama. Bagian kromatografi gas memisahkan senyawa berbeda dalam sampel menjadi sinyal bahan kimia murni berdasarkan volatilitasnya dengan mengalirkan gas inert (fase gerak), yang membawa sampel, melalui fase diam yang ditetapkan di kolom (Skoog et al., 2007). Spektrum senyawa dikumpulkan saat mereka keluar dari kolom kromatografi oleh spektrometer massa, yang mengidentifikasi dan mengkuantifikasi bahan kimia menurut rasio massa terhadap muatannya (m / z). Spektrum ini kemudian dapat disimpan di komputer.

Peningkatan penggunaan GC-MS banyak digunakan yang dihubungkan dengan komputer dimana dapat merakam dan menyimpan data dari sebuah analisis akan berkembang pada pemisah yang lebih efisien. Karena komputer dapat diprogram untuk mencari spektra *library* yang langka, membuat identifikasi dan menunjukkan analisis dari campuran gas tersebut (Willett, 1987).

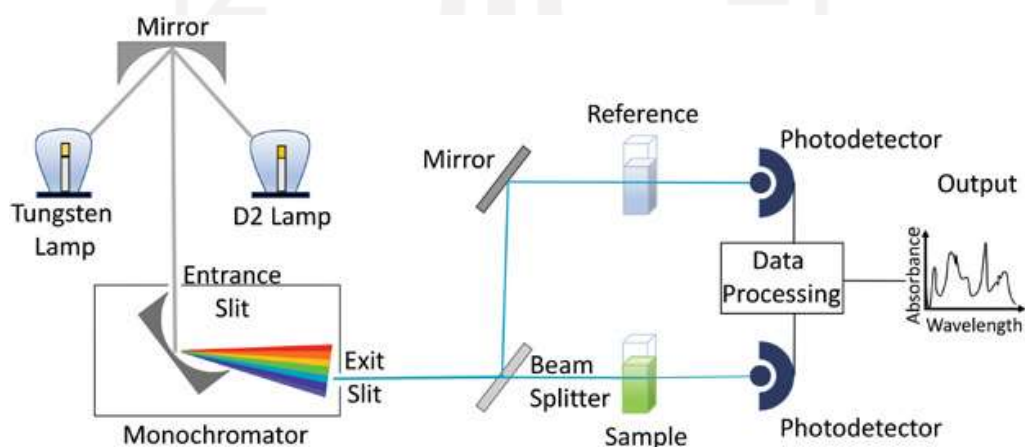
3.8 Spektrofotometer uv-vis

Spektrofotometri UV-Vis Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, dan diemisikan sebagai fungsi dari spektrum

dengan panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang di absorpsi (Khopkar, 2008: 184). Serapan merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Teknik yang sering digunakan dalam analisis farmasi meliputi spektrofotometri ultraviolet, cahaya tampak, inframerah dan serapan atom. Jangkauan panjang gelombang untuk daerah ultraviolet adalah 190-380 nm, daerah cahaya tampak 380-780 nm, daerah infra merah dekat 780-3000 nm, dan daerah infra merah 2,5-40 μm atau 4000-250 cm^{-1} (Ditjen POM, 1995).

Pada umumnya spektrofotometri ultraviolet dalam analisis senyawa organik digunakan untuk:

- Menentukan jenis khromofor, ikatan rangkap yang terkonjugasi dan auksokrom dari suatu senyawa organik.
- Menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang serapan maksimum suatu senyawa.
- Mampu menganalisis senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert-Beer.



Sumber : (Rocha et al., 2018)

Gambar 3. Prinsip Instrumen Spektrofotometer uv-vis

Secara eksperimental, sangat mudah untuk mengukur banyaknya radiasi yang diserap oleh suatu molekul sebagai fungsi frekuensi radiasi. Suatu grafik yang menghubungkan antara banyaknya sinar yang diserap dengan frekuensi

(atau panjang gelombang) sinar merupakan spectrum absorpsi. Transisi yang dibolehkan (*allowed transition*) untuk suatu molekul dengan struktur kimia yang berbeda adalah tidak sama sehingga spectra absorpsinya juga berbeda. Dengan demikian, spectra dapat digunakan sebagai bahan informasi yang bermanfaat untuk analisis kualitatif. Banyaknya sinar yang diabsorpsi pada panjang gelombang tertentu sebanding dengan banyaknya molekul yang menyerap radiasi, sehingga spectra absorpsi juga dapat digunakan untuk analisis kuantitatif (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri uv-vis (Rohman, 2007) :

a. Pemilihan Panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

b. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva kalibrasi berupa garis lurus.

c. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,6. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal.

BAB VI

METODELOGI PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, *Autoclave* (Yazumi), Neraca Analitik (Ohaus), Evaporator Vakuum (N-1100SWD), *Hotplate* (C-MAG HS 7), *Oven* (Memmert), micropipet ukuran 1000 μ L (Eppendorf), Labu Leher 3 (*merk* Pyrex), Kondensor, Termometer Alkohol, Karet Penyumbat, Tabung Reaksi (pyrex), Alat Sentrifugasi (*merk* DS), Inkubator *Shaker* (Scilogex, SK-O330-Pro), Instrumen GC-MS (Shimadzu QP2010 SE), Instrumen Spektrofotometer uv-vis (Perkin Elmer),

4.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak kedelai, aquadest, *Lactobacillus plantarum*, *acetobacter aceti*, medium *nutrien broth* (NB), buffer fosfat 6,3, polisorbitat 80 (tween 80), Natrium klorida (NaCl) 0,9 %, Asam klorida (HCl) 6 N, Natrium hidroksida (NaOH) 0,1 N, etil asetat, metanol p.a, Etanol 95%, Barium klorida (BaCl₂) 1%, Asam sulfat (H₂SO₄) 1%, Asam oksalat (H₂C₂O₄) 0,1 N.

4.2 Cara Kerja

4.2.1 Hidrolisis Minyak Kedelai

Hidrolisis minyak kedelai dilakukan dengan cara refluks. Perbandingan minyak dan air pada rasio perbandingan 1:8 selama 12 jam pada temperatur 100°C. Kemudian ditambahkan secara perlahan HCl 6N sebanyak 1% dari berat total, penambahan HCl dilakukan selama proses pemanasan berlangsung. Lalu fasa minyak dipisahkan dengan fasa air menggunakan corong pisah.

4.2.2 Penentuan bilangan asam lemak bebas hasil hidrolisis

Penentuan bilangan asam dilakukan dengan cara titrasi menggunakan larutan basa NaOH. Ditimbang sebanyak 5 gram minyak kelapa, kemudian ditambahkan dengan etanol 95% sebanyak 50 mL. Campuran tersebut selanjutnya dipanaskan selama 10 menit di atas penangan air sambil diaduk-

aduk. Setelah dingin selanjutnya dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N dengan menggunakan fenolftalin sebagai indikator sampai terbentuk warna merah muda. Dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Larutan NaOH 0,1 N yang digunakan untuk titrasi distandarisasi dengan larutan asam oksalat 0,1 N.

Rumus penentuan bilangan asam sebagai berikut :

$$\% FFA = \frac{V NaOH \times N NaOH \times BM}{1000 \times \text{berat sampel}} \times 100$$

Keterangan :

V NaOH : Volume (mL)

BM : Berat Molekul Minyak Kedelai ($280,447 \text{ g/mol}$)

N : Normalitas (N)

Berat Sampel : Massa Asam Lemak yang dititrasi (g)

4.2.3 Pembuatan Medium Pertumbuhan dan Proses Inokulasi

Pembuatan nutrien broth dilakukan dengan penimbangan 1,3 gram dan dilarutkan dengan akuades 100 mL Larutan dipanaskan dalam oven selama \pm 10 menit lalu dilakukan sterilisasi menggunakan autoclave selama \pm 2 jam. Setelah dilakukan proses sterilisasi media dapat digunakan sebagai media tumbuh. Dilakukan dengan cara diambil 200 mikroliter indukan mikroba kemudian dilarutkan kedalam medium nutrient broth yang telah steril.

4.2.4 Perhitungan Mikroba Menggunakan Metode McFarland

a. Standar McFarland

Pembuatan standar McFarland dengan mencampurkan BaCl₂ 1% ke dalam H₂SO₄ 1%. Larutan standar McFarland tersebut dibuat 5 tabung yang berisikan tabung 1 (0,05 mL BaCl₂ + 9,95 mL H₂SO₄), tabung 2 (0,1 mL BaCl₂ + 9,9 mL H₂SO₄), tabung 3 (0,2 mL BaCl₂ + 9,8 mL H₂SO₄), tabung 4 (0,3 mL BaCl₂ + 9,7 mL H₂SO₄), tabung 5 (0,4 mL BaCl₂ + 9,6 mL H₂SO₄). Yang kemudian tiap tabung dianalisis dengan instrumen Spektrofotometer uv-vis.

b. Pembuatan Sampel

Diambil mikroba dalam indukan sebanyak 10 mL ke dalam tabung reaksi. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000-an rpm dengan

waktu 10 menit. *Pellet* yang diperoleh dipisahkan dari sisa medium kemudian *pellet* dilarutkan dalam 10 mL larutan NaCl 0,9% menggunakan alat *vortek*. Kemudian sampel dianalisis menggunakan spektrofotometer uv-vis.

4.2.5 Proses Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dengan menambahkan 6 g asam lemak terhidrolisis ke dalam medium 25 mL yang sudah berisi mikroba. Lalu ditambahkan 0,2 mL tween 80 dan pH buffer fosfat 6,3 sebanyak 10 mL. Proses fermentasi dilakukan menggunakan alat *shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang. Dilakukan dengan 3 variasi waktu fermentasi yaitu 24 jam, 48 jam, dan 72 jam.

4.2.6 Ekstraksi Hasil Fermentasi

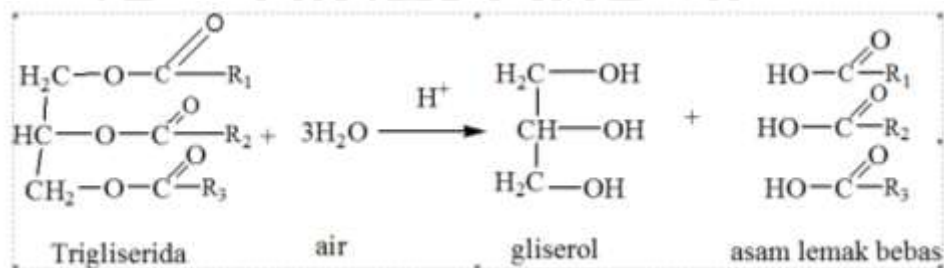
Setelah proses fermentasi selesai kemudian medium yang berisi produk biokonversi tersebut diasamkan dengan HCl 6 N sebanyak 5 mL. Kemudian hasil fermentasi diekstrak menggunakan etil asetat sebanyak 50 mL. Terdapat 2 lapisan dimana lapisan atas diambil dengan cara dipisahkan menggunakan corong pisah lalu lapisan atas tersebut dicuci menggunakan aquadest sebanyak 2x dan dipisahkan kembali. Lapisan atas yang sudah netral dievaporasi untuk menghilangkan pelarut etil asetat dari campuran produk. Hasil evap kemudian diekstrak kembali menggunakan metanol p.a 5 mL.

BAB V PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan studi biokonversi asam lemak bebas terhidrolisis dari minyak kedelai menjadi biodiesel menggunakan mikroba *lactobacillus plantarum* dan *acetobacter aceti*. Optimasi kondisi fermentasi meliputi variasi waktu fermentasi dilakukan guna mengetahui produk biodiesel optimum yang dihasilkan sehingga diperoleh % komposisi atau konversi yang tinggi.

5.1 Hidrolisis Minyak Kedelai dan Penentuan Bilangan Asam

Asam lemak terhidrolisis merupakan bahan utama yang berperan sebagai substrat fermentasi dalam penelitian ini. Proses hidrolisis minyak kedelai yang dilakukan pada tahap awal penelitian ini sangat penting guna memperoleh asam lemak bebas yang digunakan pada tahap selanjutnya. Secara alami, asam lemak bebas dalam minyak kedelai dapat terbentuk melalui hidrolisis alami dengan air tetapi konsentrasinya sangat rendah sehingga perlu dilakukan hidrolisis menggunakan katalis asam. Katalis asam berguna untuk meningkatkan laju reaksi kimia karena kemampuannya dalam menurunkan energi aktivasi reaksi reaktan untuk menjadi produk. Katalis asam yang digunakan yaitu HCl 6 N yang ditambahkan secara perlahan ke dalam campuran minyak dan air pada saat suhu campuran 100 °C selama 12 jam. Reaksi yang terjadi sebagai berikut :



Gambar 4. Reaksi hidrolisis minyak kedelai menjadi asam lemak

Penentuan bilangan asam atau kadar asam lemak bebas ditentukan untuk mengetahui seberapa besar produk asam lemak bebas terhidrolisis yang dihasilkan. Penentuan dilakukan sesuai dengan metode SNI 01-3555-1998

“cara uji minyak dan lemak” yang prinsipnya pelarutan contoh lemak/minyak dalam pelarut organik tertentu (alkohol 95% netral) dengan penambahan indikator PP dilanjutkan dengan penitiran basa (NaOH atau KOH). Penentuan bilangan asam dilakukan pada minyak kedelai sebelum dan sesudah hidrolisis. Diperoleh bilangan asam lemak bebas pada minyak kedelai sebelum hidrolisis sebesar 0,75% sedangkan setelah hidrolisis sebesar 1,59%. Berdasarkan SNI No.01-3555-1998 tentang syarat asam lemak bebas pada minyak kedelai yaitu maksimal 0,2% Hal ini menandakan bahwa proses hidrolisis berjalan dengan sangat baik karena terjadi peningkatan persentase asam lemak bebas yang cukup signifikan.

5.2 Perhitungan Mikroba dengan Metode McFarland

Standar McFarland digunakan untuk standarisasi perkiraan jumlah bakteri dalam suspensi cair dengan membandingkan kekeruhan suspensi uji dengan Standard McFarland sebelum dilakukan fermentasi. Standar McFarland adalah larutan kimia barium klorida dan asam sulfat, reaksi antara dua bahan kimia ini menghasilkan endapan halus barium sulfat. Ketika dikocok pelan, kekeruhan Standar McFarland visual sebanding dengan konsentrasi suspensi mikroba. Digunakan 5 standar McFarland dengan konsentrasi berbeda – beda yaitu : 0,5, 1, 2, 3, 4 dan 2 sampel yaitu mikroba *L. Plantarum* dan mikroba *A. Aceti* masing – masing 10 mL yang dianalisis menggunakan alat spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimum ($\lambda = 600$ nm). Hasil analisis standar McFarland dibuat kurva kalibrasi sehingga jumlah mikroba dapat ditentukan. Kurva kalibrasi merupakan grafik yang membentuk garis lurus (*linear*) yang menyatakan hubungan antara kadar larutan kerja termasuk blanko dengan respon yang proporsional dari instrumen. Perubahan secara proporsional antara kadar analit dengan respon instrumen tersebut akan membentuk garis lurus yang memenuhi persamaan $y = ax + b$ dimana :

y = respon instrumen)

b = kemiringan (*slope*)

x = kadar analit

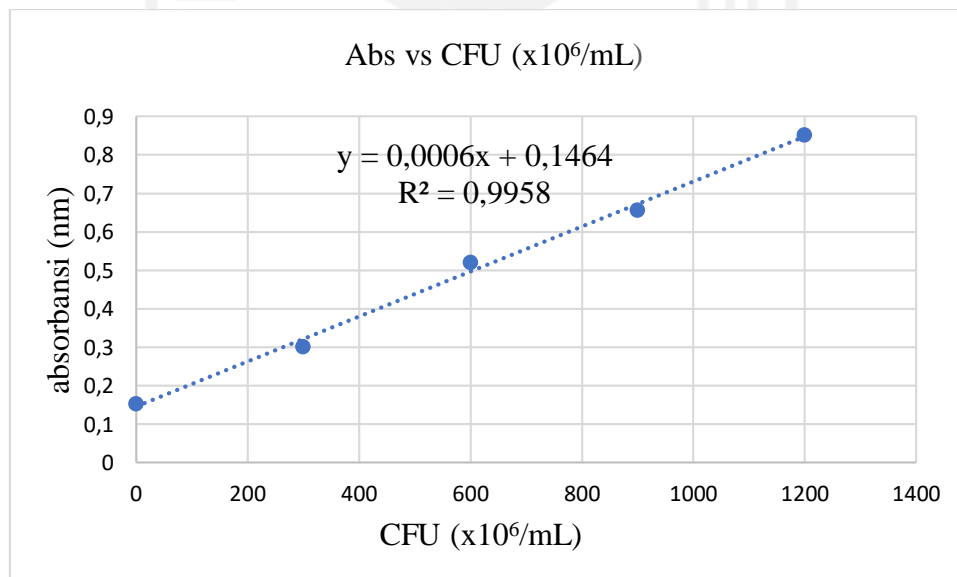
a = intersep (*intercept*)

Hasil data yang diperoleh dari analisis spektrofotometer uv-vis disajikan pada (Tabel 2) sebagai berikut :

Tabel 2. Standar McFarland CFU ($\times 10^6/\text{mL}$), Absorbansi Standar mcFarland, dan Absorbansi Sampel Mikroba (*L. plantarum*, *A. aceti*)

Skala	0,5	1	2	3	4
CFU ($\times 10^6/\text{mL}$)	<300	300	600	900	1200
Absorbansi	0,153	0,302	0,521	0,656	0,852
Sampel <i>L. plantarum</i>	0,577				
Sampel <i>A. aceti</i>	0,586				

Berdasarkan data yang diperoleh dari (Tabel 2) hasil analisis spektrofotometer uv-vis tersebut, kemudian dibuat grafik kurva kalibrasi guna mengetahui konsentrasi mikroba *L. plantarum* dan *A.aceti* secara kuantitatif. Grafik kurva kalibrasi tersebut disajikan pada (Gambar 5) berikut ini :



Gambar 5. Kurva Kalibrasi Hasil Analisis Spektrofotometer uv-vis Standar McFarland

Jika dilihat dari data kurva kalibrasi (Gambar 2) terdapat R^2 (koefisien determinasi). Secara umum, R^2 digunakan sebagai informasi mengenai

kecocokan suatu model. Dalam regresi R^2 ini dijadikan sebagai pengukuran seberapa baik garis regresi mendekati nilai data asli. Jika R^2 sama dengan atau mendekati 1, maka angka tersebut menunjukkan garis regresi cocok dengan data secara sempurna atau hampir sempurna. Pada penelitian ini diperoleh $R^2 = 0,9958$ yang berarti bahwa kecocokan garis regresi dengan data sangat baik (bersesuaian) karena nilai R^2 yang mendekati nilai 1 sehingga hasil data dapat diterima. Jika dilihat dari (**Tabel 1**), sampel *L. plantarum* memiliki absorbansi 0,577 dan sampel *A. aceti* memiliki absorbansi 0,586. Jika tiap absorbansi tersebut dimasukkan dalam rumus persamaan garis $y = 0,0006x + 0,1464$ (**Gambar 5**), absorbansi sampel sebagai y maka dapat ditentukan konsentrasi mikroba (nilai x). Sehingga konsentrasi mikroba *L. plantarum* yang diperoleh sebesar $717,67 \times 10^6$ CFU/mL dan konsentrasi mikroba *A. aceti* yang diperoleh sebesar $1465,33 \times 10^6$ CFU/mL dimana konsentrasi tersebut diperoleh dari 1 hari masa pertumbuhan dalam 10 mL media.

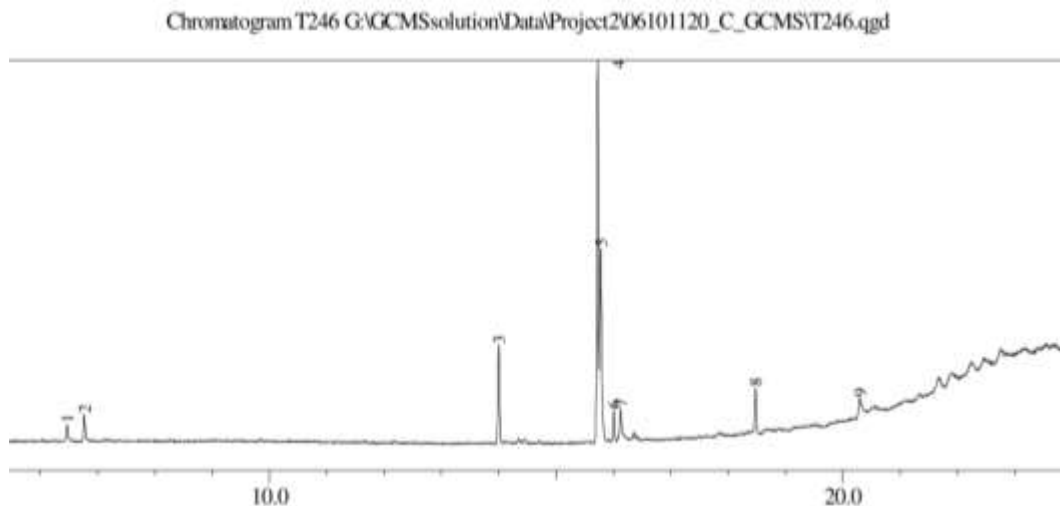
5.3 Proses Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dengan 3 variasi waktu yang berbeda yaitu pada waktu fermentasi 24 jam, 48 jam, 72 jam. Tujuannya adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu fermentasi terhadap produk senyawa biodiesel yang dihasilkan. Fermentasi dilakukan secara *one pot* yang artinya mikroba *L. plantarum* dan *A. aceti* ditempatkan pada satu wadah (media) yang sama. Penempatan satu wadah tersebut dilakukan dengan harapan terbentuknya senyawa biodiesel dengan jumlah lebih banyak.

Fermentasi berjalan pada pH yang konstan yaitu pH 6,3 menggunakan pH buffer fosfat 6,3 yang merupakan kondisi optimum mikroba tersebut dalam produksi (Romano et al., 2013). Karena substrat asam lemak terhidrolisis tidak larut dalam air maka ditambahkan *tween 80* yang berfungsi sebagai pelarut antar zat yang bertindak sebagai surfaktan dan meningkatkan tingkat kelarutan antar zat yang biasanya tidak larut dalam larutan tertentu. Dalam hal ini asam lemak bebas yang tidak larut dalam air akan teremulsi pada media NB sehingga asam lemak terhidrolisis terdistribusi secara merata dan juga dibantu dengan alat *shaker* dengan kecepatan 120 rpm sehingga hasil fermentasi lebih optimal.

5.4 Karakterisasi GC-MS Hasil Fermentasi Pada Variasi Waktu 24 jam

Identifikasi komponen senyawa produk hasil fermentasi yaitu biodiesel dilakukan dengan membandingkan pola fragmentasi spektrum massa dengan pola fragmentasi senyawa referensi. Hasil Analisis GC-MS produk biodiesel dari hasil fermentasi 24 jam disajikan pada (**Gambar 6**) sebagai berikut :



Gambar 6. Kromatogram hasil analisis GC-MS produk fermentasi variasi waktu 24 jam

Jika dilihat dari hasil kromatogram pada instrumen GC-MS terdapat 9 puncak yang teridentifikasi. Puncak tertinggi pada hasil fermentasi 24 jam ini adalah *peak* 4 sedangkan terendah ada pada *peak* 1.

Tabel 3. Hasil GC-MS terhadap produk biokonversi asam lemak bebas terhidrolisis oleh mikroba *L. plantarum* dan *A. aceti* variasi waktu 24 jam

<i>peak</i>	Waktu retensi (min.)	LuasArea (%)	SI	Nama Senyawa
1	6,469	1,78	96	2,4-Decadienal
2	6,769	3,13	97	2,4-Decadienal
3	13,999	10,64	97	Metil palmitat
4	15,724	43,82	95	Metil linoleat
5	15,777	24,69	94	Metil oleat
6	16,005	3,43	95	Metil stearat
7	16,123	4,27	92	Asam oleat

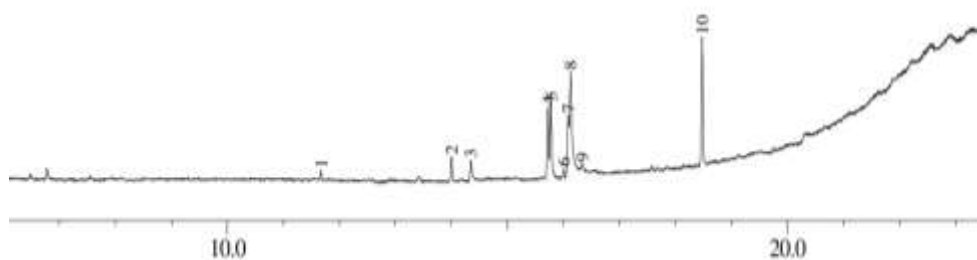
8	18,478	4,94	97	Asam Hexanedioic
9	20,297	3,29	81	Metil ricinoleat

Jika dilihat dari (**Tabel 3**) tersebut, hampir semua produk merupakan *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) yang merupakan salah satu bahan bakar terbarukan (biodiesel) dimana produk FAME terbanyak adalah *peak 4* yaitu metil linoleat sebesar 43,82%. Produk metil linoleat terbanyak karena berdasarkan teori, asam linoleat yang merupakan bahan pada fermentasi ini adalah asam lemak terbanyak yang terdapat pada minyak kedelai bisa mencapai 64% dari asam lemak total pada minyak kedelai (Karen, 2005). Pada hasil fermentasi 24 jam ini masih terdapat asam lemak yang belum termetilasi secara sempurna yaitu *peak 7* dan *8* berupa asam oleat dan asam hexanedioic sebesar 4,27% dan 4,94%. Terdapat juga senyawa produk samping pada *peak 1* dan *2* yaitu 2,4-Decadienal dengan persentase terendah sebesar 1,78% dan 3,13%. Total persentase biodiesel FAME pada variasi waktu 24 jam yang dihasilkan adalah sebesar 85,87%.

5.4 Karakterisasi GC-MS Hasil Fermentasi Pada Variasi Waktu 48 jam

Hasil Analisis GC-MS produk biodiesel dari hasil fermentasi 48 jam disajikan pada (**Gambar 7**) sebagai berikut :

Chromatogram T486 G:\GCMSsolution\Data\Project206101120_C_GCMS\T486.qgd



Gambar 7. Kromatogram hasil analisis GC-MS produk fermentasi variasi waktu 48 jam

Jika dilihat dari hasil kromatogram pada instrumen GC-MS terdapat 10 puncak yang teridentifikasi. Puncak tertinggi pada hasil fermentasi 48 jam ini adalah *peak* 8 sedangkan terendah ada pada *peak* 6.

Tabel 4. Hasil GC-MS terhadap produk biokonversi asam lemak bebas terhidrolisis oleh mikroba *L. plantarum* dan *A. aceti* variasi waktu 48 jam

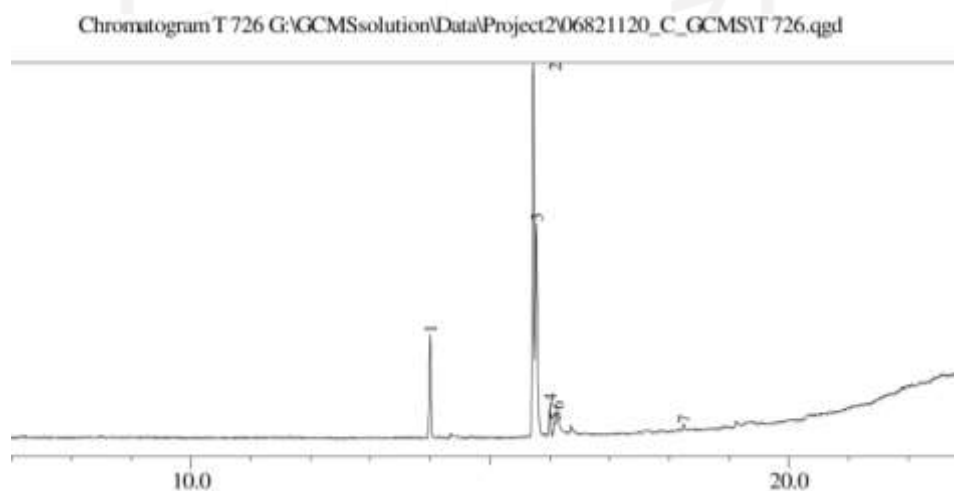
<i>Peak</i>	Waktu Retensi (min.)	Luas Area (%)	SI	Nama Senyawa
1	11,673	1,41	75	1,5-Diisopropil, 2,3-dimetil
2	14,002	4,06	96	cycloheksana
3	14,346	3,89	94	Metil palmitat
4	15,724	12,14	93	Asam palmitat
5	15,775	13,10	95	Metil linoleat
6	16,006	1,40	90	Metil oleat
7	16,087	11,18	89	Metil stearat
8	16,123	28,15	89	Metil linolelaidat
9	16,338	2,18	75	Asam oleat
10	18,435	22,48	95	Asam stearat
				Asam Hexanedioic

Jika dilihat dari (**Tabel 4**) tersebut, produk FAME terbanyak terdapat pada *peak* 8 yaitu metil linolelaidat sebesar 28,15% dengan total persentase FAME yang diperoleh sebesar 41,88%. Persentase ini turun dibandingkan variasi waktu sebelumnya. Padahal secara teoritis, semakin lama fermentasi (selama mikroba fase eksponensial) berjalan maka semakin besar konsentrasi yang didapatkan dikarenakan pertumbuhan mikroba yang semakin banyak (Silva & Malcata, 2000). Hal ini bisa terjadi karena variasi proses fermentasi yang dilakukan berada pada wadah yang berbeda-beda mengakibatkan laju pertumbuhan mikroba tiap variasi bergantung pada lingkungan yang berbeda

pula sehingga dimungkinkan adanya pengganggu atau kontaminan yang mengakibatkan laju pertumbuhan mikroba pada variasi 48 jam kurang baik/optimal. Hal ini didukung dengan hasil GC-MS yang menunjukkan masih banyaknya asam lemak yang tidak termetilasi oleh mikroba yaitu pada *peak* 3, 7, 8 berupa asam palmitat, asam oleat, asam stearat, dan asam hexanedioic dengan total presentase asam lemak sebesar 56,7%.

5.5 Karakterisasi GC-MS Hasil Fermentasi Pada Variasi Waktu 72 jam

Hasil Analisis GC-MS produk biodiesel dari hasil fermentasi 72 jam disajikan pada (**Gambar 8**) sebagai berikut :



Gambar 8. Kromatogram hasil analisis GC-MS produk fermentasi variasi waktu 72 jam

Jika dilihat dari hasil kromatogram pada instrumen GC-MS terdapat 7 puncak yang teridentifikasi. Puncak tertinggi pada hasil fermentasi 72 jam ini adalah *peak* 2 sedangkan terendah ada pada *peak* 7.

Tabel 5. Hasil GC-MS terhadap produk biokonversi asam lemak bebas terhidrolisis oleh mikroba *L. plantarum* dan *A. aceti* variasi waktu 72 jam

<i>Peak</i>	Waktu Retensi (min.)	Luas Area (%)	SI	Nama Senyawa
1	13,999	12,23	97	Metil palmitat
2	15,724	46,40	95	Metil linoleat

3	15,775	30,80	94	Metil oleat
4	16,004	3,82	96	Metil stearat
5	16,080	1,76	87	Asam linoleat
6	16,100	4,10	91	Asam oleat
7	18,239	0,89	78	1-metoksi-,(E)- 9-Oktadekena

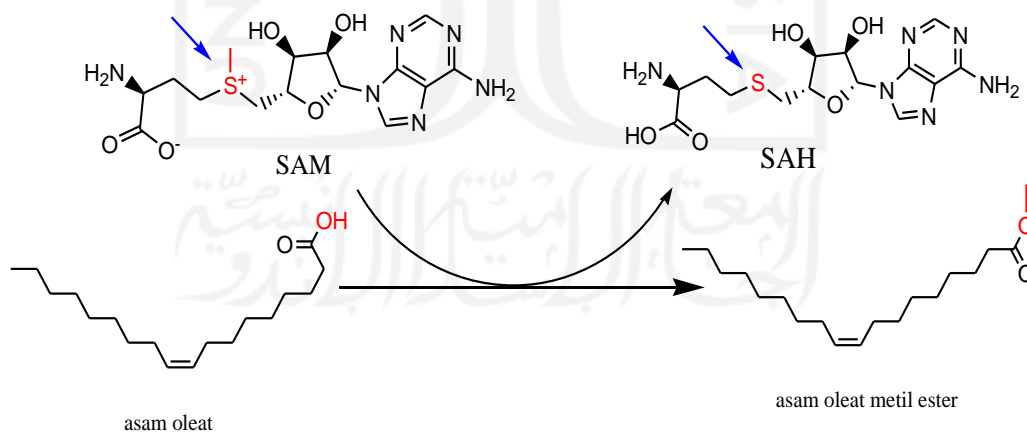
Jika dilihat dari tabel 5 tersebut, produk FAME terbanyak terdapat pada *peak* 2 yaitu metil linoleat sebesar 46,40% dengan total persentase FAME yang diperoleh sebesar 93,25%. Persentase ini naik dibandingkan variasi waktu sebelumnya. Hal ini sesuai secara teoritis, dimana semakin lama fermentasi (selama mikroba fase eksponensial) berjalan maka semakin besar konsentrasi yang didapatkan karena pertumbuhan mikroba yang semakin banyak sehingga semakin banyak pula substrat asam lemak bebas yang terkonversi (Silva & Malcata, 2000). Terdapat masih ada asam lemak yang belum terkonversi secara sempurna dibuktikan pada *peak* 6 yaitu adanya asam oleat dengan persentase 4,10%. Terdapat juga senyawa pengotor pada *peak* 7 yaitu 1-metoksi-,(E)-9-Oktadekena. Senyawa tersebut dianggap merupakan senyawa pengotor yang ikut teranalisis. Hal tersebut dibuktikan dengan rendahnya SI (*similarity index*) yang dimiliki yaitu sebesar 78. SI (*similarity index*) mengindikasikan presentase kecocokan pola fragmentasi sampel dengan pola fragmentasi senyawa standar *Library MS* pada komputer. Semakin nilai SI menjauhi nilai 100 maka semakin tidak cocok pola fragmentasi sampel dan standar yang dibandingkan sehingga senyawa yang diidentifikasi kurang akurat. Begitu juga sebaliknya, semakin nilai SI mendekati atau sama dengan 100 maka ketepatan senyawa yang diidentifikasi semakin akurat. Persentase luas areanya juga sangat rendah yaitu 0,89%.

5.6 Mekanisme Pembentukan FAME Oleh Mikroba *Lactobacillus*

Plantarum dan *Acetobacter aceti*

Pembentukan *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) oleh mikroba dapat terjadi karena adanya enzim SAM (*S-adenosyl methionine*) yang merupakan enzim *methyltransferase* pada mikroba yang berfungsi sebagai pedonor metil

pada substrat asam lemak bebas (Sherkhanov et al., 2016). SAM (*S-adenosyl methionine*) adalah kosubstrat umum yang terlibat dalam transfer gugus metil, *transsulfuration*, dan *aminopropylation* (Cantoni, 1952). SAM terbuat dari adenosin trifosfat (ATP) sebagai co-substrat dan metionin oleh *methionine adenosyltransferase*. Telah dilaporkan SAM (*S-Adenosyl methionine*) pada *Lactobacillus plantarum* ditemukan meningkat bersamaan dengan produksi membran asam lemak siklopropana di bawah kondisi normal pertumbuhan (Smith et al., 1980). Telah dilaporkan pula, produksi SAM diperoleh dengan konsentrasi tinggi pada isolasi LAB (*Lactobacillus*) dalam produk kimchi (Myung-ki Lee, 2008). Belum ada atau sangat sedikit penelitian mengenai SAM pada *acetobacter aceti*. Tetapi secara umum pada mikroba, SAM terikat oleh riboswitch SAM, yang mengatur gen yang terlibat dalam biosintesis metionin atau sistein (Ding et al., 2015) sehingga tidak menutup kemungkinan *acetobacter aceti* juga berperan pada pembuatan biodiesel FAME ini. Dengan adanya enzim SAM pada penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya dan dengan adanya substrat asam lemak bebas terhidrolisis memungkinkan adanya jalur biokonversi dengan reaksi sebagai berikut ini :



Gambar 9. Reaksi Pembentukan Asam Lemak Metil Ester dari Asam Lemak Oleh mikroba *L. plantarum* dan *A. aceti*

Pendonoran metil pada SAM terhadap asam lemak menghasilkan SAH (*S-adenosyl-L-homocysteine*) dan FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*) (Sherkhanov et al., 2016). SAH (*S-Adenosyl homocysteine*) adalah pengatur

negatif yang kuat dari hampir semua metilase yang bergantung pada SAM. SAH dihidrolisis menjadi homosistein dan adenosin oleh hidrolase *S-adenosylhomocysteine*. Homosistein didaur ulang kembali ke metionin melalui transfer gugus metil dari 5-metiltetrahidrofolat, oleh salah satu dari dua kelas sintase metionin (yaitu tergantung kobalamin atau tidak tergantung kobalamin). Metionin ini kemudian dapat diubah kembali menjadi SAM (Födinger M., 2000).

S-Adenosyl methionine (SAM) adalah enzim yang terbentuk dari ATP dan metionin (Van Keulen & Dyson, 2014). Metionin merupakan salah satu asam amino esensial yang menjadi sumber utama dalam pembentukan SAM. Semua mikroorganisme memiliki mekanisme untuk mengatur jumlah dan jenis enzim sehingga hanya sejumlah tertentu asam amino yang dibutuhkan (Kumar & Gomes, 2005). Metionin terdapat pada buah-buahan, daging (ayam, sapi, ikan), susu (susu murni, beberapa jenis keju), sayuran (bayam, bawang putih, jagung), serta kacang-kacangan (kapri, pistacio, kacang mete, kacang merah, tahu tempe) (Andri et al., 2020). Pada penelitian ini, sumber metionin hanya mengandalkan sumber protein yang terdapat pada media nutrisi broth (NB). Oleh karena itu kedepannya, perlu dikaji penambahan metionin murni atau sumber protein lain dalam pembentukan SAM. Dengan penambahan metionin ini dimungkinkan terbentuk SAM berlebih menjadikan semakin banyak substrat asam lemak bebas yang termetilasi oleh SAM sehingga semakin banyak pula biodiesel FAME yang dihasilkan. Hal lain yang juga perlu dikaji setelah penelitian ini adalah banyaknya penambahan asam lemak bebas sebagai substrat. Hal ini akan sejalan dengan perlakuan SAM berlebih dimana semakin banyak substrat asam lemak bebas yang ditambahkan dan dengan adanya perlakuan SAM berlebih maka akan diperoleh hasil biodiesel FAME yang optimal .

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Metode fermentasi mikroba memiliki potensi yang besar dalam mengkonversi asam lemak bebas terhidrolisis menjadi biodiesel secara enzimatik menggunakan mikroba *Lactobacillus plantarum* dan *Acetobacter aceti* dengan produk FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*). Dengan cara menghidrolisis minyak kedelai menjadi asam lemak bebas yang kemudian dimetilasi oleh SAM (*S-Adenosil Methionine*) dalam mikroba yang bertindak sebagai enzim *methyltransferase* sehingga terbentuk FAME.
2. Senyawa FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*) didapatkan melalui proses fermentasi secara *one pot* oleh mikroba *Lactobacillus plantarum* dan *Acetobacter aceti* pada variasi waktu fermentasi 24 jam, 48 jam, 72 jam dengan total % konversi dan kemurnian masing-masing sebesar 85,87%, 41,88%, dan 93,25%.

6.2 Saran

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan perlu adanya percobaan dengan melakukan variasi jumlah mikroba yang digunakan saat fermentasi guna mengetahui pengaruh terhadap produk fermentasi yang dihasilkan
2. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan perlu adanya pengadaan alat dan bahan yang memadai terutama kesterilan di laboratorium terpadu UII agar memperkecil terjadinya kontaminasi saat pertumbuhan mikroba maupun saat fermentasi sehingga tidak terbentuk produk samping yang tidak diinginkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andri, A., Harahap, R. P., & Tribudi, Y. A., 2020, Estimasi dan Validasi Asam Amino Metionin, Lysin, dan Threonin dari Pakan Bijian Sebagai Sumber Protein Nabati, *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis*, 3(1), 18–22.
- Badole, S. L., Patil, K. Y., & Rangari, V. D. 2015., Antihyperglycemic Activity of Bioactive Compounds from Soybeans In Glucose Intake and Utilization in Pre-Diabetes and Diabetes: Implications for Cardiovascular Disease, *Elsevier Inc.*
- Cantoni, G. L., 1952, The nature of the active methyl donor formed enzymatically from l-methionine and adenosinetriphosphate. *Journal of the American Chemical Society*, 74(11), 2942–2943.
- Carey, F., Giuliano, R., 2011, *Organic Chemistry*, Edisi ke-8, McGraw-Hill, Philadelphia.
- Carballeira, J. D., Quezada, M. a, & Service, I. B., 2009, *Industrial Biotransformations Service*, Madrid, Spa. 212–251.
- Darmapatni, Komang. Ari.Gunapria., Basori, Achmad., dan Suaniti, Ni. Made., 2016, Pengembangan Metode GC-MS Untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Specimen Rambut Manusia, *Jurnal Biosains Pascasarjana*, Vol. 18.
- de Carvalho, C. C. C. R., & da Fonseca, M. M. R., 2011, *Biotransformations. Comprehensive Biotechnology*, Second Edition, 2, 451–460.
- Ding, W., Smulan, L. J., Hou, N. S., Taubert, S., Watts, J. L., & Walker, A. K., 2015, S-adenosylmethionine levels govern innate immunity through distinct methylation-dependent pathways, *Cell Metabolism*, 22(4), 633–645.
- Edberg, S.C., 1992, *Human health assessment:Acetobacter aceti*, Unpublished, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C
- Födinger M, Hörl W, Sunder-Plassmann G., 2000, Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase, *J Nephrol.* **13** (1): 20–33.

- Ginn, T.R., Hatch, T.J., McKone, T.E. & Rice, D.W., 2009, *California Biodiesel Multimedia Evaluation Tier I Report*, University of California, Davis and University of California, Berkeley.
- Gomes, R. J., Borges, M. de F., Rosa, M. de F., Castro-Gómez, R. J. H., & Spinosa, W. A., 2018, Acetic acid bacteria in the food industry: Systematics, characteristics and applications, *Food Technology and Biotechnology*, 56(2), 139–151.
- Hardjo, S., N.S. Indrasi, dan T. Bantacut., 1989, *Biokonversi : Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian*. Bogor : Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB.
- Homgren, J., Gosling, G., Marinangle R., Marker T., 2007, *A New Development in Renewable Fuels : Green Diesel*, UOP.LLC, Des Palines, lilionis, U.S.A.
- Hommel, R. K., & Ahnert, P., 1999, *ACETOBACTER*, Encyclopedia of Food Microbiology, 1–7.
- Hou, C. T., & Shimada, Y., 2009, *Lipases*, Encyclopedia of Microbiology, 385–392.
- Ketaren, S., 2005, *Minyak dan lemak pangan, Edisi Pertama*, Jakarta : UI
- Kemton, W. and S. Krabacher., 1987, *Thermostat management: intensive interviewing used to interpret instrumentation data*, pp. 245-262 in W. Kempton and M. Neiman (eds.) *Energy Efficiency: Perspectives on Individual Behavior*. Washington, DC: Amer. Council for an Energy-Efficient Economy.
- Khopkar, S. M., 2010., *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Jakarta: UI Press
- Kim, I. Y., Suh, S. H., Lee, I. K., & Wolfe, R. R., 2016, Applications of stable, nonradioactive isotope tracers in in vivo human metabolic research. *Experimental and Molecular Medicine*, 48(1).
- Kuan, I. C., Kao, W. C., Chen, C. L., & Yu, C. Y., 2018, Microbial biodiesel production by direct transesterification of rhodotorula glutinis biomass. *Energies*, 11(5).
- Kumar, D., & Gomes, J., 2005, Methionine production by fermentation.

- Biotechnology Advances*, 23(1), 41–61.
- Lennen, R. M., & Pfleger, B. F., 2013, Microbial production of fatty acid-derived fuels and chemicals, *Current Opinion in Biotechnology*, 24(6), 1044–1053.
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., & Franco, D., 2018, Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability: General aspects and overall description. In *Innovative technologies for food preservation: Inactivation of spoilage and pathogenic microorganisms*, Elsevier Inc.
- Mayo, B., & Flórez, A. B., 2020, Lactic Acid Bacteria: Lactobacillus spp.: Lactobacillus plantarum, In *Reference Module in Food Science*. Elsevier.
- Myung-ki, lee., Jong-Kyung, Lee., at all., 2008., S-Adenosyl-L-methionine (SAM) production by lactic acid bacteria strains isolated from different fermented kimchi products, *Food Sci, Bioelectronol* Vol. 17, No. 4
- Patel, A., Karageorgou, D., Rova, E., Katapodis, P., Rova, U., Christakopoulos, P., & Matsakas, L., 2020, An overview of potential oleaginous microorganisms and their role in biodiesel and omega-3 fatty acid-based industries. *Microorganisms*, 8(3), 1–39.
- Prakash, A. 2002, *Green Marketing, Public Policy And Managerial Strategies*. Business Strategy and the Environment 11.
- Rocha, F. S., Gomes, A. J., Lunardi, C. N., Kaliaguine, S., & Patience, G. S., 2018, Experimental methods in chemical engineering: Ultraviolet visible spectroscopy—UV-Vis. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, 96(12), 2512–2517.
- Rohman, A. 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Romano, D., Contente, M., Granato, T., Remelli, W., Zambelli, P., & Molinari, F., 2013, Biocatalytic oxidation of 1,4-diols and γ -lactols into γ -lactones: Application to chemoenzymatic synthesis of drospirenone, *Monatshefte Fur Chemie*, 144(5), 735–737.
- Ruiz-Larrea, F., 2011, *Applications of protective cultures and bacteriocins in wine making* In *Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and*

- Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation*, Woodhead Publishing Limited.
- Schröder, D., Golberg, N., Zummack, W., Schwars, H., Poutsma, J.C., Squires, R.R., 1997, Generation of α -acetolactone and acetoxy diradical CH₂COO in the gas phase, *Internasional Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 165-166: 71-82.
- Sherkhanov, S., Korman, T. P., Clarke, S. G., & Bowie, J. U., 2016, Production of FAME biodiesel in E. coli by direct methylation with an insect enzyme, *Scientific Reports*, 6(March), 1–10.
- Shi, S., Valle-Rodríguez, J. O., Siewers, V., & Nielsen, J., 2011, Prospects for microbial biodiesel production, *Biotechnology Journal*, 6(3), 277–285.
- Silva, M. L., & Malcata, F. X., 2000, Effect of time and temperature of fermentation on the microflora of grape pomace, *Bioprocess Engineering*, 23(1), 17–24.
- Skoog, D., Holler, T., and Nieman, F., 1998, *Principles of Instrumental Analysis*, Edisi ke-5, Harcourt Brace, Philadelphia.
- Smith, D. D., & Norton, S. J., 1980, S-Adenosylmethionine, cyclopropane fatty acid synthase, and the production of lactobacillic acid in *Lactobacillus plantarum*, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 205(2), 564–570.
- Song, Chen., 2012, Green Oil Production by Hydroprocessing, *International Journal of Clean Coal and Energy*, 1, 43-155.
- Sparkman, O.D., Penton, Z.E. & Kitson, F.G., 2011, *Gas Chromatography and Mass Spectrometry : A Practical Guide*, Second Edition, Academic Press, Oxford.
- Speight, J., 2018, *Hidrólisis. Mecanismos de reacción en ingeniería ambiental*. 203–229.
- Speight, J. G., 2017, *Industrial Organic Chemistry In Environmental Organic Chemistry for Engineers*.
- Thomas, A. O., Leahy, M. C., Smith, J. W. N., & Spence, M. J., 2017, Natural attenuation of fatty acid methyl esters (FAME) in soil and groundwater, *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology*, 50(3),

301–317.

- Toscano, G., & Duca, D., 2009, Renewable Energy Content of Fatty Acid Methyl Esters (Fame) and Glycerol, *Journal of Agricultural Engineering*, 40(4), 47.
- Van Keulen, G., & Dyson, P. J., 2014, Production of specialized metabolites by streptomyces coelicolor A3(2) In *Advances in Applied Microbiology (1st ed., Vol. 89, Issue 2)*. Elsevier Inc.
- Wadhawan, Jay. D., Marken, Frank., dan Richard, G. Compton., 2001, Biphasic Sonoelectrosynthesis. A Review, *Pure Appl Chem*, Vol. 73, No. 12, pp. 1947-1955.
- Wahlen, B. D., Morgan, M. R., McCurdy, A. T., Willis, R. M., Morgan, M. D., Dye, D. J., Bugbee, B., Wood, B. D., & Seefeldt, L. C., 2013, Biodiesel from microalgae, yeast, and bacteria: Engine performance and exhaust emissions, *Energy and Fuels*, 27(1), 220–228.
- Wang, W., He, J., Pan, D., Wu, Z., Guo, Y., Zeng, X., & Lian, L., 2018, Metabolomics analysis of *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 adhesion activity under initial acid and alkali stress. *PLoS ONE*, 13(5), 1–16.
- Willett J., 1987, *Gas Chromatography*. London: ACOI.
- Zahriyah, S., 2009, Esterifikasi Asam Lemak Bebas Dalam Minyak Jelantah Dengan Katalis TiO_2 /Montmorillonit dan Pengaruhnya Terhadap Biodiesel yang dihasilkan, Depok, *Skripsi FMIPA UNS*.

LAMPIRAN 1. Perhitungan

1. Perhitungan penentuan nilai asam lemak bebas

$$ALB = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times BM}{\text{massa} \times 1000 \frac{\text{mg}}{\text{gram}}} \times 100 \%$$

1.1 Normalitas NaOH

Vol hasil titrasi NaOH :

1	10,5 mL
2	10,2 mL

$$\begin{aligned} N \text{ NaOH} &= \frac{V \text{ oks} \times N \text{ oks}}{V \text{ NaOH}} \\ &= \frac{10 \text{ mL} \times 0,1 \text{ N}}{10,35 \text{ mL}} \\ &= 0,096 \text{ N} \end{aligned}$$

1.2 Penentuan Persentase Asam Lemak Bebas pada Minyak Terhidrolisis

Volume hasil titrasi :

1	3,7 mL
2	2,2 mL

$$\begin{aligned} ALB &= \frac{2,95 \text{ mL} \times 0,096 \text{ N} \times 280,447 \frac{\text{gram}}{\text{mol}}}{5 \text{ gram} \times 1000 \frac{\text{mg}}{\text{gram}}} \times 100 \% \\ &= 1,58 \% \end{aligned}$$

1.3 Penentuan nilai asam lemak bebas pada minyak kedelai

Volume hasil titrasi :

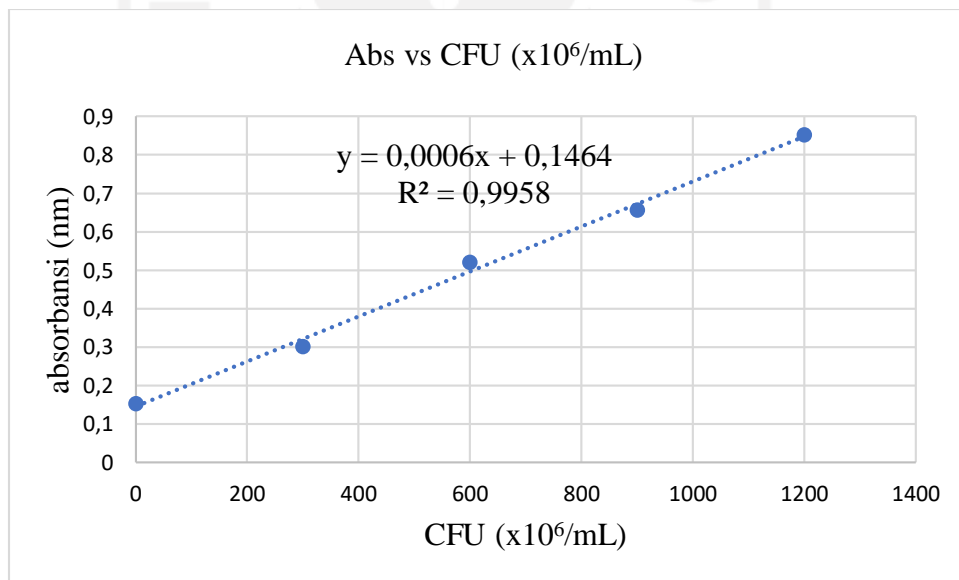
1	1,8 mL
2	1,1 mL

$$ALB = \frac{1,45 \text{ mL} \times 0,096 \text{ N} \times 280,447 \text{ gram/mol}}{5 \text{ gram} \times 1000 \text{ mg/gram}} \times 100 \%$$

$$= 0,780 \%$$

2. Perhitungan Metode McFarland

Skala	0,5	1	2	3	4
CFU (x10 ⁶ /mL)	<300	300	600	900	1200
Absorbansi	0,153	0,302	0,521	0,656	0,852
Sampel LP	0,577				
Sampel AA	0,586				



Diketahui : Abs *L. plantarum* = 0,577
 Abs *A. aceti* = 0,586
 Faktor pengenceran *A. aceti* = 2x
 $y = 0,0006x + 0,1464$

Dicari nilai x ?

Jawab :

a. Konsentrasi *L. plantarum*

$$y = 0,0006x + 0,1464$$

$$x = \frac{y - 0,1464}{0,0006}$$

$$x = \frac{0,577 - 0,1464}{0,0006}$$

$$x = 717,67 \times 10^6 \text{ CFU/mL}$$

b. Konsentrasi *a. aceti*

$$y = 0,0006x + 0,1464$$

$$x = \frac{y - 0,1464}{0,0006}$$

$$x = \frac{0,586 - 0,1464}{0,0006}$$

$$x = 717,67 \times 10^6 \times 2 =$$

$$1465,33 \text{ CFU/mL}$$



Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

2.1 Hasil Titrasi Penentuan Asam Lemak Bebas



2.2 Medium *Nutrien Broth* (NB)



1.5 Hasil Fermentasi



Lampiran 3. MS produk FAME (Fatty Acid Methyl Ester)

1. HASIL GC-MS T248

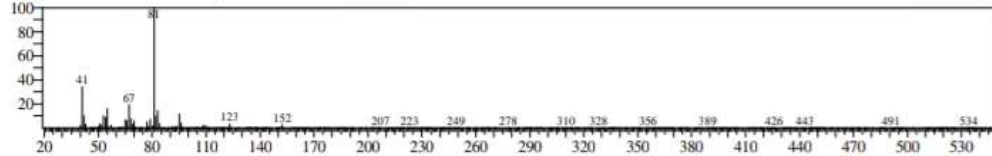
Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:6.470(Scan#:1295) MissPeaks:314

RawMode:Averaged 6.465-6.475(1294-1296) BasePeak:81.00(24763)

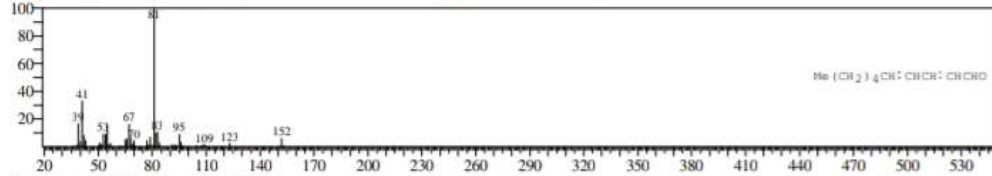
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:40936 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C10H16O CAS:25152-84-5 MolWeight:152 RetIndex:0

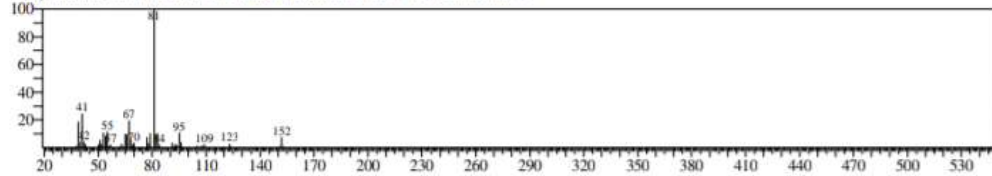
CompName:2,4-Decadienal, (E,E)- (CAS) trans,trans-2,4-Decadienal SS (E,E)-2,4-Decadienal SS 2-trans-4-trans-Decadienal SS tr



Hit#:2 Entry:40935 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10H16O CAS:2363-88-4 MolWeight:152 RetIndex:0

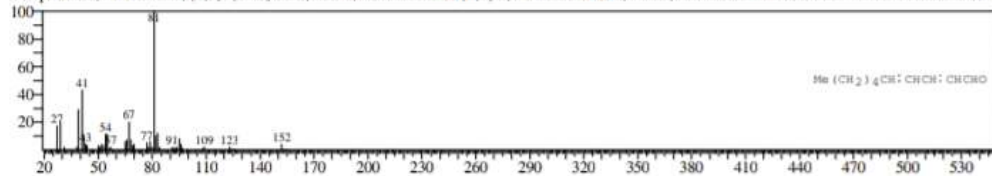
CompName:2,4 DECADIENAL,SS HEPTENYLACROLEIN SS 2,4-Decadienal SS



Hit#:3 Entry:40937 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10H16O CAS:25152-84-5 MolWeight:152 RetIndex:0

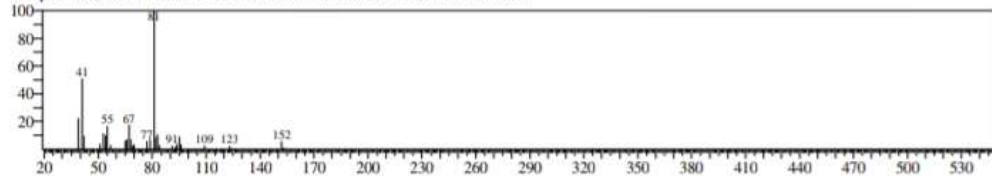
CompName:2,4-Decadienal, (E,E)- (CAS) trans,trans-2,4-Decadienal SS (E,E)-2,4-Decadienal SS 2,4-trans,trans-Decadienal SS 2-trans-4-trans-Decadienal SS tr



Hit#:4 Entry:40939 Library:WILEY7.LIB

SI:92 Formula:C10H16O CAS:2363-88-4 MolWeight:152 RetIndex:0

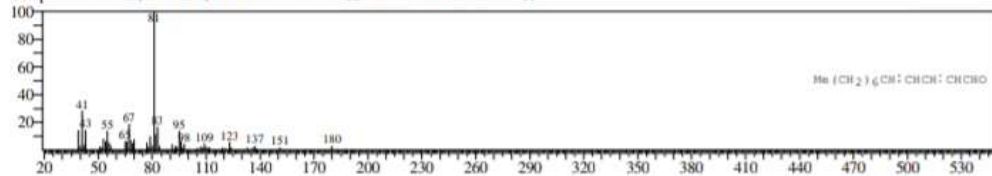
CompName:2,4 DECADIENAL,SS HEPTENYLACROLEIN SS 2,4-Decadienal SS



Hit#:5 Entry:71286 Library:WILEY7.LIB

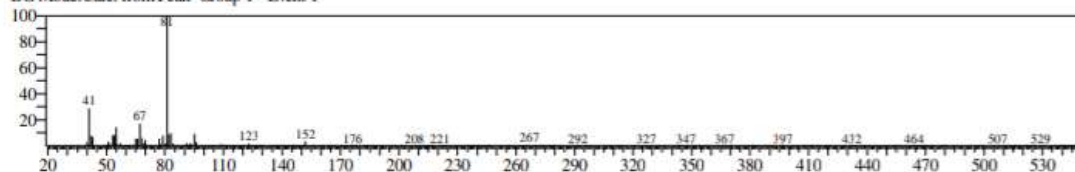
SI:92 Formula:C12H20O CAS:21662-16-8 MolWeight:180 RetIndex:0

CompName:TRANS,TRANS-2,4-DODECADIENAL,SS NONENYLACROLEIN SS

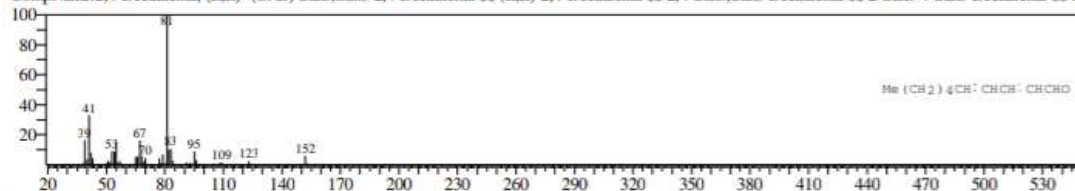


<< Target >>

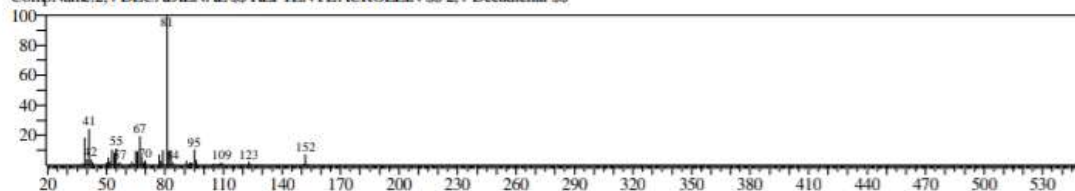
Line#: 2 R.Time: 6.770 (Scan#: 1355) MassPeaks: 276
RawMode: Averaged 6.765-6.775 (1354-1356) BasePeak: 81.00 (48458)
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



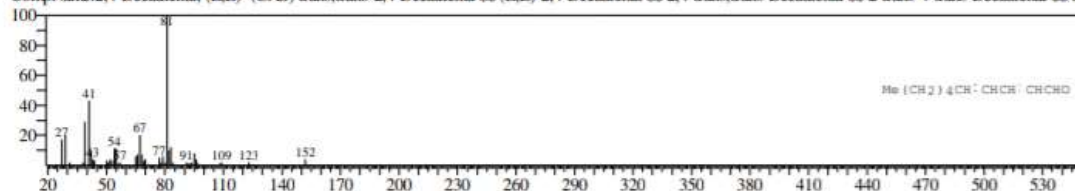
Hit#: 1 Entry: 40936 Library: WILEY7.LIB
SI: 97 Formula: C₁₀H₁₆O CAS: 25152-84-5 MolWeight: 152 RetIndex: 0
CompName: 2,4-Decadienal, (E,E)- (CAS) trans,trans-2,4-Decadienal SS (E,E)-2,4-Decadienal SS 2,4-trans,trans-Decadienal SS 2-trans-4-trans-Decadienal SS tr



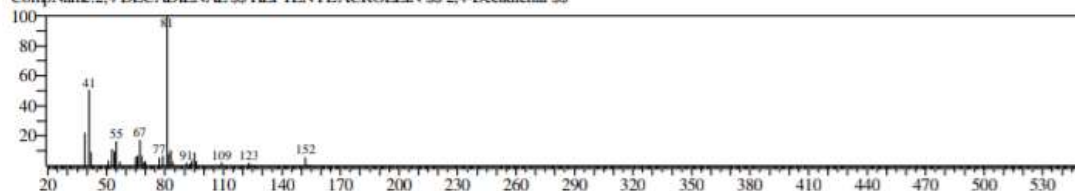
Hit#: 2 Entry: 40935 Library: WILEY7.LIB
SI: 95 Formula: C₁₀H₁₆O CAS: 2363-88-4 MolWeight: 152 RetIndex: 0
CompName: 2,4-DECADIENAL SS HEPTENYLACROLEIN SS 2,4-Decadienal SS



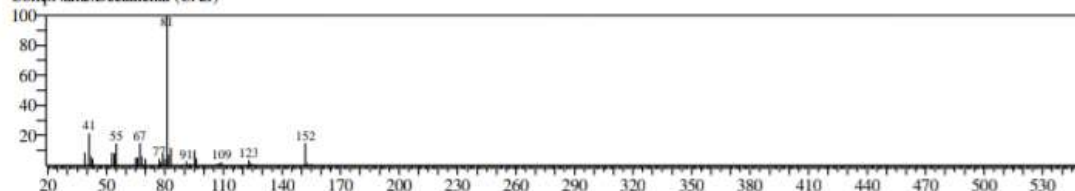
Hit#: 3 Entry: 40937 Library: WILEY7.LIB
SI: 94 Formula: C₁₀H₁₆O CAS: 25152-84-5 MolWeight: 152 RetIndex: 0
CompName: 2,4-DECADIENAL, (E,E)- (CAS) trans,trans-2,4-Decadienal SS (E,E)-2,4-Decadienal SS 2,4-trans,trans-Decadienal SS 2-trans-4-trans-Decadienal SS tr



Hit#: 4 Entry: 40939 Library: WILEY7.LIB
SI: 92 Formula: C₁₀H₁₆O CAS: 2363-88-4 MolWeight: 152 RetIndex: 0
CompName: 2,4-DECADIENAL SS HEPTENYLACROLEIN SS 2,4-Decadienal SS

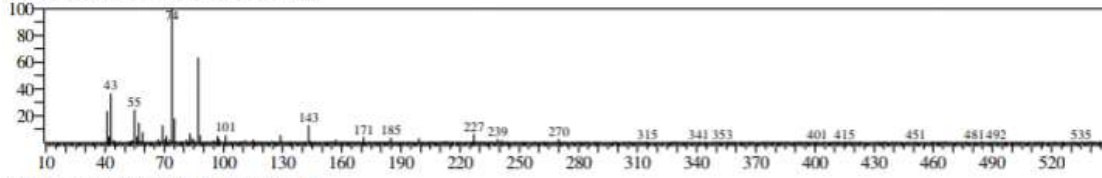


Hit#: 5 Entry: 39994 Library: WILEY7.LIB
SI: 92 Formula: C₁₀H₁₆O CAS: 30551-18-9 MolWeight: 152 RetIndex: 0
CompName: Decadienal (CAS)

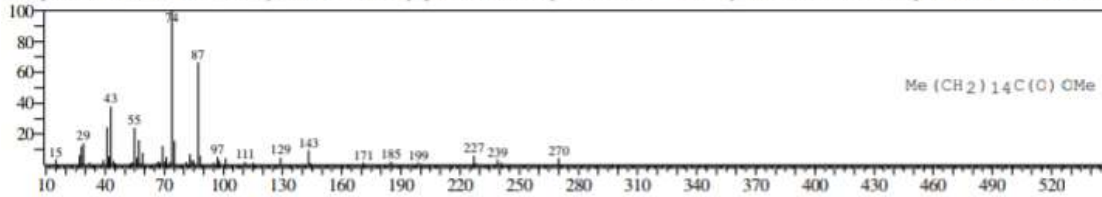


<< Target >>

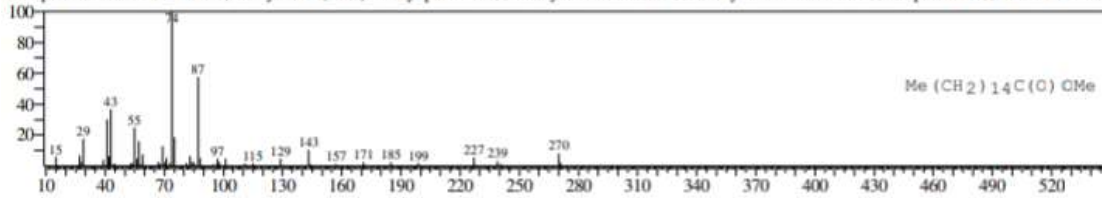
Line#:3 R.Time:14.000(Scan#:2801) MassPeaks:331
RawMode:Averaged 13.995-14.005(2800-2802) BasePeak:74.00(119684)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



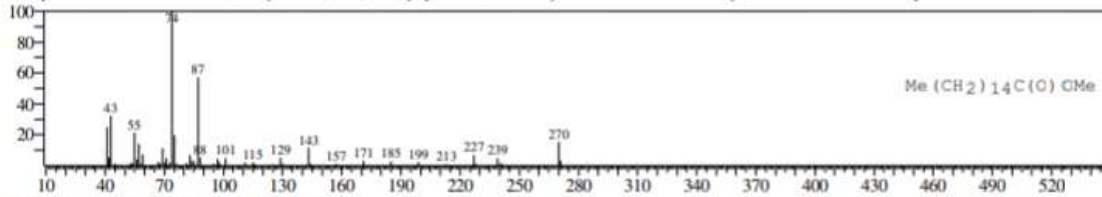
Hit#:1 Entry:180432 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 221



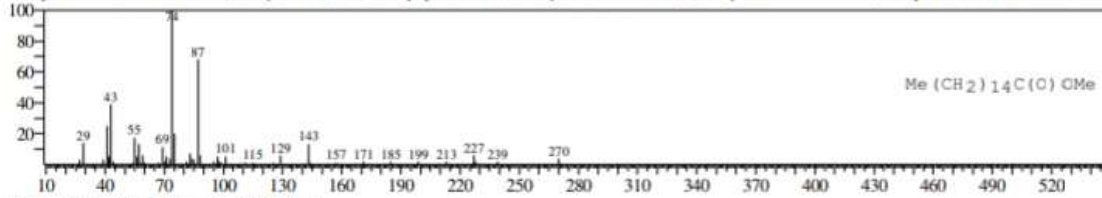
Hit#:2 Entry:180433 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 221



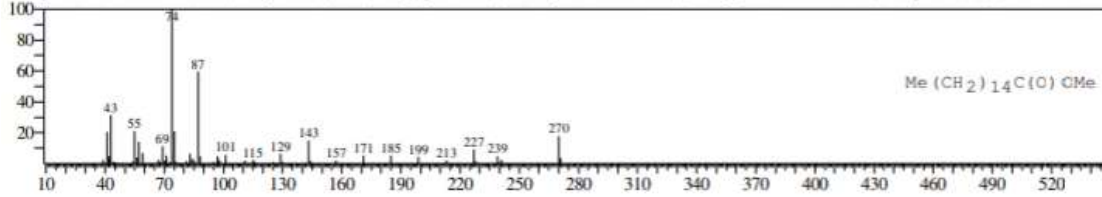
Hit#:3 Entry:180438 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 221



Hit#:4 Entry:180451 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 221

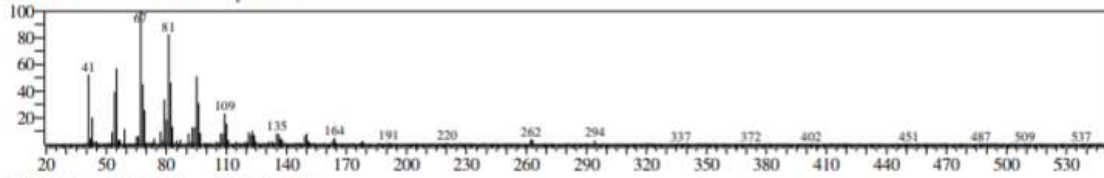


Hit#:5 Entry:180435 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 221

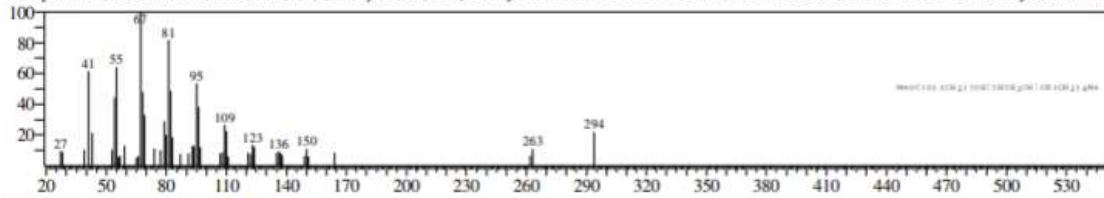


<< Target >>

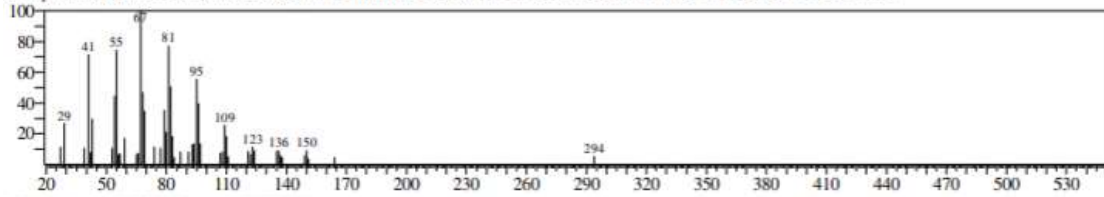
Line#:4 R. Time: 15.725(Scan#:3146) MassPeaks:323
RawMode:Averaged 15.720-15.730(3145-3147) BasePeak:67.00(188390)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



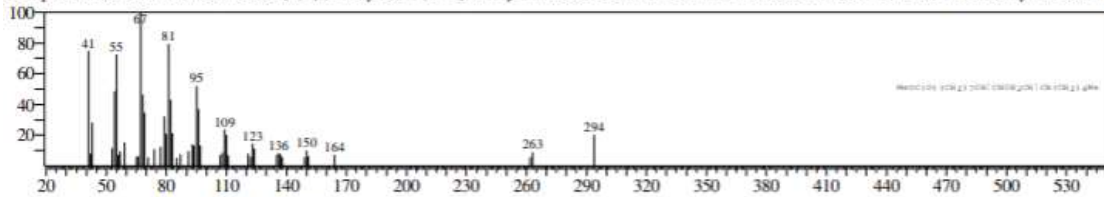
Hit#:1 Entry:205817 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C19 H34 O2 CAS:112-63-0 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS) Methyl linoleate SS METHYL CIS-9,CIS-12-OCTADECADIENOATE SS Methyl octadeca



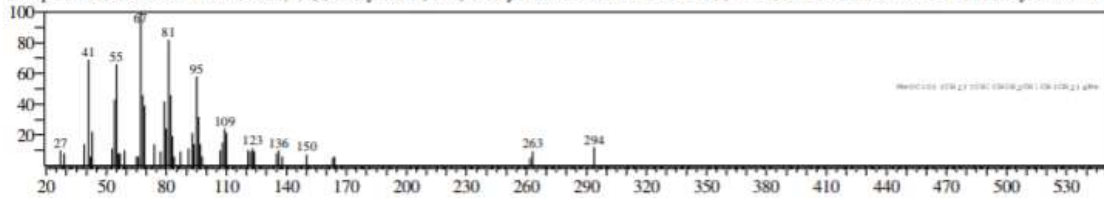
Hit#:2 Entry:205831 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C19 H34 O2 CAS:2462-85-3 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:OCTADECA-9,12-DIENOIC ACID METHYL ESTER SS 9,12-OCTADECADIENOIC ACID, METHYL ESTER SS



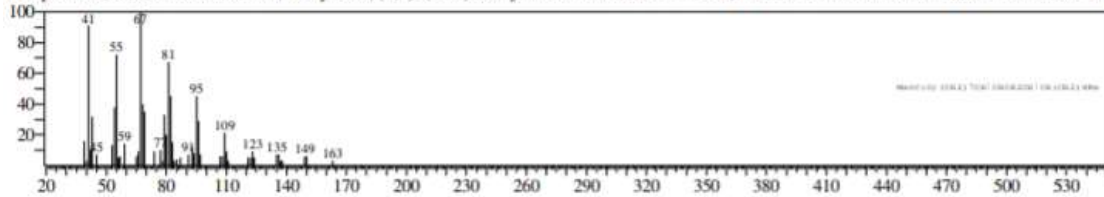
Hit#:3 Entry:205821 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H34 O2 CAS:112-63-0 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS) Methyl linoleate SS METHYL CIS-9,CIS-12-OCTADECADIENOATE SS Methyl octadeca



Hit#:4 Entry:205820 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H34 O2 CAS:112-63-0 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS) Methyl linoleate SS METHYL CIS-9,CIS-12-OCTADECADIENOATE SS Methyl octadeca



Hit#:5 Entry:205809 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H34 O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)- (CAS) Methyl linolelaidate SS METHYL T9, T12 OCTADECADIENOATE SS METHYL TRANS9

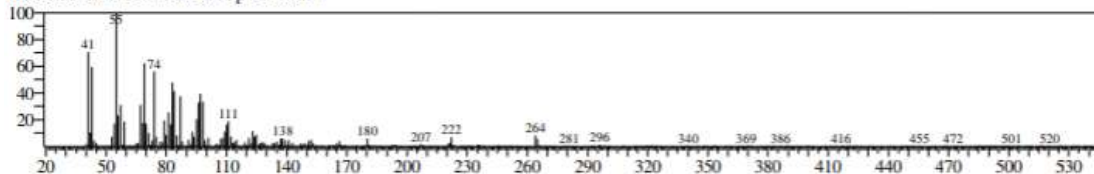


<< Target >>

Line#:5 R.Time:15.775(Scan#:3156) MassPeaks:355

RawMode:Averaged 15.770-15.780(3155-3157) BasePeak:55.05(59814)

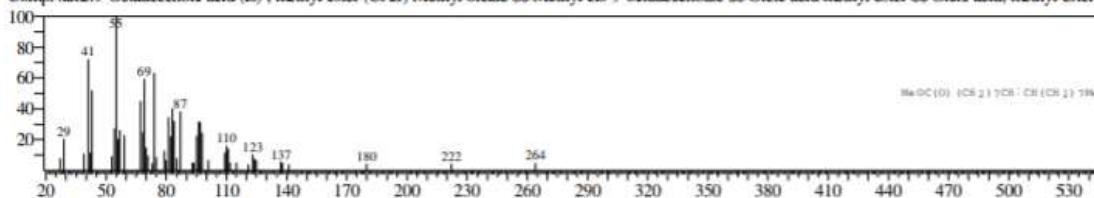
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:207865 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C19 H36 O2 CAS:112-62-9 MolWeight:296 RetIndex:0

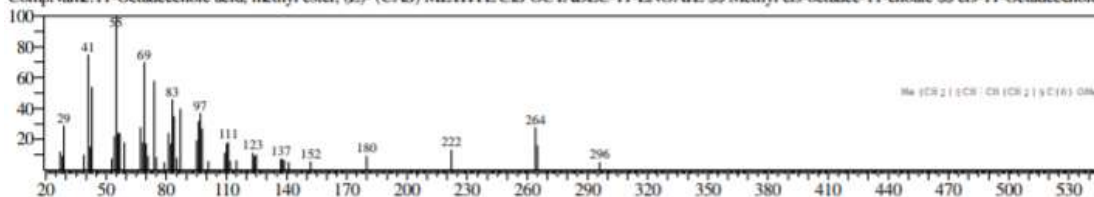
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) Methyl oleate SS Methyl cis-9-octadecenoate SS Oleic acid methyl ester SS Oleic acid, methyl ester S



Hit#:2 Entry:207531 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C19 H36 O2 CAS:1937-63-9 MolWeight:296 RetIndex:0

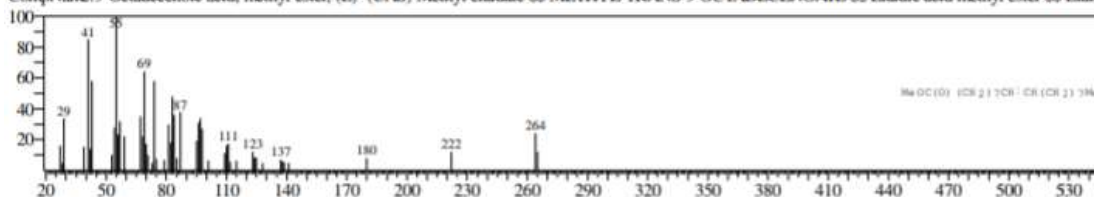
CompName:11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS) METHYL CIS OCTADEC-11-ENOATE SS Methyl cis-octadec-11-enoate SS cis-11-Octadecenoic a



Hit#:3 Entry:207872 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C19 H36 O2 CAS:1937-62-8 MolWeight:296 RetIndex:0

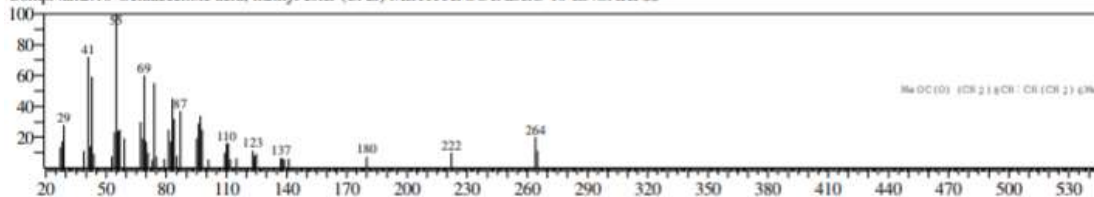
CompName:9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (CAS) Methyl elaidate SS METHYL-TRANS 9-OCTADECENOATE SS Elaidic acid methyl ester SS Elaidi



Hit#:4 Entry:207529 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C19 H36 O2 CAS:13481-95-3 MolWeight:296 RetIndex:0

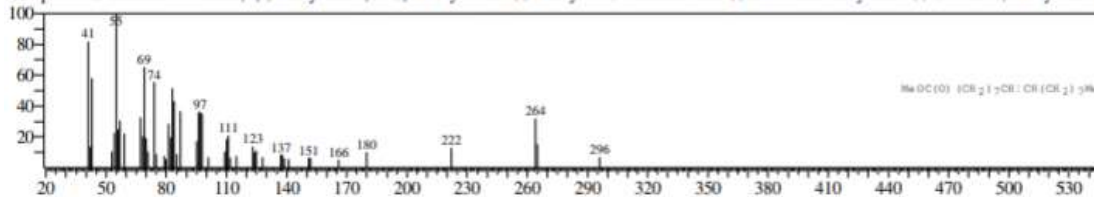
CompName:10-Octadecenoic acid, methyl ester (CAS) METHYL OCTADEC-10-ENOATE SS



Hit#:5 Entry:207863 Library:WILEY7.LIB

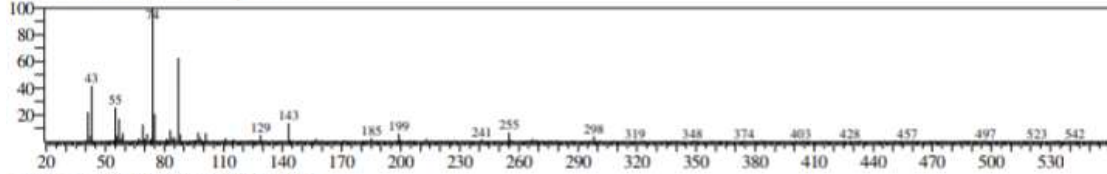
SI:93 Formula:C19 H36 O2 CAS:112-62-9 MolWeight:296 RetIndex:0

CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) Methyl oleate SS Methyl cis-9-octadecenoate SS Oleic acid methyl ester SS Oleic acid, methyl ester S

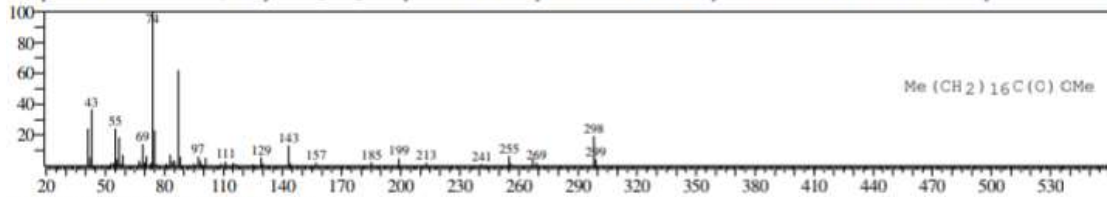


<< Target >>

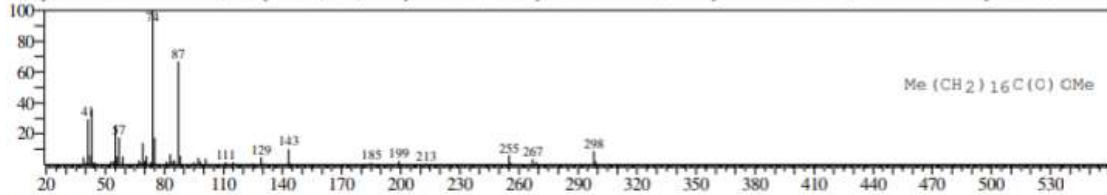
Line# 6 R.Time: 16.005 (Scan#: 3202) MassPeaks: 275
RawMode: Averaged 16.000-16.010 (3201-3203) BasePeak: 74.00 (37792)
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



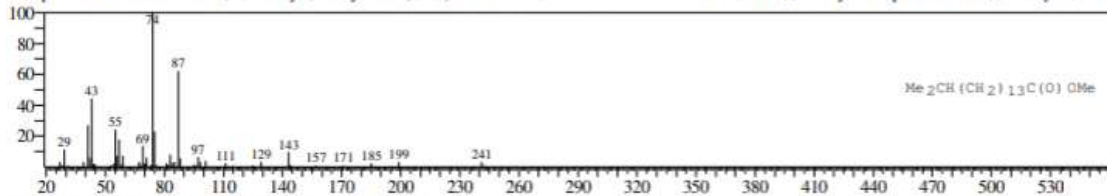
Hit#: 1 Entry: 209841 Library: WILEY7.LIB
SI: 95 Formula: C₁₉H₃₈O₂ CAS: 112-61-8 MolWeight: 298 RetIndex: 0
CompName: Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kemest



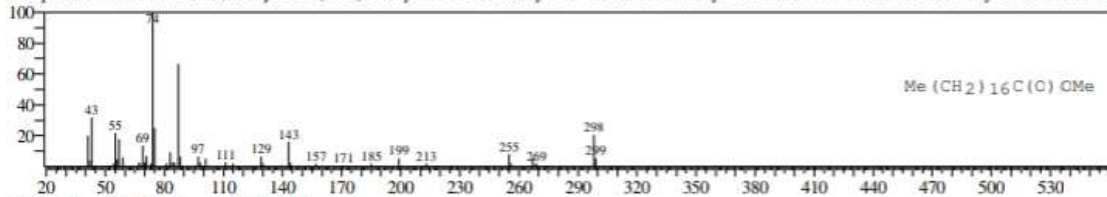
Hit#: 2 Entry: 209836 Library: WILEY7.LIB
SI: 95 Formula: C₁₉H₃₈O₂ CAS: 112-61-8 MolWeight: 298 RetIndex: 0
CompName: Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kemest



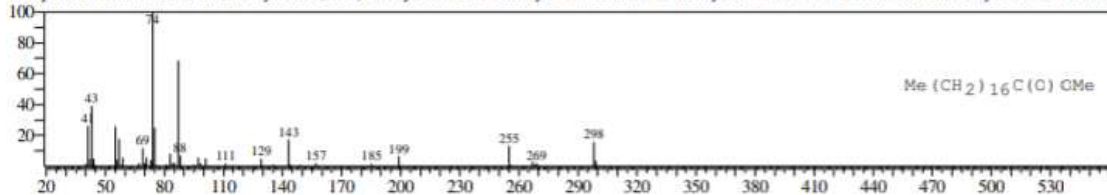
Hit#: 3 Entry: 195602 Library: WILEY7.LIB
SI: 94 Formula: C₁₈H₃₆O₂ CAS: 6929-04-0 MolWeight: 284 RetIndex: 0
CompName: Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester (CAS) METHYL-15-METHYL HEXADECANOATE SS Methyl isoheptadecanoate SS Methyl 15-met



Hit#: 4 Entry: 209848 Library: WILEY7.LIB
SI: 94 Formula: C₁₉H₃₈O₂ CAS: 112-61-8 MolWeight: 298 RetIndex: 0
CompName: Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kemest

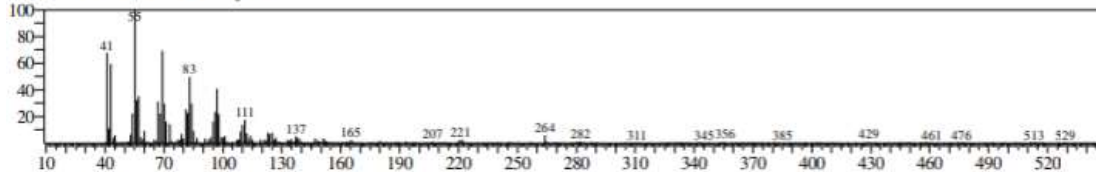


Hit#: 5 Entry: 209850 Library: WILEY7.LIB
SI: 94 Formula: C₁₉H₃₈O₂ CAS: 112-61-8 MolWeight: 298 RetIndex: 0
CompName: Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kemest

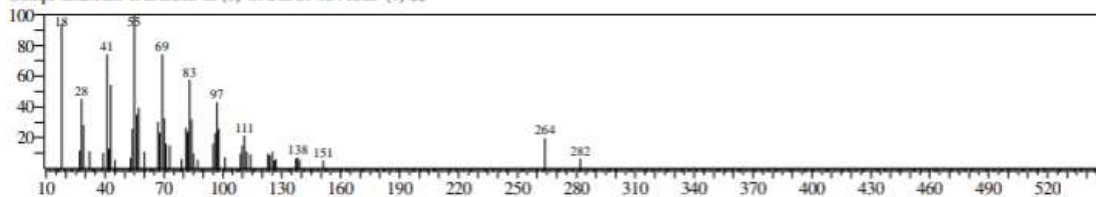


<< Target >>

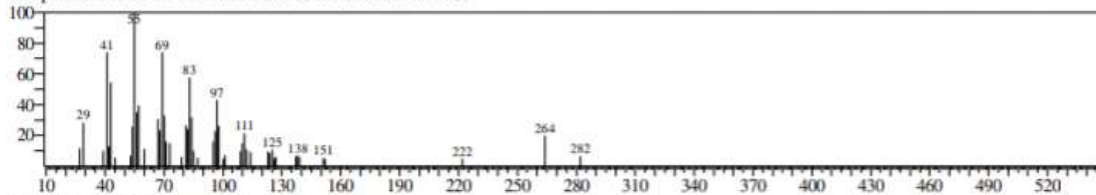
Line#:7 R.Time:16.125(Scan#:3226) MassPeaks:318
RawMode:Averaged 16.120-16.130(3225-3227) BasePeak:55.05(15934)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



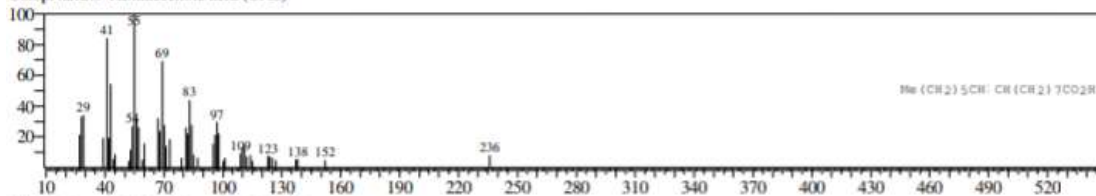
Hit#:1 Entry:192943 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C18 H34 O2 CAS:0-00-0 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:HEPTADECENE-(8)-CARBONIC ACID-(1) SS



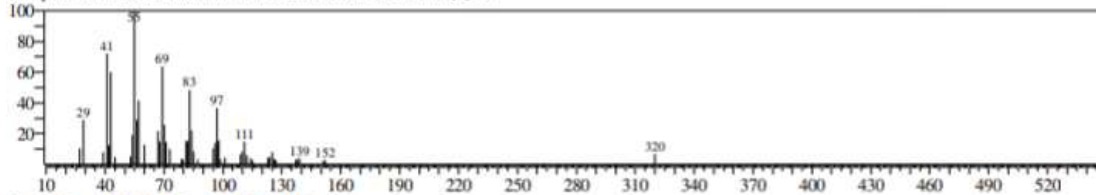
Hit#:2 Entry:193369 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C18 H34 O2 CAS:112-79-8 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:OCTADEC-9-ENOIC ACID SS ELAIDINSAEURE SS



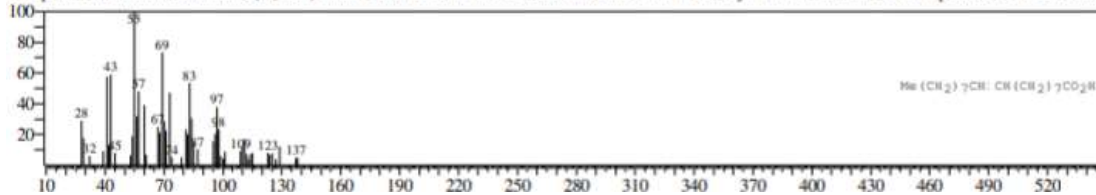
Hit#:3 Entry:161800 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C16 H30 O2 CAS:2091-29-4 MolWeight:254 RetIndex:0
CompName:9-Hexadecenoic acid (CAS)



Hit#:4 Entry:245560 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C22 H42 O2 CAS:112-86-7 MolWeight:338 RetIndex:0
CompName:Docos-13-enoic acid SS 13-DOCOSENOIC ACID, (Z)- SS



Hit#:5 Entry:193349 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C18 H34 O2 CAS:112-80-1 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) Oleic acid SS Red oil SS Oelsaure SS Oleine 7503 SS Pamölyn 100 SS Emersol 211 SS Vopcolene 27 SS cis-Oleic

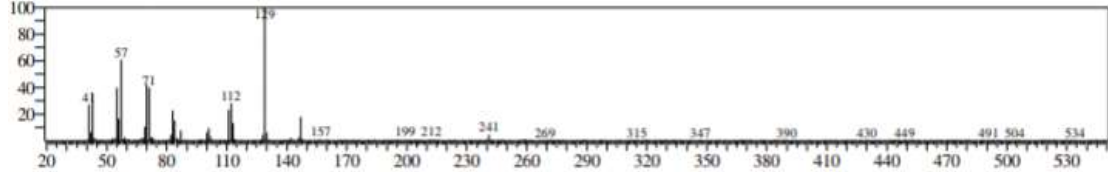


<< Target >>

Line# 8 R.Time: 18.480(Scan#: 3697) MassPeaks: 293

RawMode: Averaged 18.475-18.485(3696-3698) BasePeak: 129.05(40318)

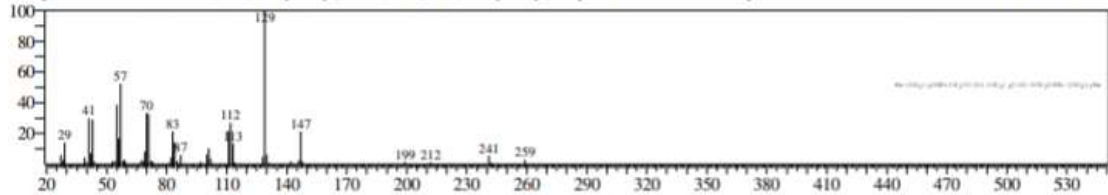
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#1 Entry: 268043 Library: WILEY7.LIB

SI:97 Formula: C₂₂H₄₂O₄ CAS: 103-23-1 MolWeight: 370 RetIndex: 0

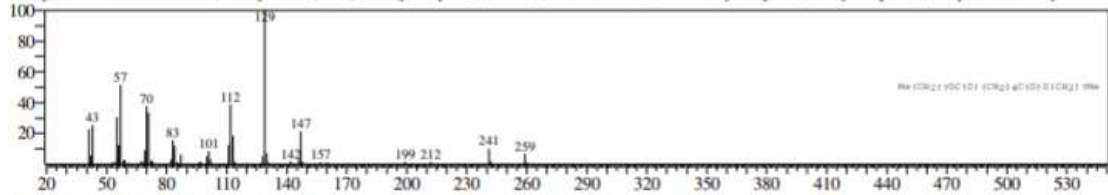
CompName: Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS) Bis(2-ethylhexyl) adipate SS Sicol 250 SS Adipol 2EH SS Flexol A26 SS Vestinol OA SS Trufflex D



Hit#2 Entry: 268036 Library: WILEY7.LIB

SI:94 Formula: C₂₂H₄₂O₄ CAS: 123-79-5 MolWeight: 370 RetIndex: 0

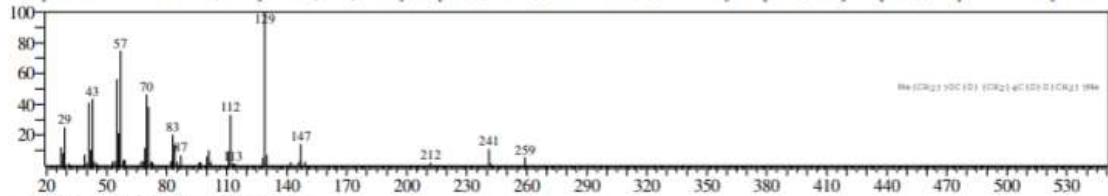
CompName: Hexanedioic acid, dioctyl ester (CAS) Dioctyl adipate SS DOA SS Adimoll DO SS Di-n-octyl adipate SS Octyl adipate SS Adipic acid dioctyl ester 5



Hit#3 Entry: 268033 Library: WILEY7.LIB

SI:94 Formula: C₂₂H₄₂O₄ CAS: 123-79-5 MolWeight: 370 RetIndex: 0

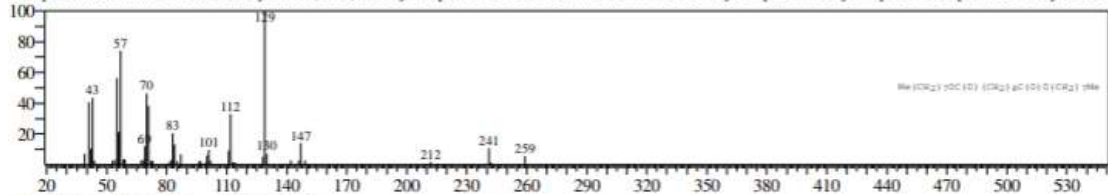
CompName: Hexanedioic acid, dioctyl ester (CAS) Dioctyl adipate SS DOA SS Adimoll DO SS Di-n-octyl adipate SS Octyl adipate SS Adipic acid dioctyl ester 5



Hit#4 Entry: 268038 Library: WILEY7.LIB

SI:94 Formula: C₂₂H₄₂O₄ CAS: 123-79-5 MolWeight: 370 RetIndex: 0

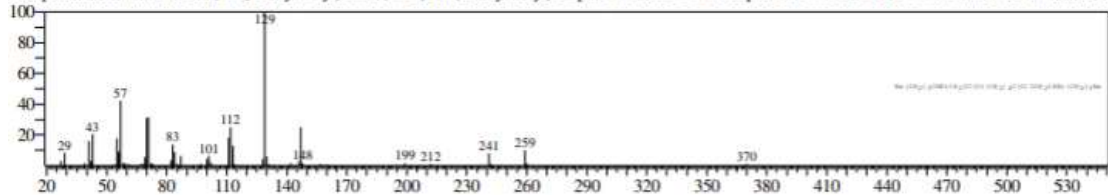
CompName: Hexanedioic acid, dioctyl ester (CAS) Dioctyl adipate SS DOA SS Adimoll DO SS Di-n-octyl adipate SS Octyl adipate SS Adipic acid dioctyl ester 5



Hit#5 Entry: 268044 Library: WILEY7.LIB

SI:91 Formula: C₂₂H₄₂O₄ CAS: 103-23-1 MolWeight: 370 RetIndex: 0

CompName: Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS) Bis(2-ethylhexyl) adipate SS Sicol 250 SS Adipol 2EH SS Flexol A26 SS Vestinol OA SS Trufflex D

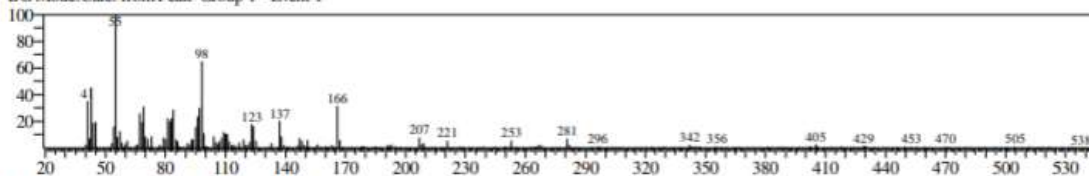


<< Target >>

Line#:9 R.Time:20.295(Scan#:4060) MassPeaks:354

RawMode:Averaged 20.290-20.300(4059-4061) BasePeak:55.05(9428)

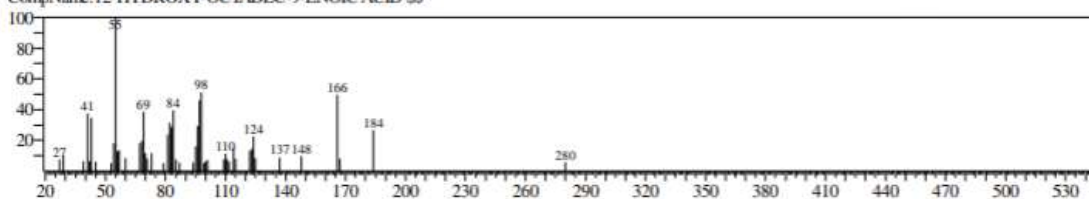
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:209401 Library:WILEY7.LIB

SE:82 Formula:C18 H34 O3 CAS:7431-95-0 MolWeight:298 RetIndex:0

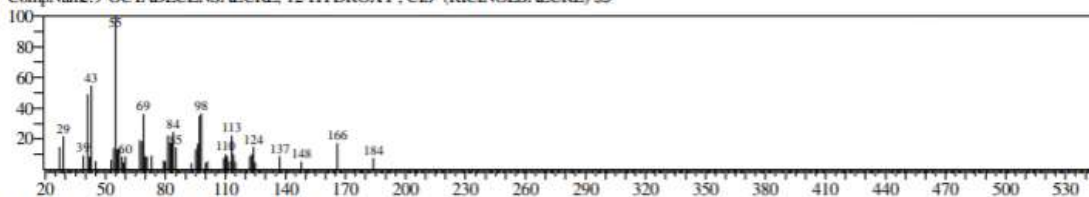
CompName:12-HYDROXY-OCTADEC-9-ENOIC ACID SS



Hit#:2 Entry:209403 Library:WILEY7.LIB

SE:81 Formula:C18 H34 O3 CAS:141-22-0 MolWeight:298 RetIndex:0

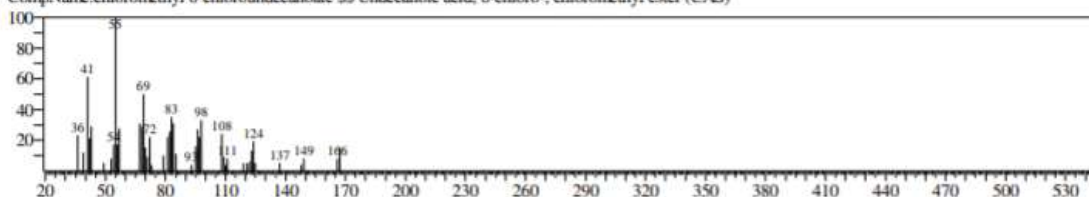
CompName:9-OCTADECENSAEURE, 12-HYDROXY-, CIS- (RICINOLSAEURE) SS



Hit#:3 Entry:176902 Library:WILEY7.LIB

SE:81 Formula:C12 H22 Cl2 O2 CAS:80418-94-6 MolWeight:268 RetIndex:0

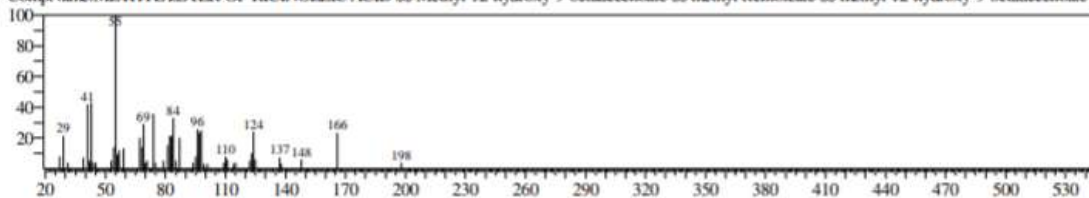
CompName:chloromethyl 8-chloroundecanoate SS Undecanoic acid, 8-chloro-, chloromethyl ester (CAS)



Hit#:4 Entry:223327 Library:WILEY7.LIB

SE:81 Formula:C19 H36 O3 CAS:141-24-2 MolWeight:312 RetIndex:0

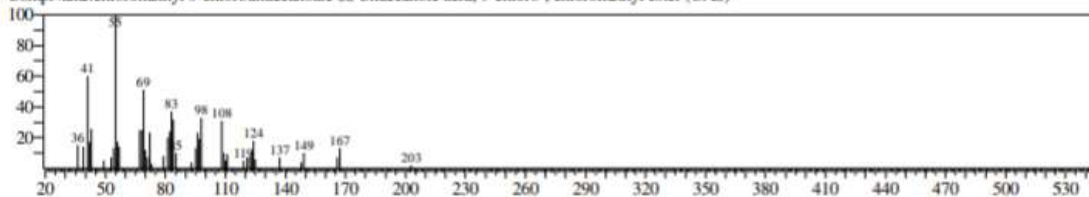
CompName:METHYL ESTER OF RICINOLEIC ACID SS Methyl 12-hydroxy-9-octadecenoate SS methyl ricinoleate SS methyl 12-hydroxy-9-octadecenoate (G



Hit#:5 Entry:176903 Library:WILEY7.LIB

SE:81 Formula:C12 H22 Cl2 O2 CAS:80418-95-7 MolWeight:268 RetIndex:0

CompName:chloromethyl 9-chloroundecanoate SS Undecanoic acid, 9-chloro-, chloromethyl ester (CAS)



2. HASIL GC-MS T486

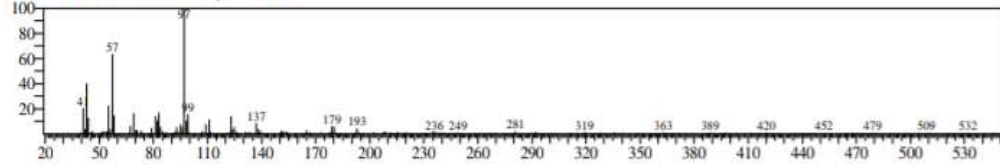
Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:11.675(Scan#:2336) MassPeaks:296

RawMode:Averaged 11.670-11.680(2335-2337) BasePeak:97.05(5471)

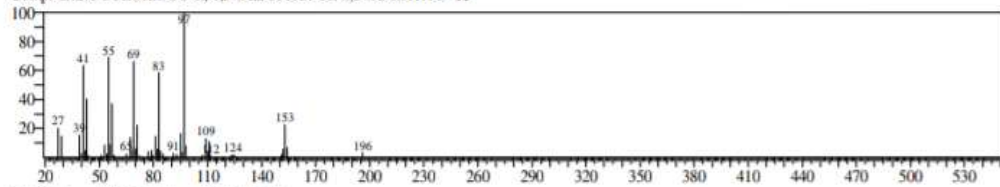
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:90657 Library:WILEY7.LIB

SI:76 Formula:C14 H28 CAS:0-00-0 MolWeight:196 RetIndex:0

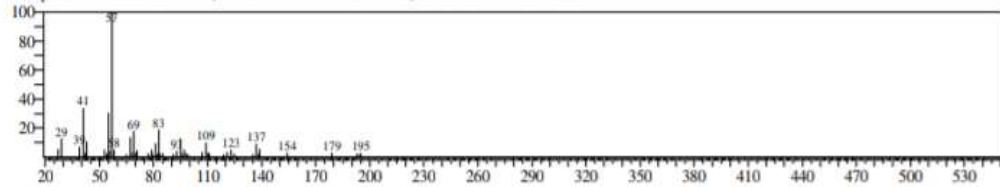
CompName:CYCLOHEXANE, 1,5-DIISOPROPYL-2,3-DIMETHYL- SS



Hit#:2 Entry:146569 Library:WILEY7.LIB

SI:76 Formula:C13 H23 N O3 CAS:0-00-0 MolWeight:241 RetIndex:0

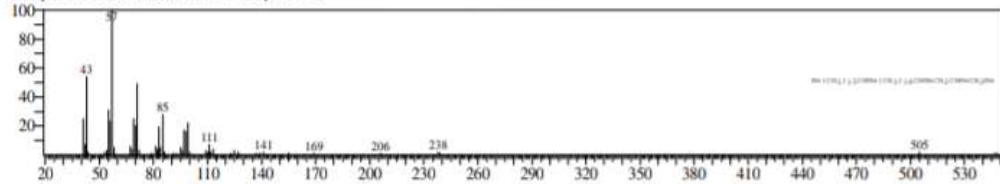
CompName:4-TERT-BUTYL-2-(1-METHYL-2-NITRO-ETHYL)-CYCLOHEXANONE SS



Hit#:3 Entry:329363 Library:WILEY7.LIB

SI:75 Formula:C43 H88 CAS:55162-61-3 MolWeight:605 RetIndex:0

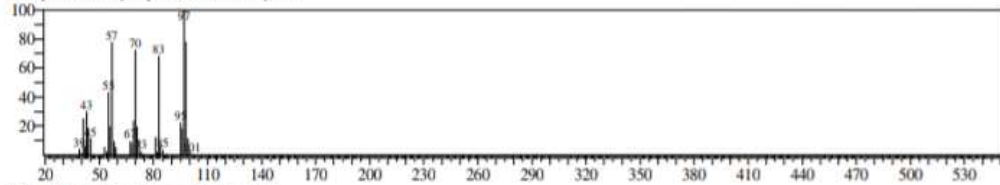
CompName:Tetracontane, 3,5,24-trimethyl- (CAS)



Hit#:4 Entry:5626 Library:WILEY7.LIB

SI:75 Formula:C5 H10 SI CAS:54077-65-5 MolWeight:98 RetIndex:0

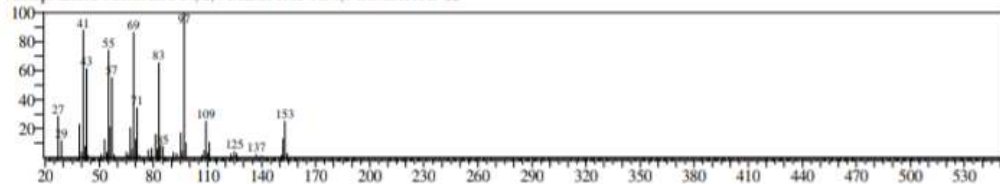
CompName:Silacyclopent-3-ene, 3-methyl- SS



Hit#:5 Entry:90669 Library:WILEY7.LIB

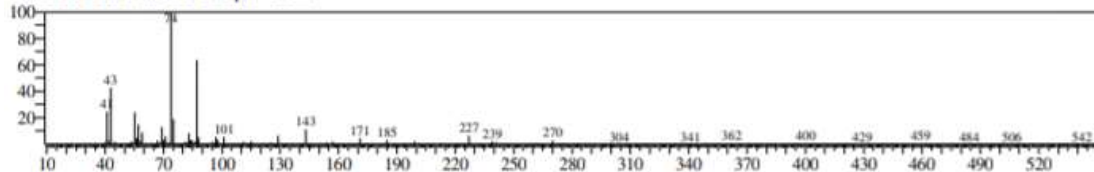
SI:75 Formula:C14 H28 CAS:0-00-0 MolWeight:196 RetIndex:0

CompName:CYCLOHEXAN, 2,4-DIISOPROPYL-1,1-DIMETHYL- SS

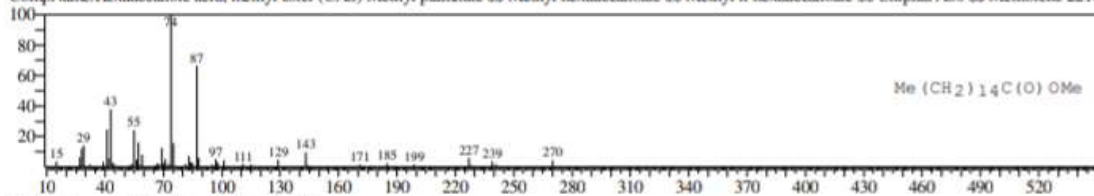


<< Target >>

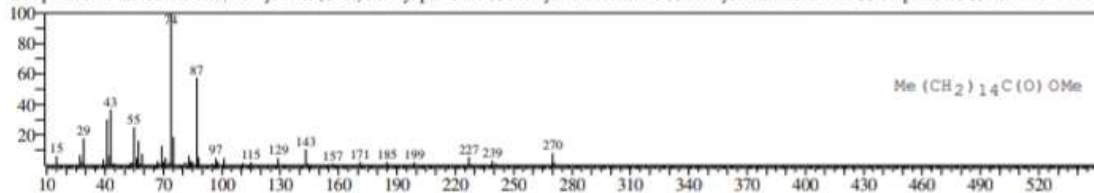
Line#:2 R.Time:14.000(Scan#:2801) MassPeaks:283
RawMode:Averaged 13.995-14.005(2800-2802) BasePeak:74.00(17118)
BG Mode:Calc. from Peak - Group 1 - Event 1



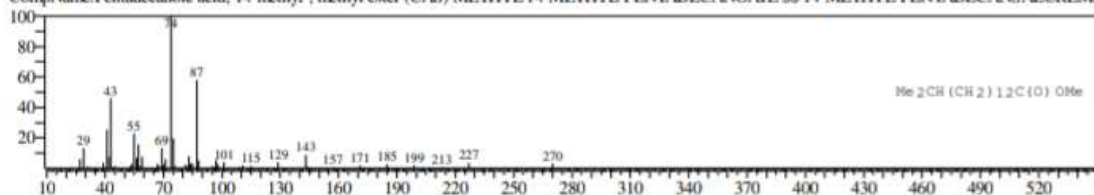
Hit#:1 Entry:180432 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 2216



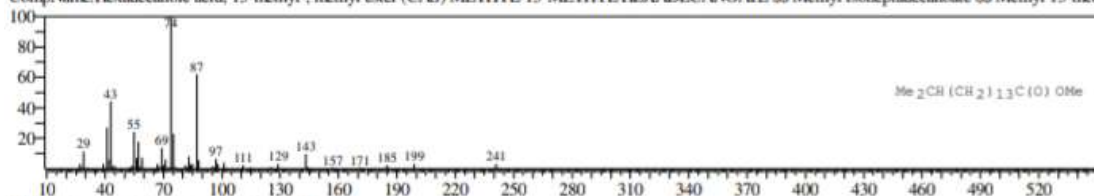
Hit#:2 Entry:180433 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 2216



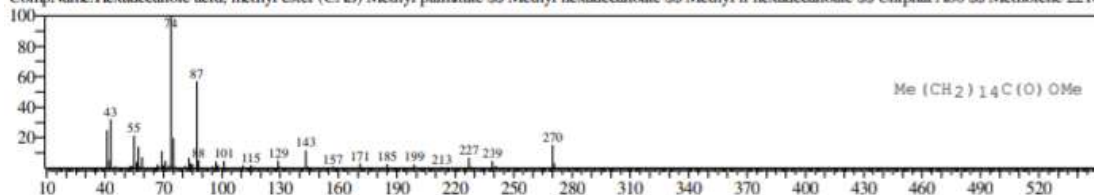
Hit#:3 Entry:180473 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C17 H34 O2 CAS:5129-60-2 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester (CAS) METHYL 14-METHYL-PENTADECANOATE SS 14-METHYL-PENTADECANSAEUREME



Hit#:4 Entry:195602 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C18 H36 O2 CAS:6929-04-0 MolWeight:284 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester (CAS) METHYL-15-METHYL HEXADECANOATE SS Methyl isoheptadecanoate SS Methyl 15-methyl

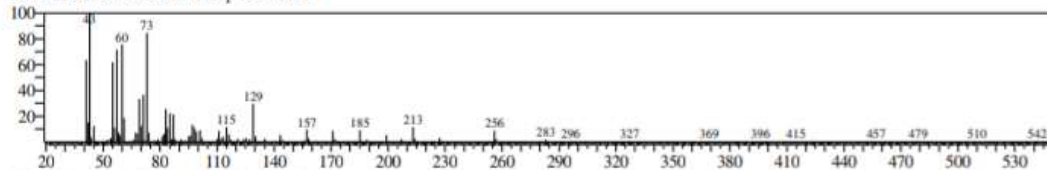


Hit#:5 Entry:180438 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 2216

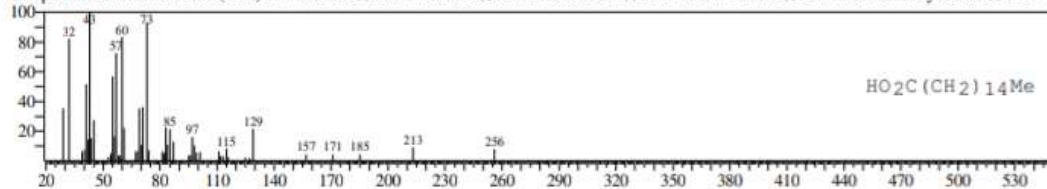


<< target >>

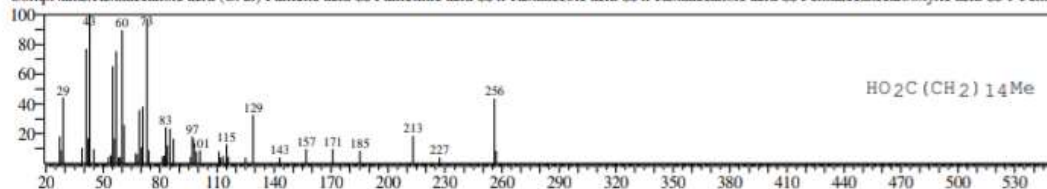
Line#:3 R.Time:14.345(Scan#:2870) MassPeaks:309
RawMode:Averaged 14.340-14.350(2869-2871) BasePeak:43.00(6082)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



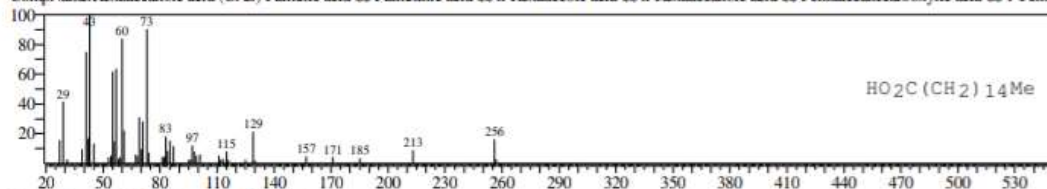
Hit#:1 Entry:164462 Library:WILEY7.LIB
SI-94 Formula:C16 H32 O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid SS Palmitinic acid SS n-Hexadecanoic acid SS n-Hexadecanoic acid SS Pentadecanecarboxylic acid SS 1-Penta



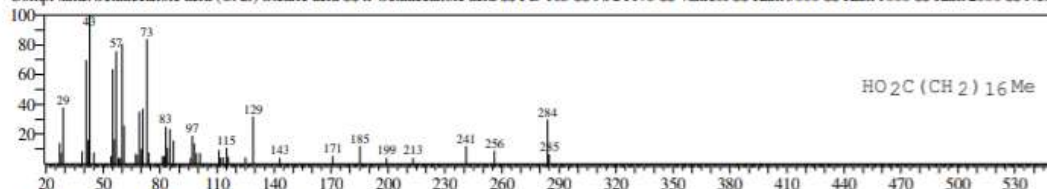
Hit#:2 Entry:164461 Library:WILEY7.LIB
SI-94 Formula:C16 H32 O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid SS Palmitinic acid SS n-Hexadecanoic acid SS n-Hexadecanoic acid SS Pentadecanecarboxylic acid SS 1-Penta



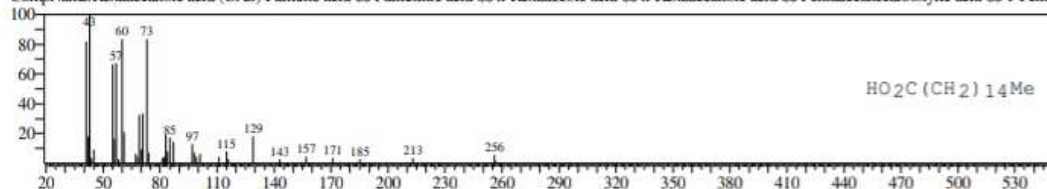
Hit#:3 Entry:164459 Library:WILEY7.LIB
SI-94 Formula:C16 H32 O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid SS Palmitinic acid SS n-Hexadecanoic acid SS n-Hexadecanoic acid SS Pentadecanecarboxylic acid SS 1-Penta



Hit#:4 Entry:195568 Library:WILEY7.LIB
SI-93 Formula:C18 H36 O2 CAS:57-11-4 MolWeight:284 RetIndex:0
CompName:Octadecanoic acid (CAS) Stearic acid SS n-Octadecanoic acid SS PD 185 SS NAA 173 SS Vanicol SS Kam 3000 SS Kam 1000 SS Kam 2000 SS Neo-

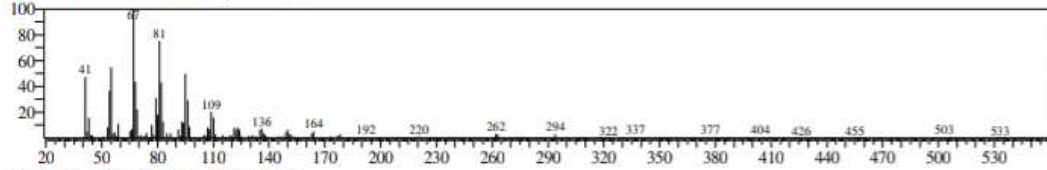


Hit#:5 Entry:164469 Library:WILEY7.LIB
SI-93 Formula:C16 H32 O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid SS Palmitinic acid SS n-Hexadecanoic acid SS n-Hexadecanoic acid SS Pentadecanecarboxylic acid SS 1-Penta

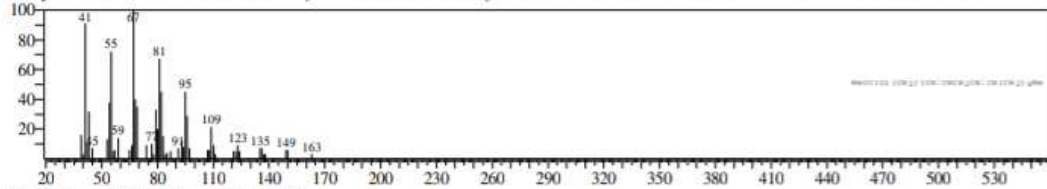


<< Target >>

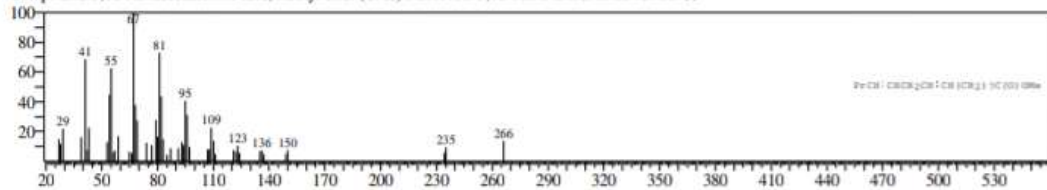
Line#:4 R.Time:15.725(Scan#:3146) MassPeaks:321
RawMode:Averaged 15.720-15.730(3145-3147) BasePeak:67.00(20162)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



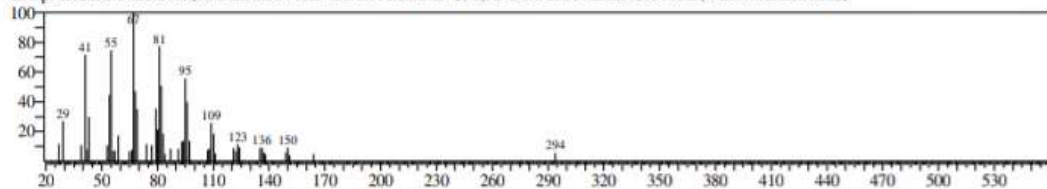
Hit#:1 Entry:205809 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C19 H34 O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)- (CAS) Methyl linolealdate SS METHYL T9, T12 OCTADECADIENOATE SS METHYL TRANS9,



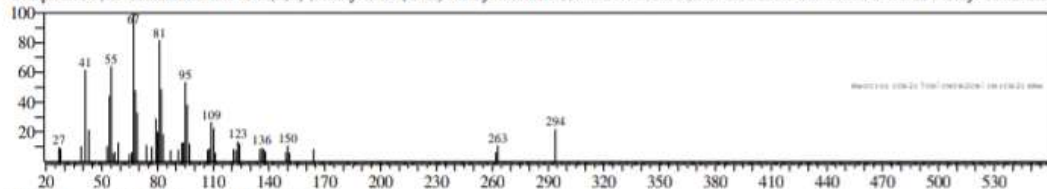
Hit#:2 Entry:175438 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C17 H30 O2 CAS:2462-80-8 MolWeight:266 RetIndex:0
CompName:9,12-Hexadecadienoic acid, methyl ester (CAS) METHYL-9,12-HEXADECADIEENOATE SS



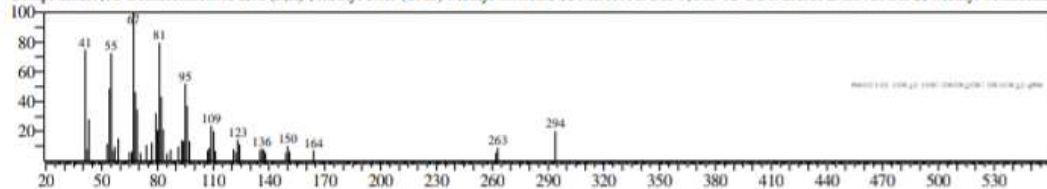
Hit#:3 Entry:205831 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C19 H34 O2 CAS:2462-85-3 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:OCTADECA-9,12-DIENOIC ACID METHYL ESTER SS 9,12-OCTADECADIENOIC ACID, METHYL ESTER SS



Hit#:4 Entry:205817 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C19 H34 O2 CAS:112-63-0 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS) Methyl linoleate SS METHYL CIS-9,CIS-12-OCTADECADIENOATE SS Methyl octadecadi

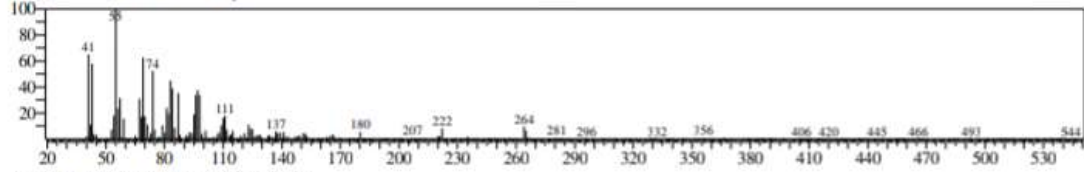


Hit#:5 Entry:205821 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C19 H34 O2 CAS:112-63-0 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS) Methyl linoleate SS METHYL CIS-9,CIS-12-OCTADECADIENOATE SS Methyl octadecadi

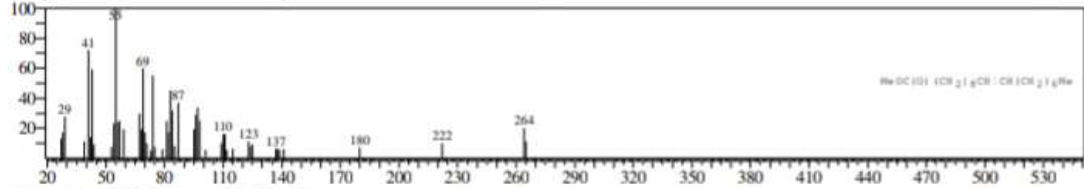


<< Target >>

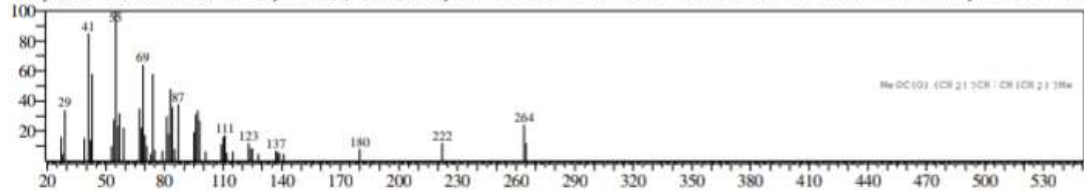
Line#:5 R.Time:15.775(Scan#:3156) MassPeaks:337
RawMode:Averaged 15.770-15.780(3155-3157) BasePeak:55.05(16463)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



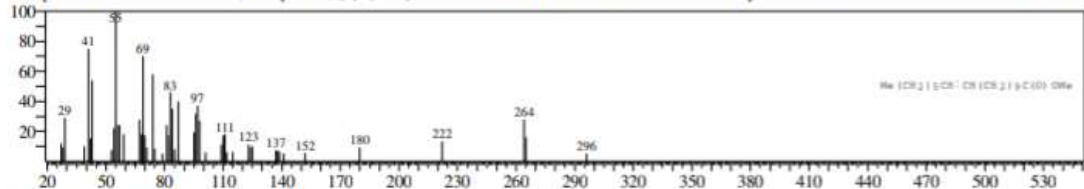
Hit#1 Entry:207529 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C19 H36 O2 CAS:13481-95-3 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:10-Octadecenoic acid, methyl ester (CAS) METHYL OCTADEC-10-ENOATE SS



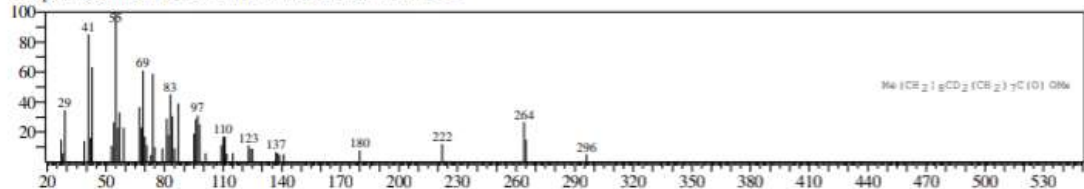
Hit#2 Entry:207872 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C19 H36 O2 CAS:1937-62-8 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (CAS) Methyl elaidate SS METHYL-TRANS 9-OCTADECENOATE SS Elaidic acid methyl ester SS Elaidic



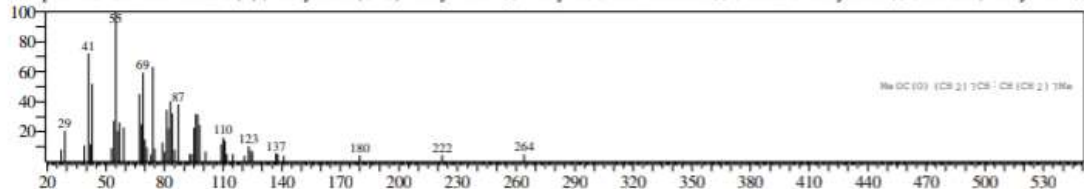
Hit#3 Entry:207531 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C19 H36 O2 CAS:1937-63-9 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS) METHYL CIS OCTADEC-11-ENOATE SS Methyl cis-octadec-11-enoate SS cis-11-Octadecenoic a



Hit#4 Entry:209885 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C19 H36 D2 O2 CAS:19905-64-7 MolWeight:298 RetIndex:0
CompName:METHYL 9,9-DIDEUTERO-OCTADECANOATE SS

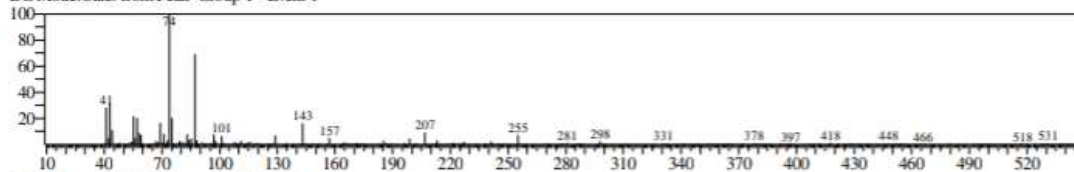


Hit#5 Entry:207865 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C19 H36 O2 CAS:112-62-9 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) Methyl oleate SS Methyl cis-9-octadecenolate SS Oleic acid methyl ester SS Oleic acid, methyl ester SS



<< Target >>

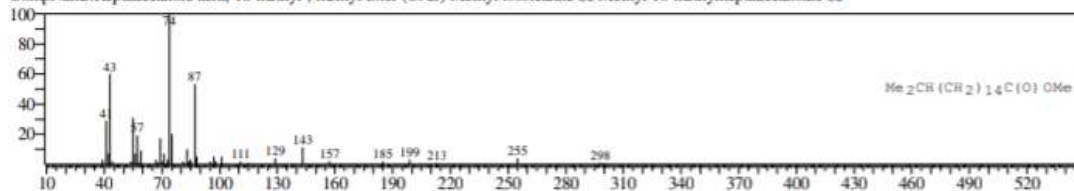
Line#:6 R.Time:16.005(Scan#:3202) MassPeaks:314
RawMode:Averaged 16.000-16.010(3201-3203) BasePeak:74.00(5608)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:209916 Library:WILEY7.LIB

SI:91 Formula:C19 H38 O2 CAS:5129-61-3 MolWeight:298 RetIndex:0

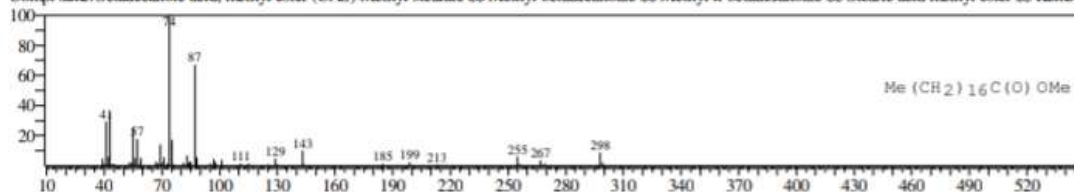
CompName:Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester (CAS) Methyl isostearate SS Methyl 16-methylheptadecanoate SS



Hit#:2 Entry:209836 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0

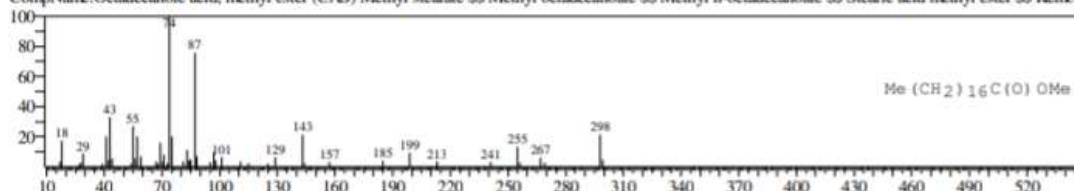
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kemest



Hit#:3 Entry:209838 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0

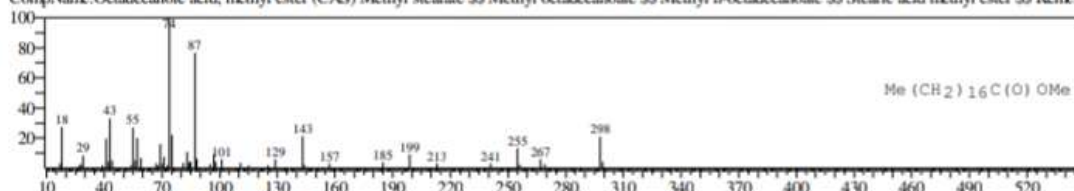
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kemest



Hit#:4 Entry:209842 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0

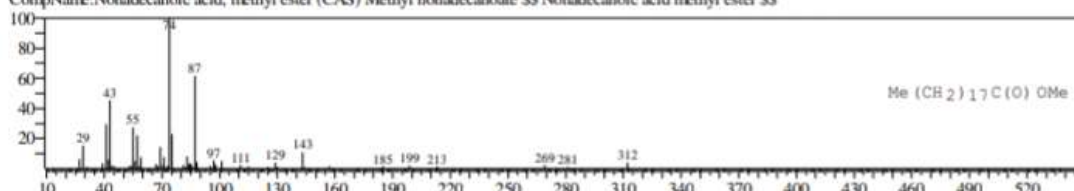
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kemest



Hit#:5 Entry:223360 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C20 H40 O2 CAS:1731-94-8 MolWeight:312 RetIndex:0

CompName:Nonadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl nonadecanoate SS Nonadecanoic acid methyl ester SS

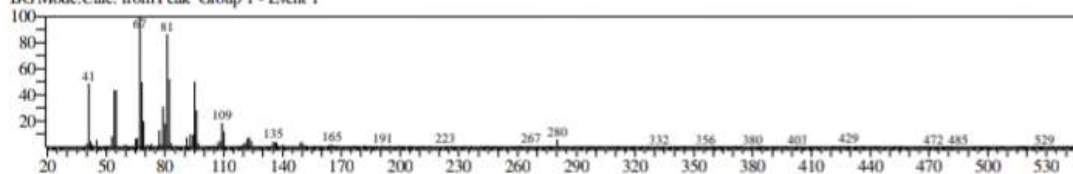


<< target >>

Line#: 7 R.Time:16.085(Scan#:3218) MassPeaks:299

RawMode:Averaged 16.080-16.090(3217-3219) BasePeak:67.00(9744)

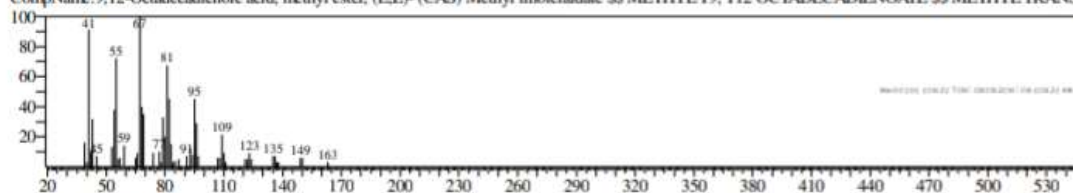
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#1 Entry:205809 Library:WILEY7.LIB

SI:89 Formula:C19 H34 O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0

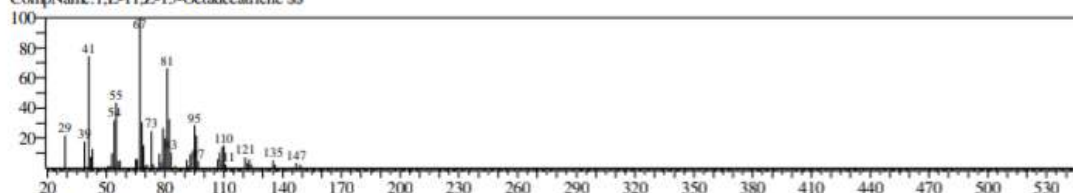
CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)- (CAS) Methyl linoleate SS METHYL T9, T12 OCTADECADIENOATE SS METHYL TRANS9



Hit#2 Entry:154898 Library:WILEY7.LIB

SI:89 Formula:C18 H32 CAS:80625-36-1 MolWeight:248 RetIndex:0

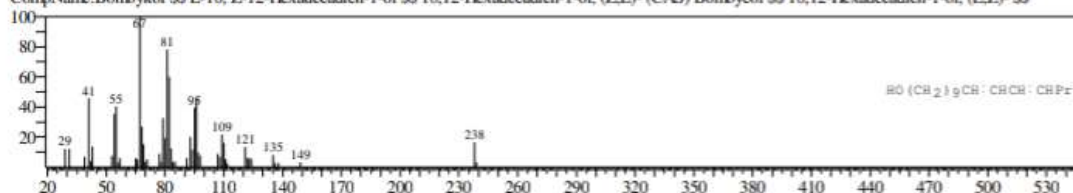
CompName:1,E-11,Z-13-Octadecatriene SS



Hit#3 Entry:143860 Library:WILEY7.LIB

SI:88 Formula:C16 H30 O CAS:765-17-3 MolWeight:238 RetIndex:0

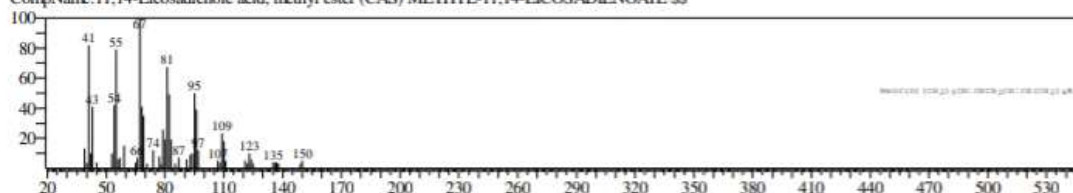
CompName:Bombykol SS E-10, Z-12-Hexadecadien-1-ol SS 10,12-Hexadecadien-1-ol, (Z,E)- (CAS) Bombykol SS 10,12-Hexadecadien-1-ol, (E,Z)- SS



Hit#4 Entry:232178 Library:WILEY7.LIB

SI:88 Formula:C21 H38 O2 CAS:2463-02-7 MolWeight:322 RetIndex:0

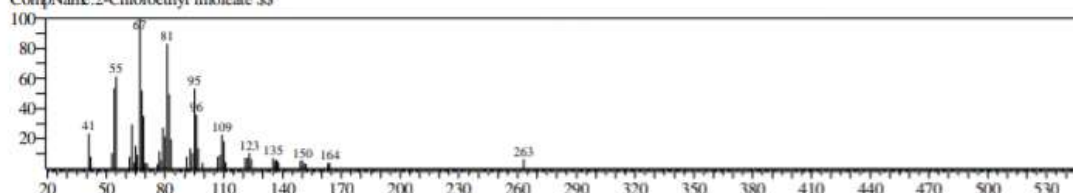
CompName:11,14-Eicosadienoic acid, methyl ester (CAS) METHYL-11,14-EICOSADIENOATE SS



Hit#5 Entry:248179 Library:WILEY7.LIB

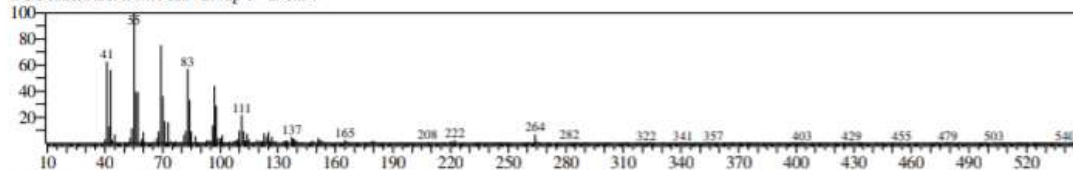
SI:88 Formula:C20 H35 Cl O2 CAS:25525-76-2 MolWeight:342 RetIndex:0

CompName:2-Chloroethyl linoleate SS

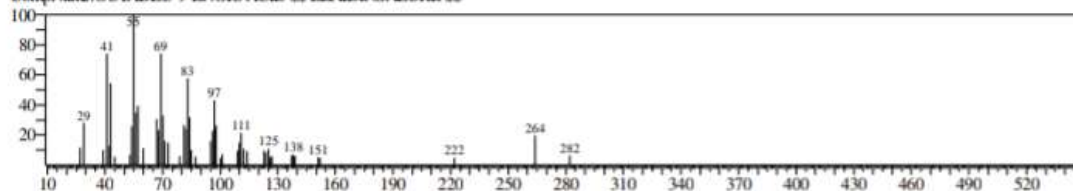


<< Target >>

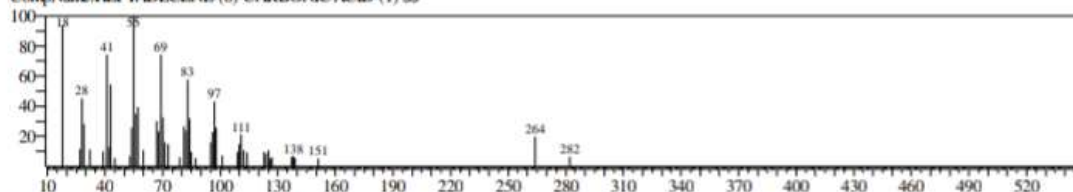
Line#:8 R_Time:16.125(Scan#:3226) MassPeaks:338
RawMode:Averaged 16.120-16.130(3225-3227) BasePeak:55.05(20788)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



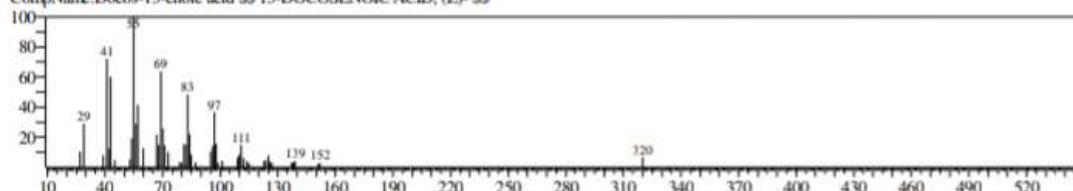
Hit#:1 Entry:193369 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C18 H34 O2 CAS:112-79-8 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:OCTADEC-9-ENOIC ACID SS ELAIDINSAEURE SS



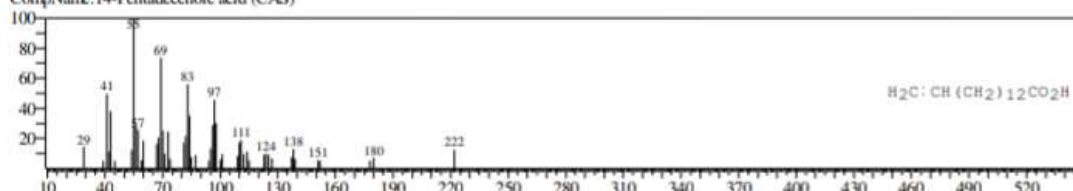
Hit#:2 Entry:192943 Library:WILEY7.LIB
SI:91 Formula:C18 H34 O2 CAS:0-00-0 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:HEPTADECENE-(8)-CARBONIC ACID-(1) SS



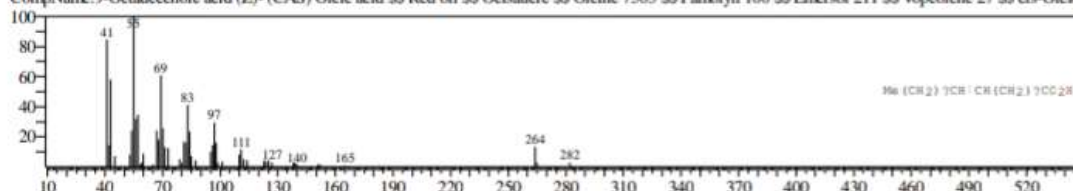
Hit#:3 Entry:245560 Library:WILEY7.LIB
SI:91 Formula:C22 H42 O2 CAS:112-86-7 MolWeight:338 RetIndex:0
CompName:Docos-13-enoic acid SS 13-DOCOSENOIC ACID, (Z)- SS



Hit#:4 Entry:145635 Library:WILEY7.LIB
SI:89 Formula:C15 H28 O2 CAS:17351-34-7 MolWeight:240 RetIndex:0
CompName:14-Pentadecenoic acid (CAS)

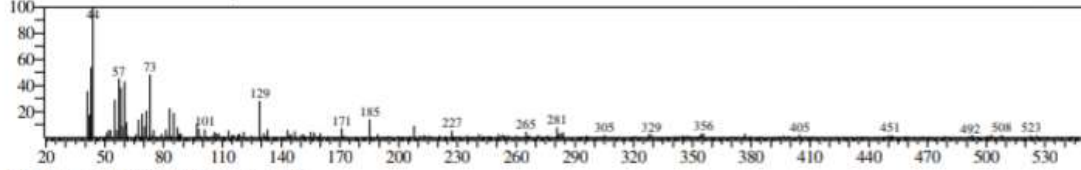


Hit#:5 Entry:193352 Library:WILEY7.LIB
SI:89 Formula:C18 H34 O2 CAS:112-80-1 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) Oleic acid SS Red oil SS Oelsaetere SS Olefine 7503 SS Pamolyn 100 SS Emersol 211 SS Vopcolene 27 SS cis-Oleic ;



<< Target >>

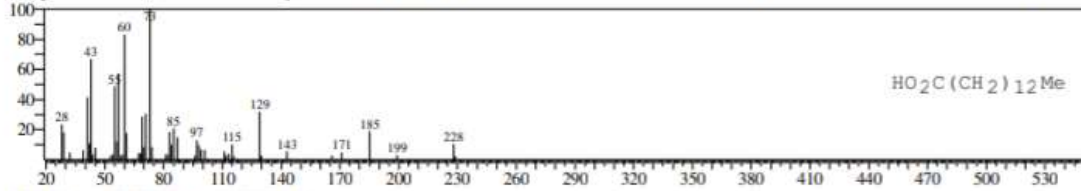
Line#:9 R.Time:16.340(Scan#:3269) MassPeaks:296
RawMode:Averaged 16.335-16.345(3268-3270) BasePeak:44.00(2251)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:131453 Library:WILEY7.LIB

SE:76 Formula:C14 H28 O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:0

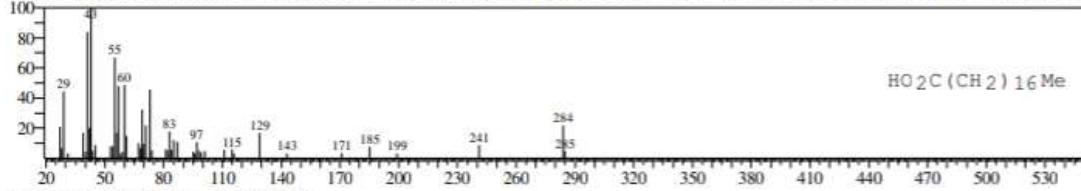
CompName:Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid SS MYRISTIC ACID SS n-Tetradecanoic acid SS neo-Fat 14 SS Univol U 316S SS n-Tetradecic acid SS



Hit#:2 Entry:195565 Library:WILEY7.LIB

SE:75 Formula:C18 H36 O2 CAS:57-11-4 MolWeight:284 RetIndex:0

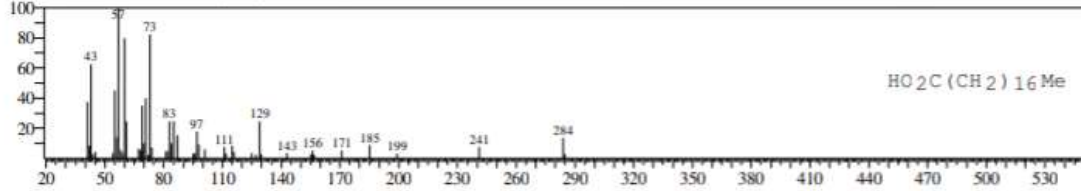
CompName:Octadecanoic acid (CAS) Stearic acid SS n-Octadecanoic acid SS PD 185 SS NAA 173 SS Vanicol SS Kam 3000 SS Kam 1000 SS Kam 2000 SS Neo



Hit#:3 Entry:195571 Library:WILEY7.LIB

SE:74 Formula:C18 H36 O2 CAS:57-11-4 MolWeight:284 RetIndex:0

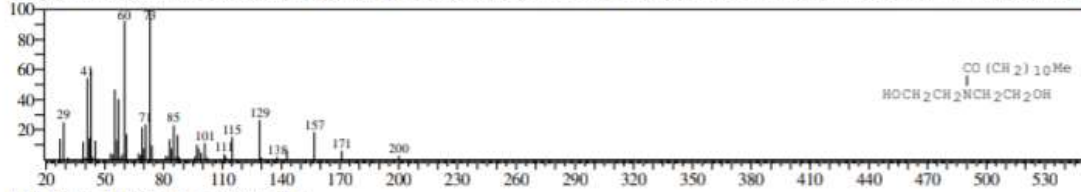
CompName:Octadecanoic acid (CAS) Stearic acid SS n-Octadecanoic acid SS PD 185 SS NAA 173 SS Vanicol SS Kam 3000 SS Kam 1000 SS Kam 2000 SS Neo



Hit#:4 Entry:198305 Library:WILEY7.LIB

SE:74 Formula:C16 H33 N O3 CAS:120-40-1 MolWeight:287 RetIndex:0

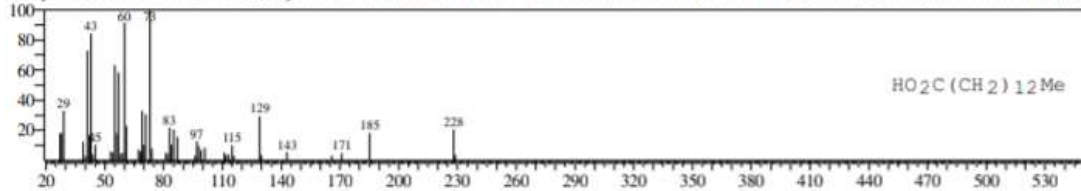
CompName:Dodecanamide, N,N-bis(2-hydroxyethyl)- SS Bis(2-hydroxyethyl)lauramide SS LDA SS LDE SS Clindrol Superamide 100L SS Clindrol 200L SS Co



Hit#:5 Entry:131451 Library:WILEY7.LIB

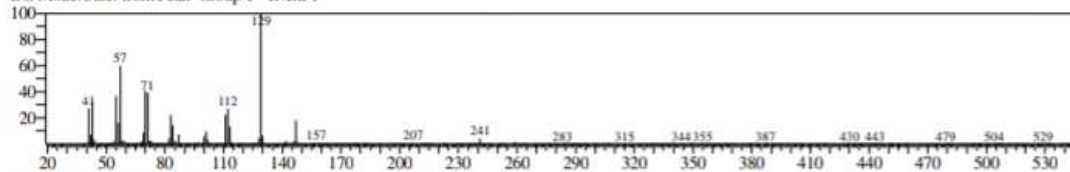
SE:74 Formula:C14 H28 O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:0

CompName:Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid SS MYRISTIC ACID SS n-Tetradecanoic acid SS neo-Fat 14 SS Univol U 316S SS n-Tetradecic acid SS

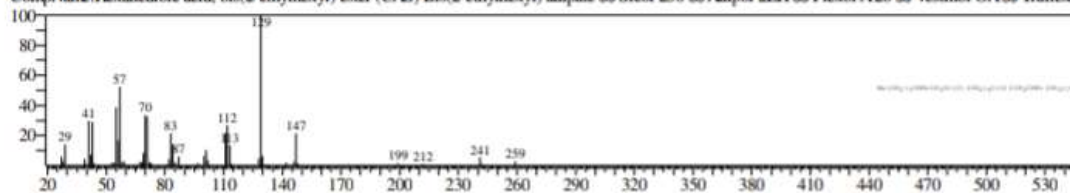


<< Target >>

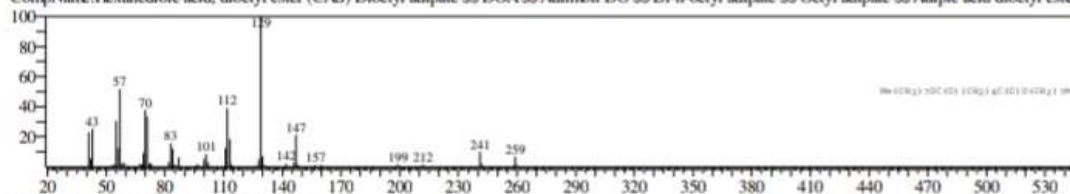
Line#:10 R.Time:18.475(Scan#:3696) MassPeaks:296
RawMode:Averaged 18.470-18.480(3695-3697) BasePeak:129.00(68566)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



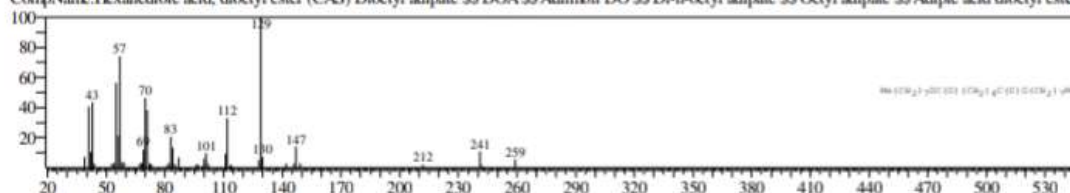
Hit#:1 Entry:268043 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C22 H42 O4 CAS:103-23-1 MolWeight:370 RetIndex:0
CompName:Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS) Bis(2-ethylhexyl) adipate SS Sicol 250 SS Adipol 2EH SS Flexol A26 SS Vestinol OA SS Trufflex E



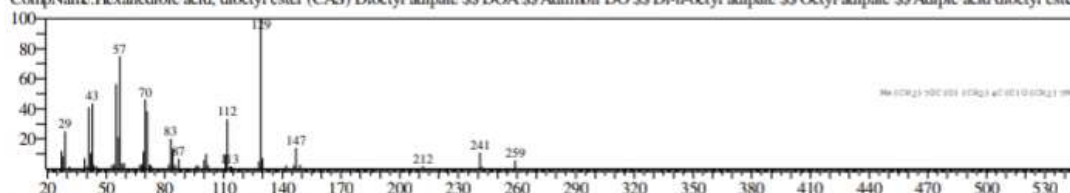
Hit#:2 Entry:268036 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C22 H42 O4 CAS:123-79-5 MolWeight:370 RetIndex:0
CompName:Hexanedioic acid, dioctyl ester (CAS) Dioctyl adipate SS DOA SS Adimoll DO SS Di-n-octyl adipate SS Octyl adipate SS Adipic acid dioctyl ester:



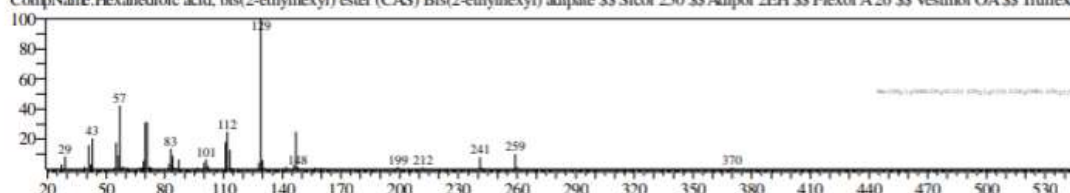
Hit#:3 Entry:268038 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C22 H42 O4 CAS:123-79-5 MolWeight:370 RetIndex:0
CompName:Hexanedioic acid, dioctyl ester (CAS) Dioctyl adipate SS DOA SS Adimoll DO SS Di-n-octyl adipate SS Octyl adipate SS Adipic acid dioctyl ester:



Hit#:4 Entry:268033 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C22 H42 O4 CAS:123-79-5 MolWeight:370 RetIndex:0
CompName:Hexanedioic acid, dioctyl ester (CAS) Dioctyl adipate SS DOA SS Adimoll DO SS Di-n-octyl adipate SS Octyl adipate SS Adipic acid dioctyl ester:



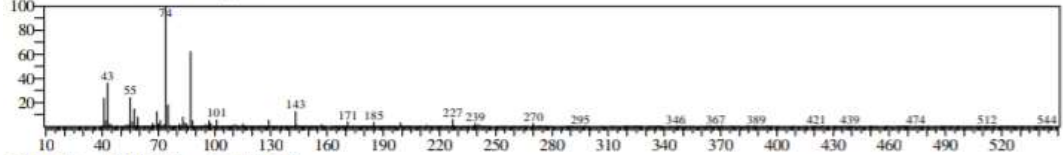
Hit#:5 Entry:268044 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C22 H42 O4 CAS:103-23-1 MolWeight:370 RetIndex:0
CompName:Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS) Bis(2-ethylhexyl) adipate SS Sicol 250 SS Adipol 2EH SS Flexol A26 SS Vestinol OA SS Trufflex E



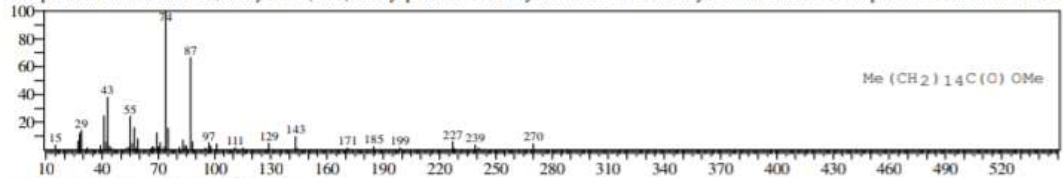
3. HASIL GC-MS T726

<< Target >>

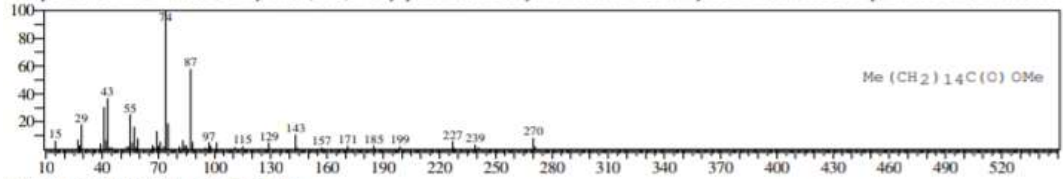
Line#:1 R.Time:14.000(Scan#:2801) MassPeaks:323
RawMode:Averaged 13.995-14.005(2800-2802) BasePeak:74.00(147020)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



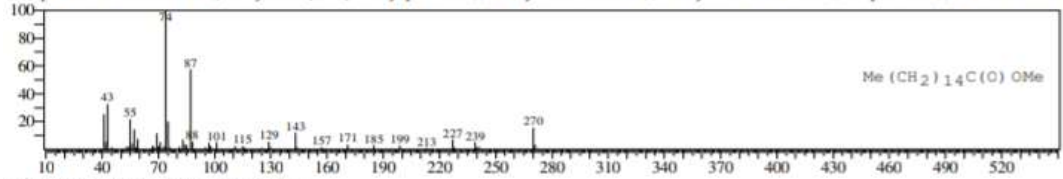
Hit#:1 Entry:180432 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 2216



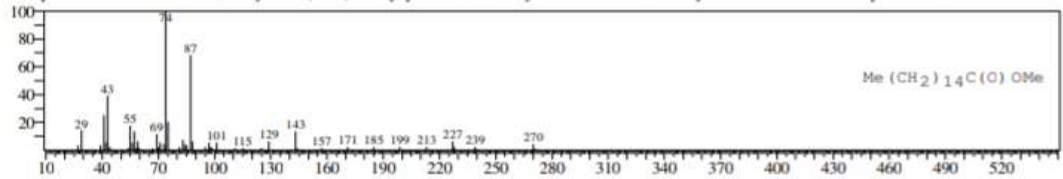
Hit#:2 Entry:180433 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 2216



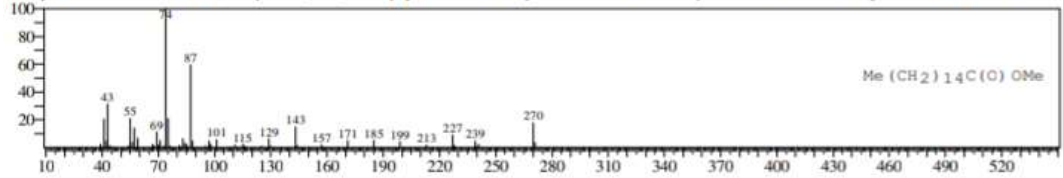
Hit#:3 Entry:180438 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 2216



Hit#:4 Entry:180451 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 2216

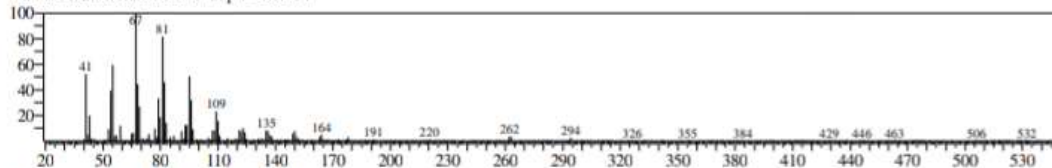


Hit#:5 Entry:180435 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metholene 2216

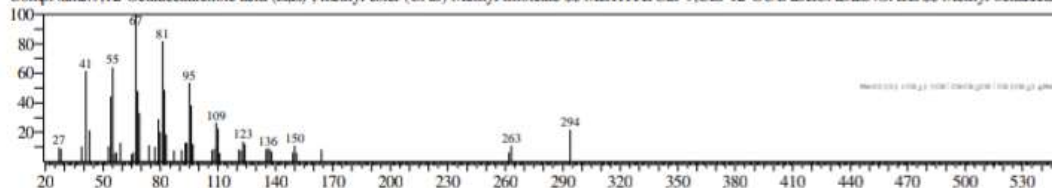


<< Target >>

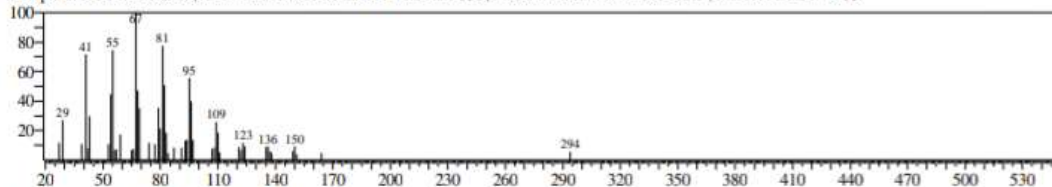
Line#:2 R.Time:15.725(Scan#:3146) MassPeaks:341
RawMode:Averaged 15.720-15.730(3145-3147) BasePeak:67.00(205296)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



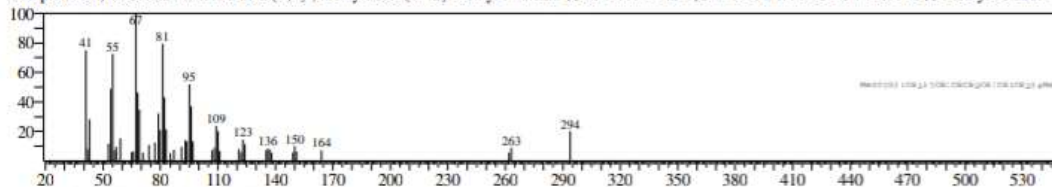
Hit#:1 Entry:205817 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C19 H34 O2 CAS:112-63-0 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS) Methyl linoleate SS METHYL CIS-9,CIS-12-OCTADECADIENOATE SS Methyl octadecadi



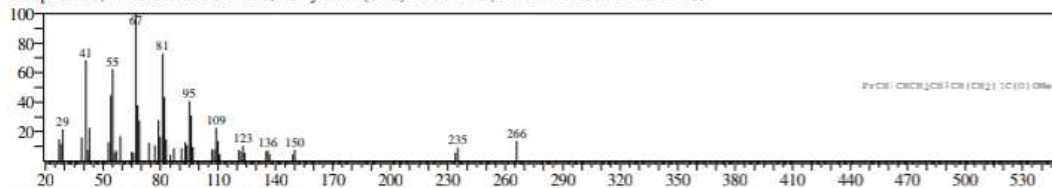
Hit#:2 Entry:205831 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C19 H34 O2 CAS:2462-85-3 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:OCTADECA-9,12-DIENOIC ACID METHYL ESTER SS 9,12-OCTADECADIENOIC ACID, METHYL ESTER SS



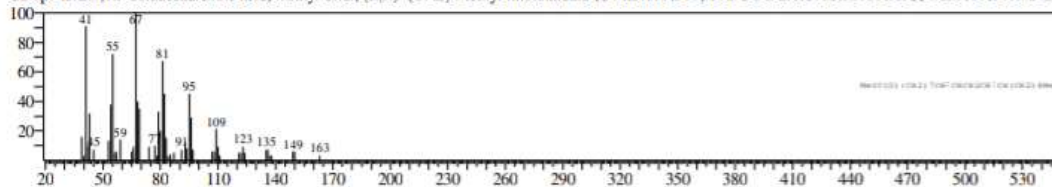
Hit#:3 Entry:205821 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H34 O2 CAS:112-63-0 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS) Methyl linoleate SS METHYL CIS-9,CIS-12-OCTADECADIENOATE SS Methyl octadecadi



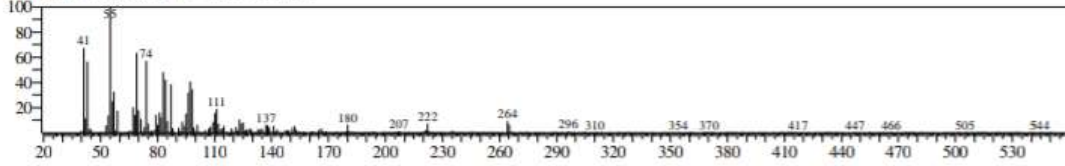
Hit#:4 Entry:175438 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C17 H30 O2 CAS:2462-80-8 MolWeight:266 RetIndex:0
CompName:9,12-Hexadecadienoic acid, methyl ester (CAS) METHYL-9,12-HEXADECADIENOATE SS



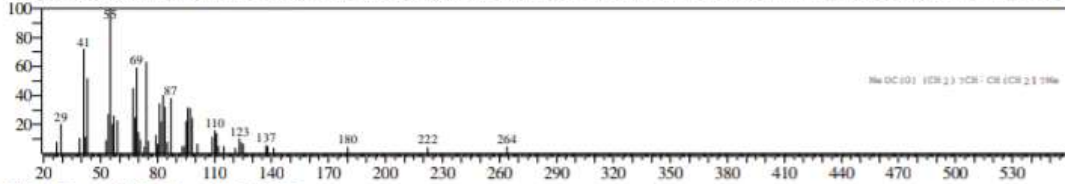
Hit#:5 Entry:205809 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H34 O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)- (CAS) Methyl linolealdate SS METHYL T9, T12 OCTADECADIENOATE SS METHYL TRANS9



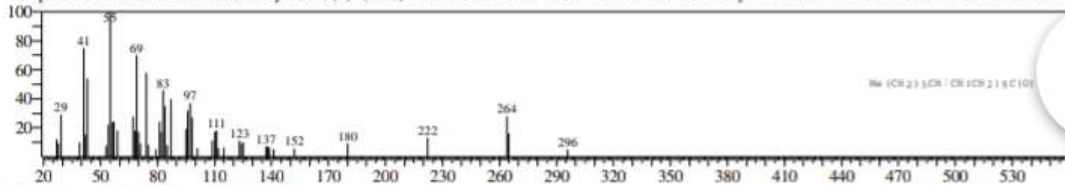
Line# 3 R.Time:15.775(Scan#:3156) MassPeaks:350
RawMode:Averaged 15.770-15.780(3155-3157) BasePeak:55.05(82459)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



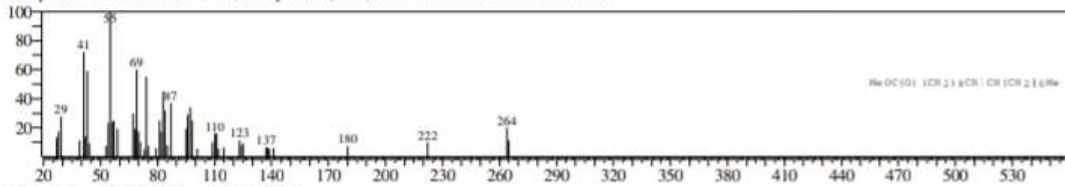
Hit#:1 Entry:207865 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H36 O2 CAS:112-62-9 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) Methyl oleate SS Methyl cis-9-octadecenoate SS Oleic acid methyl ester SS Oleic acid, methyl ester S



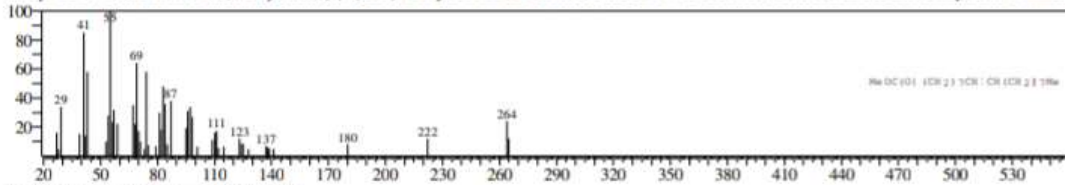
Hit#:2 Entry:207531 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H36 O2 CAS:1937-63-9 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS) METHYL CIS OCTADEC-11-ENOATE SS Methyl cis-octadec-11-enoate SS cis-11-Octadecenoic a



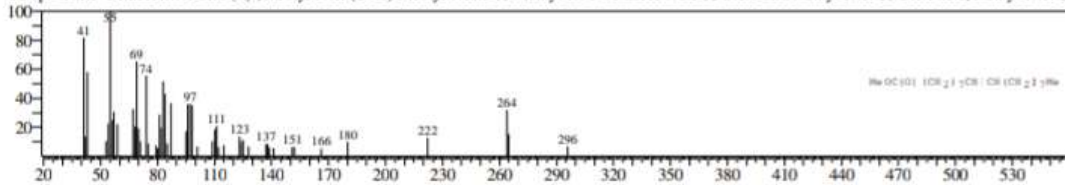
Hit#:3 Entry:207529 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H36 O2 CAS:13481-95-3 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:10-Octadecenoic acid, methyl ester (CAS) METHYL OCTADEC-10-ENOATE SS



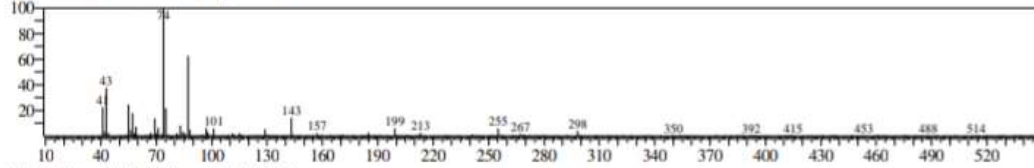
Hit#:4 Entry:207872 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H36 O2 CAS:1937-62-8 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (CAS) Methyl elaidate SS METHYL-TRANS 9-OCTADECENOATE SS Elaidic acid methyl ester SS Elaidi



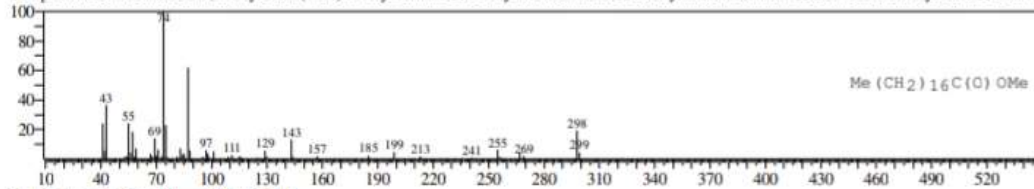
Hit#:5 Entry:207863 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C19 H36 O2 CAS:112-62-9 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) Methyl oleate SS Methyl cis-9-octadecenoate SS Oleic acid methyl ester SS Oleic acid, methyl ester S



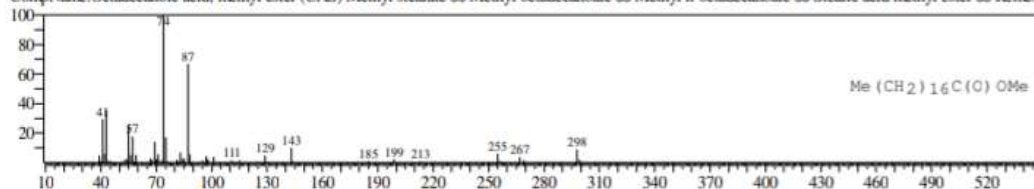
Line#:4 R.Time:16.005(Scan#:3202) MassPeaks:303
RawMode:Averaged 16.000-16.010(3201-3203) BasePeak:74.00(44663)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



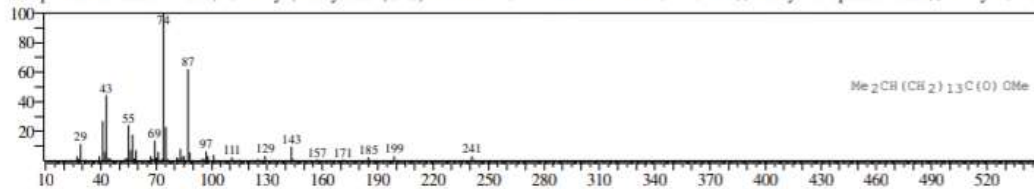
Hit#:1 Entry:209841 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kermest



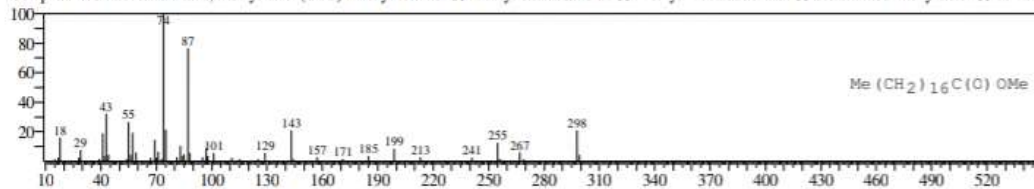
Hit#:2 Entry:209836 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kermest



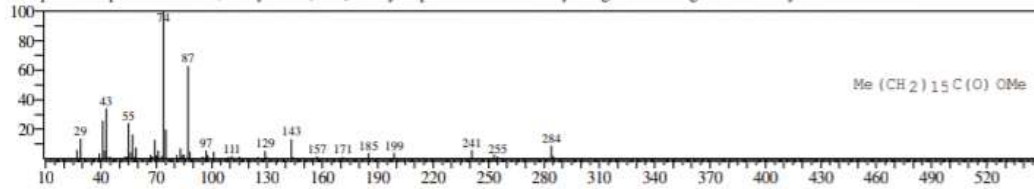
Hit#:3 Entry:195602 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C18 H36 O2 CAS:6929-04-0 MolWeight:284 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester (CAS) METHYL-15-METHYL-HEXADECANOATE SS Methyl isoheptadecanoate SS Methyl 15-met



Hit#:4 Entry:209840 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester SS Kermest

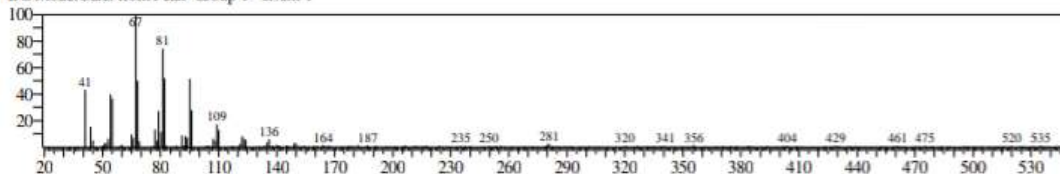


Hit#:5 Entry:195586 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C18 H36 O2 CAS:1731-92-6 MolWeight:284 RetIndex:0
CompName:Heptadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl heptadecanoate SS Methyl margarate SS Margaric acid methyl ester SS

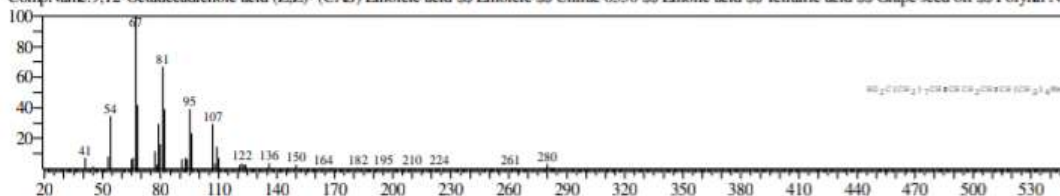


<< target >>

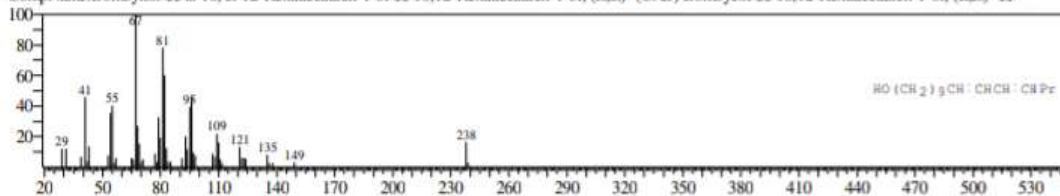
Line#:5 R.Time:16.080(Scan#:3217) MassPeaks:273
RawMode:Averaged 16.075-16.085(3216-3218) BasePeak:67.00(5729)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



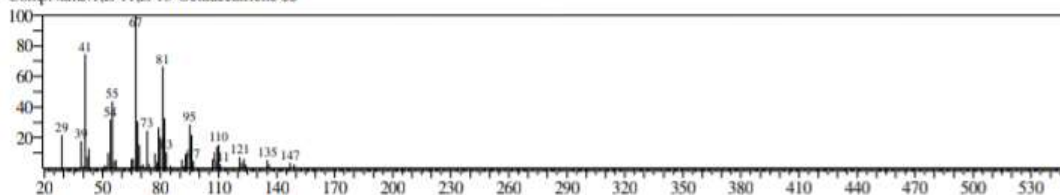
Hit#:1 Entry:191100 Library:WILEY7.LIB
SI:87 Formula:C18 H32 O2 CAS:60-33-3 MolWeight:280 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (CAS) Linoleic acid SS Linoleic SS Unifac 6550 SS Linolic acid SS Telfairic acid SS Grape seed oil SS Polylin No.



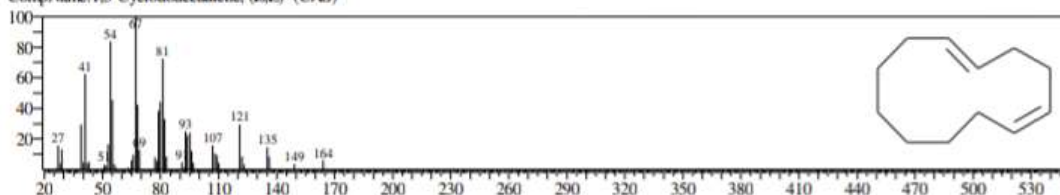
Hit#:2 Entry:143860 Library:WILEY7.LIB
SI:85 Formula:C16 H30 O CAS:765-17-3 MolWeight:238 RetIndex:0
CompName:Bombykol SS E-10, Z-12-Hexadecadien-1-ol SS 10,12-Hexadecadien-1-ol, (Z,E)- (CAS) Bombykol SS 10,12-Hexadecadien-1-ol, (E,Z)- SS



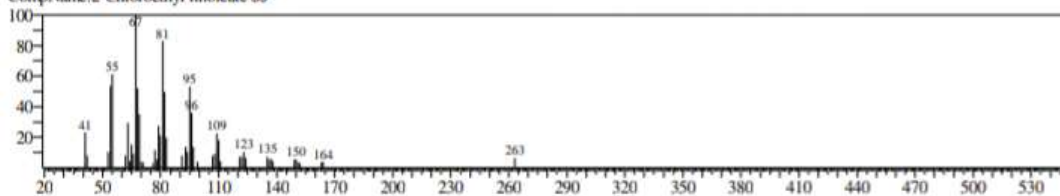
Hit#:3 Entry:154898 Library:WILEY7.LIB
SI:85 Formula:C18 H32 CAS:80625-36-1 MolWeight:248 RetIndex:0
CompName:1,E-11,Z-13-Octadecatriene SS



Hit#:4 Entry:53896 Library:WILEY7.LIB
SI:85 Formula:C12 H20 CAS:31821-17-7 MolWeight:164 RetIndex:0
CompName:1,5-Cyclododecadiene, (Z,Z)- (CAS)



Hit#:5 Entry:248179 Library:WILEY7.LIB
SI:84 Formula:C20 H35 Cl O2 CAS:25525-76-2 MolWeight:342 RetIndex:0
CompName:2-Chloroethyl linoleate SS

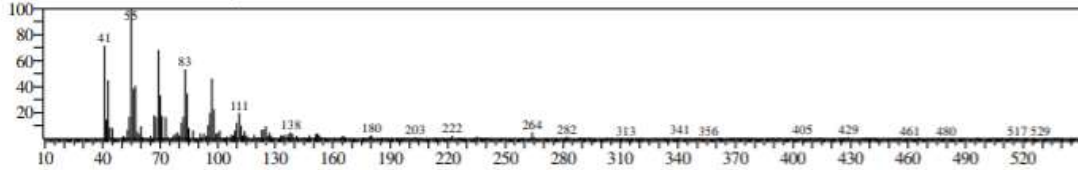


<< Target >>

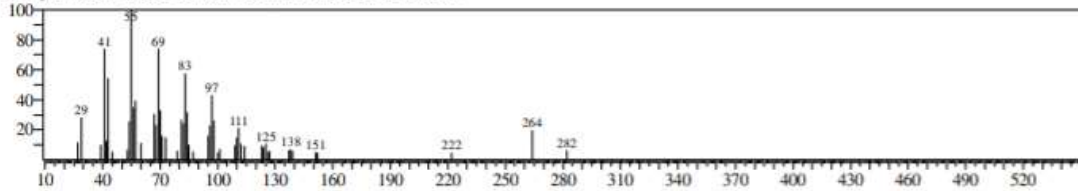
Line#:6 R.Time:16.125(Scan#:3226) MassPeaks:341

RawMode:Averaged 16.120-16.130(3225-3227) BasePeak:55.00(9104)

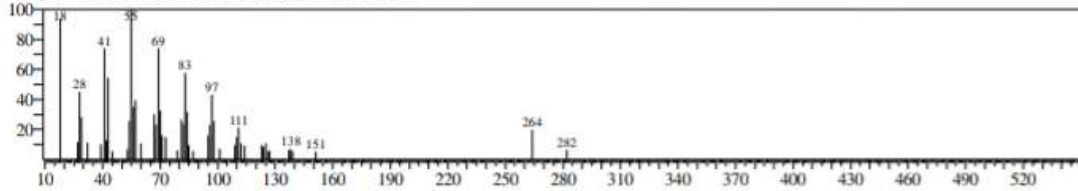
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



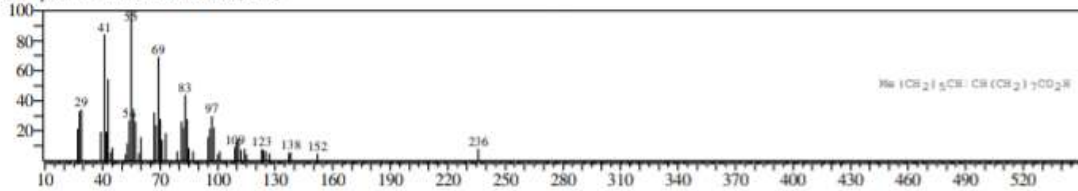
Hit#:1 Entry:193369 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C18 H34 O2 CAS:112-79-8 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:OCTADEC-9-ENOIC ACID SS ELAIDINSAEURE SS



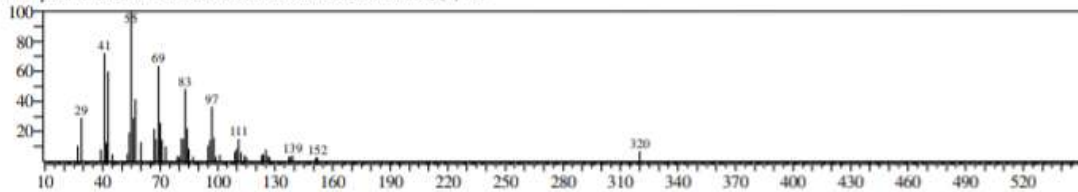
Hit#:2 Entry:192943 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:C18 H34 O2 CAS:0-00-0 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:HEPTADECENE-(8)-CARBONIC ACID-(1) SS



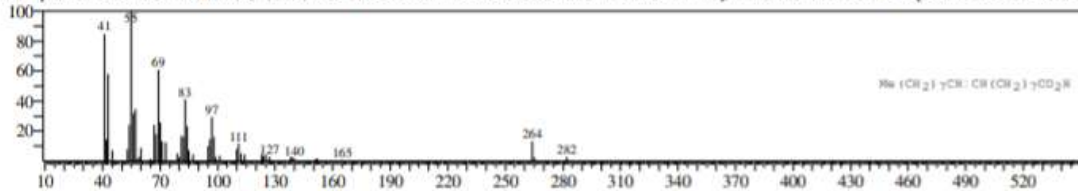
Hit#:3 Entry:161800 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C16 H30 O2 CAS:2091-29-4 MolWeight:254 RetIndex:0
CompName:9-Hexadecenoic acid (CAS)



Hit#:4 Entry:245560 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C22 H42 O2 CAS:112-86-7 MolWeight:338 RetIndex:0
CompName:Docos-13-enoic acid SS 13-DOCOSENOIC ACID, (Z)- SS

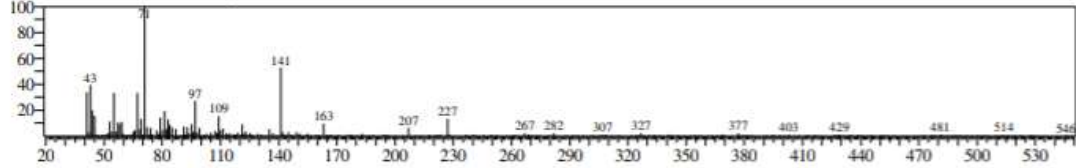


Hit#:5 Entry:193352 Library:WILEY7.LIB
SI:91 Formula:C18 H34 O2 CAS:112-80-1 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) Oleic acid SS Red oil SS Oelsaeure SS Oleine 7503 SS Pamolyn 100 SS Erersol 211 SS Vopcolene 27 SS cis-Oleic ;



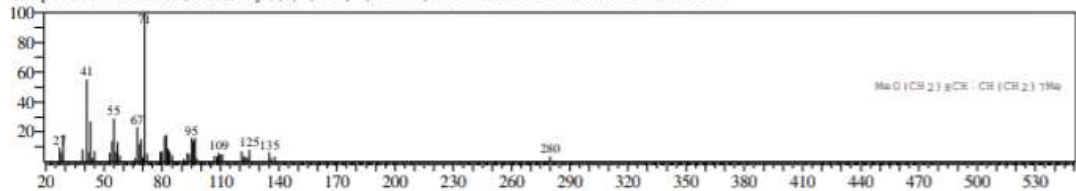
<< Target >>

Line#:7 R.Time:18.240(Scan#:3649) MassPeaks:288
RawMode:Averaged 18.235-18.245(3648-3650) BasePeak:71.00(5601)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



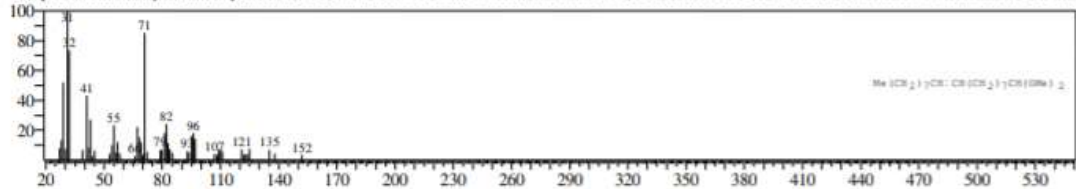
Hit#:1 Entry:193076 Library:WILEY7.LIB

SI:78 Formula:C19 H38 O CAS:56847-01-9 MolWeight:282 RetIndex:0
CompName:9-Octadecene, 1-methoxy-, (E)- (CAS) 9(TRANS)-OCTADEC-1-ENYL METHYL ETHER SS



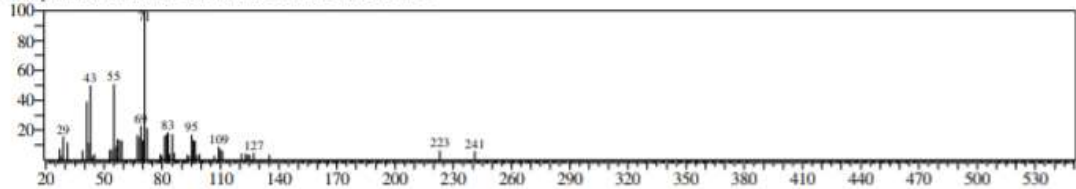
Hit#:2 Entry:223409 Library:WILEY7.LIB

SI:77 Formula:C20 H40 O2 CAS:15677-71-1 MolWeight:312 RetIndex:0
CompName:Olealdehyde, dimethyl acetal (CAS) DIMETHOXY-CIS-9-OCTADECENE SS 1,1-DIMETHOXY-CIS 9-OCTADECENE SS 9-Octadecene, 1,1-dim



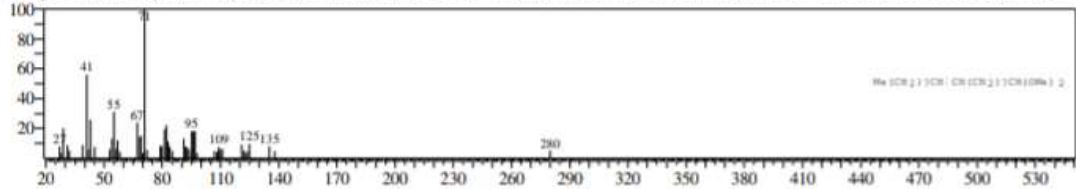
Hit#:3 Entry:164101 Library:WILEY7.LIB

SI:77 Formula:C16 H32 O2 CAS:0-00-0 MolWeight:256 RetIndex:0
CompName:13-METHYL-PENTADEC-14-ENE-1,13-DIOL SS



Hit#:4 Entry:223410 Library:WILEY7.LIB

SI:76 Formula:C20 H40 O2 CAS:15677-71-1 MolWeight:312 RetIndex:0
CompName:Olealdehyde, dimethyl acetal (CAS) DIMETHOXY-CIS-9-OCTADECENE SS 1,1-DIMETHOXY-CIS 9-OCTADECENE SS 9-Octadecene, 1,1-dim



Hit#:5 Entry:42775 Library:WILEY7.LIB

SI:76 Formula:C10 H18 O CAS:22460-59-9 MolWeight:154 RetIndex:0
CompName:2,6-DIMETHYL-1,7-OCTADIENE-3-OL SS

