

**Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea
Menggunakan Lipase yang Diamobilisasi dalam Kitosan**

SKRIPSI

oleh:

**Adhitami Kurnia Wulan Dewi
175090200111011**



JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2021





**Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea
Menggunakan Lipase yang Diamobilisasi dalam Kitosan**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

oleh:

**Adhitami Kurnia Wulan Dewi
175090200111011**



JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea Menggunakan Lipase yang Diamobilisasi dalam Kitosan

oleh:

Adhitami Kurnia Wulan Dewi

175090200111011

Setelah diseminarkan di depan Majelis Pengaji
pada tanggal 8 Juli 2021
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Dra. Anna Roosdiana, M.App, Sc

NIP. 195807111992032002

Pembimbing II

Drs. Sutrisno, M.Si

NIP. 196203181990021001

Mengetahui,

Kemajuan Jurusan Kimia

Fakultas MIPA Universitas Brawijaya



Yuniarto Pinto Pranoto, S.Si., M.Sc., Ph.D

NIP. 198106202005011002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Adhitami Kurnia Wulan Dewi

NIM : 175090200111011

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul:

Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea Menggunakan Lipase yang Diamobilisasi dalam Kitosan

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juli 2021

Yang menyatakan



(Adhitami Kurnia Wulan Dewi)

NIM. 175090200111011



Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea Menggunakan Lipase yang Diamobilisasi dalam Kitosan

ABSTRAK

Oleamida merupakan salah satu jenis surfaktan yang berbahan dasar minyak nabati. Oleamida disintesis melalui reaksi amidasi antara asam oleat dan urea menggunakan katalis lipase yang diamobilisasi dalam matriks kitosan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum sintesis oleamida dengan parameter waktu reaksi dan rasio mol serta mengetahui karakteristik oleamida yang dihasilkan. Sintesis oleamida dilakukan dengan memvariasikan waktu reaksi pada (6,12,24,36,48) jam dan rasio mol asam oleat dan urea (1:1,1:2,1:3,1:4,1:5). Hasil sintesis kemudian diidentifikasi dan dikarakterisasi dengan FTIR dan HLB. Analisis data dilakukan dengan *one-way* ANOVA yang menunjukkan bahwa waktu reaksi dan rasio mol memberikan pengaruh nyata terhadap sintesis oleamida. Kondisi optimum sintesis oleamida terjadi pada waktu reaksi 24 jam dan rasio mol 1:5 dengan persen konversi sebesar $6,17 \pm 1,01\%$. Oleamida telah diidentifikasi dan dikaraktersisasi dengan spektrofotometer FTIR yang menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3226,09-3377,27 cm⁻¹ (N-H), 2855,28-2926,59 cm⁻¹ (C-H), 1655,83 cm⁻¹ (C=O), dan 1163,79 cm⁻¹ (C-N). Oleamida memiliki nilai HLB 5,64 sehingga oleamida dapat digunakan sebagai emulsifier W/O.

Kata kunci : Asam oleat, kitosan, lipase amobil, oleamida, urea



Synthesis of Oleamide from Oleic Acid and Urea Using Immobilized Lipases in Chitosan

ABSTRACT

Oleamide is a type of surfactant made from vegetable oil. Oleamide was synthesized through an amidation reaction between oleic acid and urea using a lipase catalyst immobilized in a chitosan matrix. This study aimed to determine the optimum conditions for oleamide synthesis with the parameters of reaction time and mole ratio and to determine the characteristics of the oleamide produced. The synthesis of oleamide was carried out by varying the reaction time at (6,12,24,36,48) hours and the mole ratio of oleic acid and urea (1: 1, 1: 2, 1: 3, 1: 4, 1: 5). The synthesis results were then identified and characterized by FTIR and HLB value . Data analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey test which showed that reaction time and mole ratio had a significant effect on oleamide synthesis. The optimum conditions for oleamide synthesis occurred at a reaction time of 24 hours and a mole ratio of 1: 5 with a percent conversion of $6.17 \pm 1.01\%$. Oleamide has been identified and characterized by FTIR spectrophotometer which showed absorption at wave numbers $3226.09-3377.27\text{ cm}^{-1}$ (N-H), $2855.28-2926.59\text{ cm}^{-1}$ (C-H), 1655.83 cm^{-1} (C=O), and 1163.79 cm^{-1} (C-N). Oleamide has an HLB value is 5.64 which included as a W/O emulsifier.

Keywords : Chitosan, immobilized lipase, oleamide, oleic acid, urea



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea Menggunakan Lipase yang Diamobilisasi dalam Kitosan** dengan baik dan tepat waktu. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di bidang Kimia.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan kali ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dra. Anna Roosdiana, M.App, Sc selaku dosen pembimbing I dan Drs. Sutrisno, M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran, serta perhatian kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS selaku dosen penguji seminar proposal dan seminar kemajuan serta selaku dosen penasehat akademik yang telah memberikan saran serta arahan selama penyusunan skripsi dan masa studi penulis.
3. Moh. Farid Rahman, S.Si., M.Si selaku dosen penguji pada seminar komprehensif yang telah memberikan saran untuk memperbaiki dan menyempurnakan skripsi ini.
4. Yuniar Ponco Prananto, S.Si, M.Sc., Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Brawijaya beserta seluruh staf Jurusan Kimia atas bimbingan dan bantuan dalam hal akademik.
5. Orang tua dan keluarga penulis yang telah memberikan cinta, doa dan dukungan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dan masa studi dengan baik.
6. Imam Baidowi yang telah memberikan doa, saran dan dukungan kepada penulis selama masa studi dan penyusunan skripsi.



7. Tim Alkilamida (Farisa dan Eka) yang selalu menemani dan memberikan saran serta bantuan saat penelitian dan penyusunan skripsi.
8. Sahabat penulis (Eileen, Farisa, Eka, Vina, Ida, Sintia, Suci, Martika, Antika, Bintang, Syifa, Puput) yang telah banyak memberikan saran, dukungan, serta bantuan selama masa studi maupun penyusunan skripsi.
9. Teman-teman TA Biokimia (Farisa, Eka, Eileen, Fani, Ufiya, Nopi, Tia, Nurita, Yora, Febri, Savira) yang telah memberikan dukungan dan saran selama penelitian dan penyusunan skripsi.
10. Teman-teman Jurusan Kimia Universitas Brawijaya angkatan 2017 yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu yang telah memberikan dukungan selama masa studi.

Skripsi ini disusun penulis dengan sebaik-baiknya, namun masih terdapat kekurangan, oleh karena itu penulis dengan senang hati menerima kritik dan saran yang membangun sebagai pembelajaran untuk penulis kedepannya.

Demikian skripsi ini penulis susun dengan penuh tanggung jawab dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi pembaca.

Malang, Juli 2021

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Alkilamida	5
2.1.1 Oleamida	6
2.2 Emulsifier	7
2.3 Asam Oleat	8
2.4 Urea	9
2.5 Enzim Lipase	10
2.6 Amobilisasi Enzim	11





2.7	Kitosan	12
2.8	Spektrofotometer FTIR	13
2.9	<i>Hydrophylic-Lipophylic Balance (HLB)</i>	14
BAB III METODE PENELITIAN		16
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.2	Alat dan Bahan Penelitian	16
3.2.1	Alat Penelitian	16
3.2.2	Bahan Penelitian	16
3.3	Rancangan Penelitian	16
3.4	Tahapan Penelitian	20
3.5	Prosedur Penelitian	20
3.5.1	Preparasi Lipase Amobil	20
3.5.2	Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea Menggunakan Lipase Amobil	21
3.5.2.1	Pengaruh Waktu Reaksi Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang dihasilkan	21
3.5.2.2	Pengaruh Rasio Mol Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang dihasilkan	21
3.5.2.3	Pemisahan Oleamida	21
3.5.3	Identifikasi dan Karakterisasi Oleamida	22
3.5.3.1	Analisis dengan Spektrofotometer FTIR	22
3.5.3.2	Analisis <i>Hydrophylic-Lipophylic Balance (HLB)</i>	22
3.5.4	Analisis Data	22
3.5.4.1	Sintesis Oleamida	22
3.5.4.2	Nilai HLB Oleamida	22



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN23

4.1 Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea Menggunakan Lipase Amobil.....	23
4.1.1 Pengaruh Waktu Reaksi Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang dihasilkan.....	27
4.1.2 Pengaruh Rasio Mol Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang dihasilkan	29
4.2 Identifikasi dan Karakterisasi Oleamida.....	33
4.2.1 Analisis dengan Spektrofotometer FTIR	33
4.2.2 Analisis HLB	35

BAB V PENUTUP37

5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37

DAFTAR PUSTAKA38

LAMPIRAN42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Alkilamida	5
Gambar 2.2 Reaksi Asam dengan Amina	6
Gambar 2.3 Struktur Oleamida	7
Gambar 2.4 Struktur Asam Oleat	8
Gambar 2.5 Struktur Urea.....	9
Gambar 2.6 Struktur Kitosan.....	13
Gambar 2.7 Skema Sistem FTIR	14
Gambar 4.1 Mekanisme Reaksi Tahap Asilasi.....	25
Gambar 4.2 Mekanisme Reaksi Tahap Deasilasi.....	26
Gambar 4.3 Kurva Hubungan Waktu Reaksi dengan Persen Konversi.....	28
Gambar 4.4 Kurva Hubungan Rasio Mol dengan Persen Konversi.....	31
Gambar 4.5 Spektra FTIR Asam Oleat, Urea, dan Oleamida.....	33
Gambar F. 1 Kurva Baku HLB.....	75

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Pengelompokan Surfaktan Berdasarkan Rentang Nilai HLB	15
Tabel 3. 1 RAL Faktor Waktu Reaksi	17
Tabel 3. 2 RAL Faktor Rasio Mol	18
Tabel 3. 3 Tabel ANOVA (Analysis Of Variance)	18
Tabel 4. 1 Interpretasi Spektrum IR Oleamida	34
Tabel B. 1 Pembakuan NaOH dengan Asam Oksalat	47
Tabel C. 1 Data Awal Penentuan Waktu Reaksi Optimum	62
Tabel C. 2 Data Hasil Penentuan Waktu Reaksi Optimum	63
Tabel C. 3 Data Awal Penentuan Rasio Mol Optimum	64
Tabel C. 4 Data Hasil Penentuan Rasio Mol Optimum	65
Tabel D. 1 Uji Homogenitas Waktu Reaksi	66
Tabel D. 2 Tabel ANOVA Waktu Reaksi	66
Tabel D. 3 Uji BNJ Waktu Reaksi	68
Tabel D. 4 Pemberian Notasi Hasil Uji BNJ Waktu Reaksi	68
Tabel D. 5 Uji Homogenitas Rasio Mol	69
Tabel D. 6 Tabel ANOVA Rasio Mol	69
Tabel D. 7 Uji BNJ Rasio Mol	70
Tabel D. 8 Pemberian Notasi Hasil Uji BNJ Rasio Mol	71
Tabel F. 1 Nilai HLB Surfaktan Standar	75
Tabel F. 2 Data Hasil Penentuan Nilai HLB	75





DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Tahapan Penelitian	42
Lampiran B. Perhitungan.....	43
Lampiran B. 1 Pembuatan 50 mL Asam Asetat Glasial 3%	43
Lampiran B. 2 Pembuatan Larutan Kitosan 2,5%	43
Lampiran B. 3 Pembuatan Larutan Natrium Tripolifosfat 3%	44
Lampiran B. 4 Pembuatan Larutan Buffer Fosfat pH 8	44
Lampiran B. 5 Pembuatan Larutan NaOH 0,25 M	45
Lampiran B. 6 Pembuatan Larutan Asam Oksalat 0,025 M.....	46
Lampiran B. 7 Pembakuan Larutan NaOH dengan Larutan Asam Oksalat 0,025 M.....	46
Lampiran B. 8 Perhitungan Rasio Mol Asam Oleat dan Urea ..	47
Lampiran B. 9 Perhitungan Persen Konversi Oleamida	49
Lampiran C. Data Hasil Penelitian.....	62
Lampiran C. 1 Pengaruh Waktu Reaksi Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang Dihasilkan	62
Lampiran C. 2 Pengaruh Rasio Mol Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang Dihasilkan	64
Lampiran D. Analisa Data.....	66
Lampiran D. 1 Analisa Data Waktu Reaksi	66
Lampiran D. 2 Analisa Data Rasio Mol	69
Lampiran E Spektra FTIR	72
Lampiran E. 1 Spektra FTIR Asam Oleat	72
Lampiran E. 2 Spektra FTIR Urea	73
Lampiran E. 3 Spektra FTIR Oleamida	74
Lampiran F. Analisis HLB	75
Lampiran G. Dokumentasi Penelitian.....	77



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Surface active agents (Surfaktan) merupakan senyawa kimia aktif yang dapat membuat tegangan permukaan dan tegangan antaramuka menurun. Ciri khas dari surfaktan yaitu memiliki dua gugus yang berlainan dalam satu molekulnya, gugus tersebut adalah gugus polar atau gugus hidrofilik dan gugus non polar atau gugus hidrofobik. Surfaktan dapat dibuat melalui sintesis secara kimia maupun biokimia. Surfaktan dapat berfungsi sebagai deterjen, zat pembasah, perata, pendispersi, maupun pengemulsi [1]. Seiring dengan berkembangnya industri kosmetik, obat-obatan, dan deterjen, kebutuhan akan surfaktan di Indonesia semakin meningkat. Kebutuhan penggunaan surfaktan di Indonesia sekitar 95.000 ton per tahun. Sebanyak 55.000 ton surfaktan per tahun diperlukan untuk produksi dalam negeri dan sebanyak 44.500 ton surfaktan untuk diimpor. Akan tetapi, produksi surfaktan di Indonesia masih banyak menggunakan bahan minyak bumi yang tidak ramah lingkungan [2]. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan produksi surfaktan yang berasal dari bahan-bahan yang ramah lingkungan, contohnya dari minyak nabati.

Salah satu jenis surfaktan yang berbahan dasar minyak nabati yaitu amida lemak (alkilamida). Contoh-contoh senyawa alkilamida yaitu oleamida, lauramida, palmitamida, erucamida, dan stearamida. Senyawa-senyawa tersebut disintesis melalui amonolisis asam-asam lemak, contohnya oleamida yang disintesis dari asam oleat. Kebutuhan akan alkilamida sebagai bahan baku oleokimia mencapai 300.000 ton per tahun. [3]. Metode yang paling banyak digunakan untuk sintesis alkilamida yaitu mereaksikan ammonia dan asam pada suhu 180-220°C dan 345-690 kPa. Metode tersebut memerlukan biaya yang mahal serta % yield yang dihasilkan rendah. Selain itu, metode tersebut membutuhkan waktu reaksi yang lama dan suhu serta tekanan yang tinggi. Pada waktu reaksi yang lama, alkilamida akan terdehidrasi menjadi nitril [4]. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan metode sintesis alkilamida dengan waktu reaksi singkat, biaya murah, dan hasil yang didapatkan tinggi.





Salah satu cara sintesis alkilamida yang mudah yaitu dengan menggunakan katalis enzim. Namun, pembelian enzim akan membutuhkan biaya yang lebih. Oleh karena itu, enzim akan dibuat amobil sehingga dapat dipakai berulang untuk mengurangi biaya sintesis. Enzim teramobilisasi merupakan enzim yang diperangkap ataupun dilekatkan dalam suatu matriks yang bertujuan agar enzim lebih tahan terhadap perubahan kondisi ,baik pH maupun temperatur. Pada sintesis alkilamida secara enzimatik, enzim yang paling banyak digunakan yaitu enzim lipase. Hal tersebut dikarenakan, enzim lipase memiliki kestabilan terhadap suhu yang tinggi dalam matriks organik dan enzim ini memiliki kemampuan untuk menerima berbagai jenis substrat. Lipase dapat digunakan pada sintesis alkilamida karena akan mengkatalisis reaksi amidasi dengan penambahan pelarut yang bersifat non polar seperti petroleum eter. Sintesis alkilamida dengan enzim, memudahkan tahapan pemisahan enzim dari produk nya. Hal itu dikarenakan, enzim teramobilisasi yang berbentuk granula dapat dipisahkan dari produk hanya dengan cara filtrasi [2].

Salah satu matriks yang dapat digunakan untuk amobilisasi enzim yaitu kitosan. Kitosan adalah senyawa polisakarida yang berasal dari zat taktin. Pembuatan kitosan dilakukan dengan menambahkan basas kuat untuk menghilangkan gugus asetil [5]. Kitosan memiliki dua gugus yang aktif yaitu gugus amino dan gugus hidroksil. Adanya dua gugus aktif tersebut yang membuat kitosan dapat digunakan sebagai matriks dalam amobilisasi enzim. Namun, untuk dijadikan matriks dalam amobilisasi enzim, kitosan harus diubah strukturnya. Struktur kitosan dapat diubah dengan menambahkan senyawa pengikat silang, salah satunya adalah natrium tripolifosfat. Senyawa tersebut akan mengubah ukuran pori-pori serta porositas kitosan yang akan mempengaruhi jumlah enzim yang tertahan pada matriks [6].

Penelitian terdahulu mengenai sintesis alkilamida secara enzimatis dilakukan dengan mereaksikan minyak inti buah ketapang dengan urea menggunakan katalis Lipozyme dengan pelarut n-heksana. Pada penelitian tersebut diperoleh kondisi optimum reaksi dengan waktu reaksi optimum 24 jam, suhu reaksi optimum adalah 30°C, konsentrasi urea optimum adalah 6,5 mmol/gram, dan jumlah lipase optimum adalah 10 mg/gram. Hasil tersebut telah

dikarakterisasi dengan FTIR untuk menunjukkan gugus fungsi dari alkilamida yang menunjukkan bahwa reaksi tersebut berhasil [3].

Penelitian yang lainnya mengenai sintesis alkilamida secara enzimatis dilakukan dengan mereaksikan asam lemak dari ekstrak minyak inti buah nyamplung dengan urea menggunakan katalis Lipozyme dengan pelarut n-heksana. Setelah 36 jam, diperoleh hasil sintesis alkilamida berupa padatan halus berwarna putih dengan persen konversi sebesar 33,07% yang juga telah diidentifikasi dan dikarakterisasi dengan KLT, FTIR, dan GC-MS [7].

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan sintesis oleamida dari asam oleat dan urea secara enzimatis dengan menggunakan enzim lipase yang diamobilisasi dalam kitosan dan pelarut petroleum eter dengan dua parameter yaitu pengaruh waktu reaksi dan rasio mol. Oleamida yang diperoleh diidentifikasi dan dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR dan nilai *Hydrophylic-Lipophylic Balance* (HLB).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh waktu reaksi asam oleat dan urea terhadap sintesis oleamida menggunakan lipase yang diamobilisasi dalam kitosan?
2. Bagaimana pengaruh rasio mol asam oleat dan urea terhadap sintesis oleamida menggunakan lipase yang diamobilisasi dalam kitosan?
3. Bagaimana karakteristik oleamida yang disintesis dari asam oleat dan urea menggunakan lipase yang diamobilisasi dalam kitosan?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Enzim lipase yang digunakan adalah lipase dari *Candida rugosa*
2. Enzim lipase diamobilisasi dalam matriks kitosan
3. Sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan pelarut petroleum eter
4. Penentuan jumlah asam oleat yang bereaksi dilakukan dengan titrasi alkalimetri



5. Karakterisasi dan identifikasi oleamida dilakukan dengan menggunakan FTIR dan nilai HLB

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menentukan waktu reaksi optimum terhadap hasil sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan lipase yang diamobilisasi dalam kitosan
2. Menentukan rasio mol asam oleat dan urea optimum terhadap hasil sintesis oleamida menggunakan lipase yang diamobilisasi dalam kitosan
3. Mengetahui karakteristik oleamida yang disintesis dari asam oleat dan urea menggunakan lipase yang diamobilisasi dalam kitosan

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai kondisi optimum dengan parameter waktu reaksi optimum dan rasio mol optimum untuk sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan lipase yang diamobilisasi dalam kitosan.

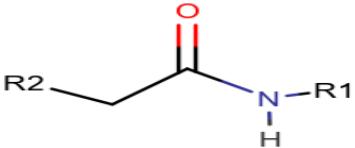
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alkilamida

Alkilamida (Alkamida, alkenamida, atau alkenil amida) merupakan senyawa bioaktif yang memiliki residu asam lemak tak jenuh aromatic maupun alifatik yang terikat dengan residu amina alifatik maupun aromatic yang strukturnya dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.

Alkilamida termasuk ke dalam senyawa alkaloid yang dapat berfungsi sebagai insektisida, anti-malaria, anti-bakteri, maupun untuk perlindungan tanaman. Pada mamalia, alkilamida dapat berfungsi sebagai analgesic, anti-inflamasi, maupun antioksidan. Alkilamida memiliki struktur kimia yang beragam dan bekerja sangat penting dalam efek biologis-farmakologis melalui berbagai mekanisme [8].



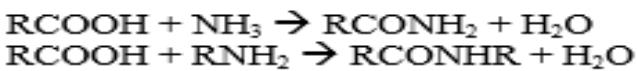
Gambar 2.1 Struktur Alkilamida [9]

Secara structural, alkilamida adalah amida asam lemak yang terikat dengan N-asil-1-homoserin lakton (AHLs) dari bakteri gram negatif dan N-asiletanolamina dari tumbuhan dan mamalia. Alkilamida dapat terdiri dari rantai asam lemak jenuh maupun tidak jenuh dengan panjang dari C8 hingga C18 dan amina alifatik, siklik, maupun aromatik [9]. Pada umumnya, amida asam lemak digunakan sebagai surfaktan, pelumas, kosmetik, deterjen, sampo, maupun anti-blocking agent pada industri plastik. Kebutuhan akan alkilamida sebagai bahan baku oleokimia mencapai 300.000 ton per tahun. Contoh-contoh senyawa alkilamida yaitu oleamida, lauramida, palmitamida, erucamida, dan stearamida. Senyawa-senyawa tersebut disintesis melalui ammonolisasi asam-asam lemak, contohnya oleamida yang disintesis dari asam oleat [3].





Metode yang paling banyak digunakan untuk sintesis alkilamida yaitu mereaksikan ammonia dan asam pada suhu 180-220°C dan 345-690 kPa, berdasarkan reaksi pada **Gambar 2.2** [4]



Gambar 2.2 Reaksi Asam dengan Amina [4]

Penelitian terdahulu mengenai sintesis alkilamida secara enzimatis dilakukan dengan mereaksikan minyak inti buah ketapang dengan urea menggunakan katalis Lipozyme dengan pelarut n-heksana. Pada penelitian tersebut diperoleh kondisi optimum reaksi dengan waktu reaksi optimum 24 jam, suhu reaksi optimum adalah 30°C, konsentrasi urea optimum adalah 6,5 mmol/gram, dan jumlah lipase optimum adalah 10 mg/gram. Hasil tersebut telah dikarakterisasi dengan FTIR untuk menunjukkan gugus fungsi dari alkilamida yang menunjukkan bahwa reaksi tersebut berhasil [3].

Penelitian yang lainnya mengenai sintesis alkilamida secara enzimatis dilakukan dengan mereaksikan asam lemak dari ekstrak minyak inti buah nyamplung dengan urea menggunakan katalis Lipozyme dengan pelarut n-heksana. Setelah 36 jam, diperoleh hasil sintesis alkilamida berupa padatan halus berwarna putih dengan persen konversi sebesar 33,07% yang juga telah diidentifikasi dan dikarakterisasi dengan KLT, FTIR, dan GC-MS [7].

2.1.1 Oleamida

Oleamida merupakan amida asam lemak dari asam oleat. Oleamida berperan sebagai metabolit manusia dan juga tumbuhan. Oleamida memiliki rumus molekul $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{NO}$ dengan massa molekul sebesar 281,5 g/mol. Oleamida juga memiliki nama lain yaitu amida asam oleat, oleilamida, dan 9-oktadekenamida. Oleamida berwujud serbuk berwarna putih gading. Oleamida memiliki titik leleh 76-104°C. Oleamida tidak larut dalam air namun larut dalam eter dan alkohol. Selain itu, oleamida memiliki massa jenis 0,94. Struktur oleamida dapat ditunjukkan pada **Gambar 2.3** [10].

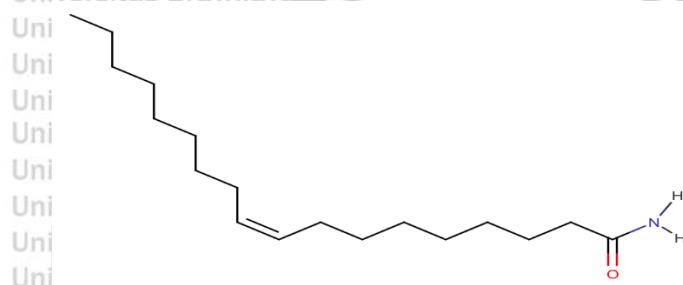


2.2 Emulsifier

Emulsi merupakan suatu sistem heterogen yang terdiri dari satu atau lebih cairan yang tidak bercampur dan terdispersi secara erat dalam bentuk tetesan. Secara umum, diameter dari tetesan tersebut yaitu melebihi $0,1\text{ }\mu\text{m}$. Emulsi berdasarkan ukuran dan stabilitas dapat dibagi menjadi dua yaitu mikroemulsi dan makroemulsi. Makroemulsi yaitu campuran dua cairan yang tidak tercampur yang salah satunya terdispersi dalam bentuk tetesan halus dengan diameter lebih besar dari $0,1\text{ }\mu\text{m}$ dalam cairan yang lain. Sistem ini tidak stabil secara termodinamika. Sedangkan, mikroemulsi merupakan campuran dua cairan yang tidak tercampur dengan rentang terdispersi dari tetesan kecil yaitu $100\text{-}1000\text{ \AA}$. Mikroemulsi stabil secara termodinamika. Kestabilan dapat ditingkatkan dengan menambahkan pengemulsi (*emulsifier*) [11]. Emulsifier merupakan molekul yang dapat mengabsorbsi permukaan tetesan yang terbentuk pada saat homogenisasi dengan membentuk membran untuk menjaga tetesan agar tidak mengendap [12].

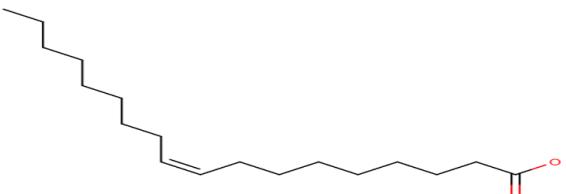
Fungsi dari emulsifier adalah untuk menggabungkan fasa minyak dan fasa air dari suatu emulsi dalam sistem homogen dan stabil. Karakteristik utama dari emulsifier adalah memiliki dua bagian di dalam molekulnya. Bagian pertama yaitu hidrofilik dan bagian yang kedua yaitu lipofilik. Pemilihan emulsifier didasarkan pada karakteristik dari produk akhir, metodologi, jumlah emulsifier yang ditambahkan, karakteristik kimia dan fisika pada setiap fase, serta komponen fungsional lainnya dalam emulsi [13].

Gambar 2. 3 Struktur Oleamida [10]



2.3 Asam Oleat

Asam oleat merupakan asam lemak tak jenuh tunggal. Asam oleat juga disebut dengan asam lemak omega-9. Asam oleat digunakan dalam bidang farmasi sebagai eksipien dan juga sebagai *emulsifier* ataupun pelarut dalam produk aerosol [14]. Asam oleat merupakan asam lemak utama yang terdapat dalam minyak zaitun, kacang-kacangan, terutama kacang tanah dan kenari. Kandungan asam oleat dalam minyak zaitun yaitu 56%-84%. Asam oleat termasuk asam lemak yang non-essensial, karena manusia mampu mensintesis asam oleat dari asam stearat dengan bantuan enzim 9-desaturase. Struktur asam oleat dapat dilihat pada **Gambar 2.4** [15].



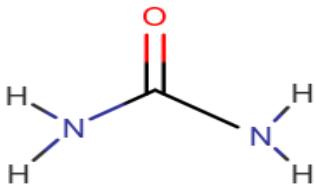
Gambar 2.4 Struktur Asam Oleat [16]

Asam oleat atau asam oktadeka-9-enoat yang memiliki ikatan rangkap pada atom C-9 dan memiliki stereokimia Z atau cis. Asam oleat merupakan inhibitor enzim karboksilesterase. Asam oleat juga merupakan metabolit dari *Escherichia coli*, *Daphnia galeata*, dan dapat digunakan sebagai antioksidan. Asam oleat memiliki rumus molekul C₁₈H₃₄O₂ dengan massa molekul yaitu 282,5 g/mol. Asam oleat berupa cairan berwarna kekuningan dengan bau yang ringan, memiliki titik didih 360°C dan 286°C pada 100 mmHg. Titik leleh asam oleat yaitu 13.4-29.2°C. Asam oleat tidak larut dalam air dan larut dalam kloroform, eter, alcohol, dan benzene. Asam oleat memiliki berat jenis 0.895 pada 25°C. Selain itu, asam oleat memiliki konstanta disosiasi dengan pKa 5.02 dalam larutan pada 25°C [16].



2.4 Urea

Urea atau karbamida merupakan senyawa organik yang memiliki unsur karbon, hidrogen, oksigen, dan nitrogen. Rumus molekul urea yaitu $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$. Nama lain urea yang sering digunakan yaitu resin karbamida, isourea, karbonil diamida, ataupun karbonildiamina. Urea perlu disimpan pada temperatur 10-30°C dan kelembaban relative kurang dari 70% agar urea tidak mudah rusak karena memiliki sifat higroskopis. Urea sering digunakan sebagai bahan tambahan pakan ternak karena merupakan sumber non-protein nitrogen (NPN). Struktur urea dapat ditunjukkan pada **Gambar 2.5** [17].



Gambar 2.5 Struktur Urea [18]

Urea merupakan senyawa polar dengan muatan netral dan terdiri dari oksigen dan dua atom nitrogen sebagai akseptor ikatan hidrogen. Selain itu, terdapat dua gugus amino untuk donor ikatan hidrogen dengan total ikatan hidrogen sebanyak 4 [19]. Urea memiliki massa molekul sebesar 60.056 g/mol. Urea berwujud padatan kristal ataupun serbuk berwarna putih yang tidak berbau. Urea memiliki titik leleh 132.7°C. Urea sangat larut dalam air, larut dalam etanol, agak sukar larut dalam kloroform dan eter, tidak larut dalam benzene. Urea memiliki berat jenis sebesar 1.3230 pada 20°C. Selain itu, urea memiliki pH 7.2 dalam larutan 10% dan pK_a 0.1 pada 21°C [18].





2.5 Enzim Lipase

Lipase merupakan suatu enzim yang dapat memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Lipase ada dalam sekresi pancreas dan bertanggung jawab terhadap pencernaan lemak. Lipase memiliki berbagai jenis, contohnya lipase hati yang terdapat di hati, lipoprotein lipase yang terdapat di permukaan endotel vascular, dan lipase pancreas terdapat di usus kecil. Enzim lipase tersusun atas lipatan alfa dan beta hydrolase [20]. Enzim lipase merupakan hydrolase serin yang dikenal juga dengan nama triasilgliserol asilhidrolase dan juga dibedakan dari esterase berdasarkan sifat substratnya. Lipase dapat menghidrolisis ester yang tidak larut dalam air dengan menunjukkan distribusi yang berbeda pada asam amino hidrofobik yang mengelilingi situs aktif [21].

Lipase umumnya mengkatalisis reaksi hidrolisis dari ikatan ester dari trigliserida, digliserida, maupun monogliserida menjadi asam lemak dan gliserol. Enzim lipase juga dapat digunakan untuk substrat jenis apapun. Reaksi ini umumnya dilakukan dalam sistem bifasik, yaitu adanya fase organik yang tidak bercampur yang mengandung substrat hidrofobik dalam air. Selain hidrolisis, lipase juga digunakan untuk sintesis, contohnya yaitu esterifikasi, transesterifikasi, amidasi, asidolisis, aminolisis, dan reaksi interesterifikasi [21]. Substrat alami enzim lipase yaitu trigliserida dari asam lemak. Enzim lipase akan dikarakterisasi untuk dapat melihat kemampuannya dalam mengkatalisis hidrolisis ikatan ester asam lemak yang tidak larut dalam air . Aktivitas lipase dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor yang paling penting yaitu suhu penyimpanan lipase. Adapun suhu penyimpanan lipase yang optimum yaitu 30-40°C [22].

2.6 Amobilisasi Enzim

Enzim dimanfaatkan dalam industri sekitar 1,5 miliar Euro. Enzim tidak mudah untuk diisolasi dari produk dan harga nya yang sangat mahal. Salah satu metode untuk mengurangi biaya penggunaan enzim yaitu dengan amobilisasi. Amobilisasi enzim dapat membuat enzim dapat digunakan untuk beberapa kali. Enzim amobil umumnya dalam bentuk matriks polimer dari manik-manik atau membran sehingga tidak mudah menjadi larutan. Enzim amobil cenderung lebih stabil dibandingkan dengan enzim terlarut. Akan tetapi, enzim amobil memiliki kekurangan yaitu berkurangnya aktivitas, perubahan kinetika, dan difusi atau perpindahan massa [23].

Metode amobilisasi enzim telah banyak dikembangkan. Secara umum, metode amobilisasi enzim dibagi menjadi 5 yaitu : [23].

a. Adsorpsi

Metode ini merupakan metode termudah dan mencakup permukaan dengan interaksi antara carrier dan enzim. Gaya yang terbentuk adalah gaya yang lemah, sebagian besar elektrostatis, contohnya yaitu gaya Van der Waals, ikatan ionic, interaksi ikatan hidrogen. Metode ini dilakukan dengan mencampurkan enzim dengan material pendukung dalam sifat adsorpsi dalam pH optimum. Kelebihan dari metode ini yaitu sedikit atau tidak ada kerusakan pada enzim, mudah, murah, dan cepat, serta tidak terjadi perubahan pada carrier atau enzim. Adapun kekurangan dari metode ini yaitu pemisahan produk yang sulit dan pengikatan yang tidak spesifik.

b. Covalent binding

Metode ini terdiri atas pembentukan ikatan kovalen antara enzim dengan carrier. Ikatan kovalen yang terbentuk diantara gugus fungsi yang terdapat di permukaan carrier dan enzim. Gugus fungsi tersebut yaitu gugus amino (NH_2) dari arginine atau lisin, karboksilat (COOH) dari asam glutamate atau asam aspartate, hidroksil (OH) dari treonin atau serin, dan gugus sulfhidril (SH) dari sistein. Metode ini terdiri dari dua langkah, pertama, aktivasi gugus fungsi yang ditemukan pada permukaan carrier dengan reagen tertentu. Langkah kedua yaitu menambahkan enzim untuk membentuk ikatan kovalen dengan permukaan yang telah diaktivasi pada carrier.



c. Entrapment (penjebakan)

Metode ini merupakan salah satu teknik amobilisasi yang termudah. Pada metode ini diperlukan matriks dalam bentuk gel yang berperan penting dalam reaksi penjebakan. Parameter yang penting dalam pemilihan matriks dalam metode ini yaitu ukuran pori. Perbedaan metode ini dengan metode adropsi dan *covalent binding* adalah walaupun enzim dibatasi pergerakannya dengan struktur kisi gel tetapi enzim tersebut tetap bebas dalam larutan.

d. Enkapsulasi

Enkapsulasi enzim dapat dicapai dengan membungkus komponen biologis dalam berbagai bentuk membrane semi permeable. Protein besar atau enzim tidak dapat keluar-masuk kapsul dan substrat dan produk akan bebas melintasi membrane semi permeable. Bahan yang digunakan untuk membentuk mikrokapsul yang berada pada kisaran 10-100 μ m yaitu nilon dan selulosa nitrat.

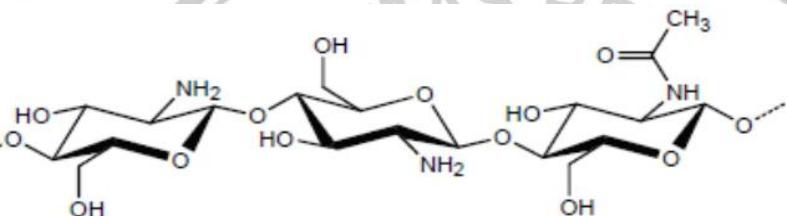
e. Cross linking

Jenis ikatan silang secara kimia secara umum mencakup pembentukan ikatan kovalen antara sel melalui reagen multifungsi seperti glutaraldehid dan toluene diisosianat. Metode ini menggunakan senyawa bi atau multifungsi sebagai reagen untuk ikatan silang antarmolekul dari biokatalis.

2.7 Kitosan

Kitosan merupakan senyawa polisakarida yang terbuat dari senyawa kitin yang merupakan polimer alami yang terdapat pada udang, kepiting, kerang, serangga, maupun *yeast*. Kitosan diolah dari kitin melalui proses deproteinasi dan demineralisasi dengan penambahan asam atau basa kuat. Deproteinasi dilakukan untuk menghilangkan protein dalam bahan baku dengan penambahan larutan basa yaitu NaOH. Sedangkan, demineralisasi bertujuan agar mineral-mineral yang terkandung dalam filtrate seperti besi, natrium, fosfor, kalsium, seng, magnesium, dan kalium dapat dipisahkan. Selain itu, dilakukan pula deasetilasi atau pengurangan gugus asetil pada kitin. Deasetilasi dilakukan untuk mengurangi gugus asetil yang terikat pada amina yang terdapat pada cincin dalam struktur kitin. Proses ini dapat dilakukan melalui hidrolisis dengan basa kuat lalu dipanaskan

sehingga dihasilkan kitosan. Struktur kitosan dapat dilihat pada **Gambar 2.6** [24].



Gambar 2.6 Struktur Kitosan [24]

Kitosan atau β -(1,4)-2-amino-2-dioksi-D-glukosa biasanya digunakan sebagai adsorben logam dalam air. Hal itu dikarenakan, kitosan memiliki gugus amino bebas dan hidroksil yang dapat berfungsi sebagai situs *chelation* atau situs ikatan koordinasi dengan ion logam untuk dapat membentuk *chelate*. Kitosan juga dapat dimanfaatkan sebagai koagulan untuk menurunkan kadar zat warna limbah cair dengan efisiensi 50,5%. Kemampuan kitosan dalam mengikat ion logam 5-6 kali lebih besar dibandingkan dengan kitin [5].

Kitosan juga dapat dimanfaatkan sebagai matriks pada amobilisasi enzim. Hal ini dikarenakan, kitosan memiliki dua gugus yang aktif yaitu gugus amino dan gugus hidroksil. Namun, untuk dijadikan matriks dalam amobilisasi enzim, kitosan harus diubah strukturnya. Struktur kitosan dapat diubah dengan menambahkan senyawa pengikat silang, salah satu nya adalah natrium tripolifosfat. Senyawa tersebut akan mengubah ukuran pori-pori serta porositas kitosan yang akan mempengaruhi jumlah enzim yang tertahan pada matriks [6].

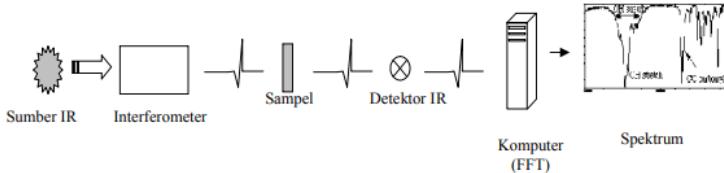
2.8 Spektrofotometer FTIR

Fourier Transformed Infrared (FTIR) merupakan suatu instrument yang digunakan untuk megidentifikasi senyawa dengan cara mendeteksi gugus fungsi dari sampel. Inframerah itu sendiri merupakan suatu spectrum gelombang electromagnet dengan bilangan gelombang 14000 cm^{-1} hingga 10 cm^{-1} . Inframerah dibagi lagi menjadi tiga daerah yaitu IR dekat, IR sedang, dan IR jauh. IR dekat memiliki



bilangan gelombang 14000-4000 cm^{-1} , IR dekat sensitif terhadap vibrasi *overtone*. IR sedang memiliki bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} , IR ini berhubungan dengan gugus-gugus fungsi dari molekul yang mengalami transisi energy vibrasi. IR jauh memiliki bilangan gelombang 400-10 cm^{-1} , IR ini digunakan untuk menganalisis atom-atom berat yang terkandung dalam molekul seperti senyawa anorganik. Senyawa-senyawa biasanya dianalisis pada daerah IR sedang [25].

Sistem kerja FTIR yaitu mula-mula sinar infra merah sebagai sumber sinar akan dibagi melewati dua berkas yaitu sampel dan pembanding. Kemudian, secara berurutan akan melewati chopper atau prisma. Berkas sinar yang sampai ke detector akan diubah menjadi sinyal listrik dan kemudian akan direkam oleh rekorder [26]. Selanjutnya sinyal yang terukur akan dikirim ke computer dan direkam dalam bentuk puncak-puncak. Skema sistem pad FTIR dapat dilihat pada **Gambar 2.7** [25].



Gambar 2.7 Skema Sistem FTIR [27]

2.9 *Hydrophylic-Lipophylic Balance (HLB)*

Hydrophylic-lipophylic Balance (HLB) merupakan suatu metode yang bertujuan untuk mengetahui *emulsifier* mana yang paling cocok dengan fasa minyak pada produk emulsi. Semua emulsifier memiliki kepala hidrofilik yang secara umum tersusun dari gugus fungsi yang larut dalam air dan ekor lipofilik yang secara umum tersusun dari asam lemak atau alcohol lemak [28]. HLB merupakan gambaran untuk pertimbangan hidrofil-lipofil dari bahan-bahan aktif permukaan. Rentang HLB setiap surfaktan dapat dibentuk secara optimal dengan adanya harga kesetimbangan hidrofilik dan lipofilik. Semakin besar nilai HLB suatu bahan, maka mahan tersebut akan semakin bersifat hidrofilik [29].

Penentuan nilai HLB dapat dilakukan dengan berbagai metode. Salah satunya yaitu dengan bilangan air. Bilangan air dapat ditentukan dengan cara titrasi larutan surfaktan dengan air [30]. Hubungan antara bilangan air dan nilai HLB dapat ditunjukkan pada persamaan 2.1 [31].

$$HLB = m \cdot \log WN - n \quad (2.1)$$

m dan n dapat diperoleh pada saat percobaan dan WN adalah bilangan air [31].

Pengelompokan surfaktan berdasarkan nilai HLB dapat dilihat pada **Tabel 2.1** [28].

Tabel 2.1 Pengelompokan Surfaktan Berdasarkan Rentang Nilai HLB [28]

Rentang Nilai HLB	Aplikasi
3-6	W/O Emulsifier
7-9	Agen pembasah
8-18	O/W Emulsifier
13-15	Deterjen
10-18	Pelarut

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang pada bulan Februari hingga Mei 2021.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat gelas, kertas saring, neraca analitik (AND HR-200), buret, statif, klem, pipet tetes plastik, *aluminium foil*, pengaduk magnet (IKA-Labortechnik), *shaker* (Edmund Buhler SM-25) , *refrigerator*, oven, indikator universal, dan spektrofotometer FTIR (Shimadzu 8400 S).

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu asam oleat (Fluka; 282,47 g/mol), urea (Merck; 60,00 g/mol), lipase *Candida rugosa* (Sigma Aldrich; 1,04 U/g), asam asetat glasial (Qrec; 60,05 g/mol), kitosan, natrium tripolifosfat, dinatrium fosfat dihidrat (Merck; 178 g/mol), mononatrium fosfat dihidrat (Merck; 138 g/mol), petroleum eter (SMART-LAB; 40-60°C), natrium hidroksida (Merck; 40 g/mol), indikator fenoltalein, etanol 96% teknis, asam oksalat (Merck; 126,07 g/mol), piridin, benzena, KBr, dan akuades.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini digunakan jenis Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang ditunjukkan pada **Tabel 3.1** dan **Tabel 3.2** dengan metode analisis data menggunakan ANOVA *One Way* atau satu arah yang ditunjukkan pada **Tabel 3.3**. Faktor yang diamati yaitu pengaruh waktu reaksi dan rasio mol dengan masing-masing menggunakan 5 perlakuan. Jumlah pengulangan dihitung menggunakan rumus Federer, yaitu:

$$t(n - 1) \geq 15$$



Keterangan : t = jumlah perlakuan
 n = jumlah pengulangan

Maka:

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Melalui perhitungan dengan rumus tersebut diperoleh bahwa pada setiap perlakuan dibutuhkan pengulangan sebanyak 4 kali atau lebih agar dihasilkan data yang valid.

Tabel 3. 1 RAL Faktor Waktu Reaksi

Waktu (Jam)	Pengulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
T1 (6)	T1-1	T1-2	T1-3	T1-4	$\sum_1^4 T1$	$\frac{\sum_1^4 T1}{4}$
T2 (12)	T2-1	T2-2	T2-3	T2-4	$\sum_1^4 T2$	$\frac{\sum_1^4 T2}{4}$
T3 (24)	T3-1	T3-2	T3-3	T3-4	$\sum_1^4 T3$	$\frac{\sum_1^4 T3}{4}$
T4 (36)	T4-1	T4-2	T4-3	T4-4	$\sum_1^4 T4$	$\frac{\sum_1^4 T4}{4}$
T5 (48)	T5-1	T5-2	T5-3	T5-4	$\sum_1^4 T5$	$\frac{\sum_1^4 T5}{4}$

Tabel 3. 2 RAL Faktor Rasio Mol

Rasio Mol	Pengulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
R1 (1:1)	R1-1	R1-2	R1-3	R1-4	$\sum_1^4 R1$	$\frac{\sum_1^4 R1}{4}$
R2 (1:2)	R2-1	R2-2	R2-3	R2-4	$\sum_1^4 R2$	$\frac{\sum_1^4 R2}{4}$
R3 (1:3)	R3-1	R3-2	R3-3	R3-4	$\sum_1^4 R3$	$\frac{\sum_1^4 R3}{4}$
R4 (1:4)	R4-1	R4-2	R4-3	R4-4	$\sum_1^4 R4$	$\frac{\sum_1^4 R4}{4}$
R5 (1:5)	R5-1	R5-2	R5-3	R5-4	$\sum_1^4 R5$	$\frac{\sum_1^4 R5}{4}$

Tabel 3. 3 Tabel ANOVA (Analysis Of Variance)

Source of Variation	df	SS	MS	F hitung	F 5%
Between Groups	4	SSB	MSB	$\frac{MSB}{MSW}$	
Within Groups	15	SSW	MSW		
Total	19				

Keterangan :

a. df Varietas (*Degree of freedom*)

$$\begin{aligned} \text{df between group} &= t - 1 \\ &= 5 - 1 \\ &= 4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{df total} &= (n \times t) - 1 \\ &= (4 \times 5) - 1 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 & df_{within group} = df_{total} - df_{between group} \\
 & = 19 - 4 \\
 & = 15
 \end{aligned}$$

b. SS (*Sum of Square*) between

$$SS = \sum \frac{T_i^2 - T^2}{n-N}$$

Keterangan:

$$\sum T_i = \text{jumlah setiap perlakuan}$$

\sum = jumlah dari data pada setiap perlakuan dan pengulangan $n = 4$

$$N = (n \times t)$$

$$= (4 \times 5)$$

$$= 20$$

c. SS (*Sum of Square*) total

$$SS_{total} = \sum (X_{ij})^2 - \frac{(\sum T^2)}{N}$$

Keterangan:

$\sum (X_{ij})^2$ = jumlah kuadrat dari data pada setiap perlakuan dan pengulangan

\sum = jumlah dari data pada setiap perlakuan dan pengulangan

$$N = (n \times t)$$

$$= (4 \times 5)$$

$$= 20$$

d. SS (*Sum of Square*) *within group*

$$SS = SS_{total} - SS_{between group}$$

e. MS (*Middle Square*)

$$\text{MS between group} = \frac{\text{SS between group}}{\text{df between group}}$$

$$\text{MS within group} = \frac{\text{SS within group}}{\text{df within group}}$$

$$\text{f. F hitung} = \frac{\text{MS between group}}{\text{MS within group}}$$

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini adalah :

1. Preparasi lipase amobil
2. Sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan lipase amobil :
 - a. Pengaruh waktu reaksi asam oleat dan urea terhadap hasil sintesis oleamida menggunakan lipase amobil
 - b. Pengaruh rasio mol asam oleat dan urea terhadap hasil sintesis oleamida menggunakan lipase amobil
 - c. Pemisahan Oleamida
3. Identifikasi dan karakterisasi oleamida
4. Analisis data

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Lipase Amobil

Kitosan ditimbang sebanyak 0,89 gram dan dilarutkan dalam 35 mL larutan asam asetat glasial 3%. Lalu, campuran diaduk dengan pengaduk magnet hingga homogen. Kemudian, lipase ditimbang sebanyak 0,2 gram dan dicampurkan dengan 35 mL larutan kitosan 2,5%. Larutan campuran yang terbentuk diteteskan menggunakan pipet plastik ke dalam larutan natrium tripolifosfat 3%. Tetesan campuran akan membentuk manik-manik dan didiamkan dalam *refrigerator* selama semalam. Setelah itu, lipase amobil dipisahkan dengan filtratnya dengan kertas saring. Selanjutnya, lipase amobil dimasukkan dalam buffer fosfat pH 8 dan disimpan dalam *refrigerator*.



3.5.2 Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea Menggunakan Lipase Amobil

3.5.2.1 Pengaruh Waktu Reaksi Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang dihasilkan

Erlenmeyer 100 mL disiapkan sebanyak 20 buah, kemudian asam oleat sebanyak 0,2824 gram, urea sebanyak 0,0597 gram, dan lipase amobil sebanyak 0,1 gram dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer. Lalu, ditambahkan petroleum eter sebanyak 10 mL. Setelah itu, campuran diinkubasi dalam shaker dengan variasi waktu 6;12;24;36; dan 48 jam. Selanjutnya, lipase amobil dipisahkan dari campuran dan campuran ditambahkan dengan 5 mL etanol dan indikator fenolftalein sebanyak 3 tetes. Berikutnya, campuran dititrasi dengan larutan NaOH 0,25 M hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Perlakuan dilakukan sebanyak empat kali.

3.5.2.2 Pengaruh Rasio Mol Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang dihasilkan

Erlenmeyer 100 mL disiapkan sebanyak 20 buah, kemudian asam oleat dan urea dimassukkan ke dalam erlenmeyer dengan rasio mol 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5 serta lipase amobil sebanyak 0,1 gram dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer. Lalu, ditambahkan petroleum eter sebanyak 10 mL. Setelah itu, campuran diinkubasi dalam shaker dengan waktu optimum. Selanjutnya, lipase amobil dipisahkan dari campuran dan campuran ditambahkan dengan 5 mL etanol dan indikator fenolftalein sebanyak 3 tetes. Berikutnya, campuran dititrasi dengan larutan NaOH 0,25 M hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Perlakuan dilakukan sebanyak empat kali.

3.5.2.3 Pemisahan Oleamida

Asam oleat dan urea direaksikan pada kondisi optimum. Selanjutnya, lipase amobil dipisahkan dari campuran. Lalu, campuran diuapkan pelarutnya dalam suhu ruang. Setelah pelarut menguap, produk yang terbentuk diambil dan dimasukkan ke dalam wadah sampel untuk diidentifikasi dan dikarakterisasi.



3.5.3 Identifikasi dan Karakterisasi Oleamida

3.5.3.1 Analisis dengan Spektrofotometer FTIR

Analisis dengan spektrofotometer FTIR dilakukan pada asam oleat, urea, dan juga oleamida yang dihasilkan. Asam oleat diambil secukupnya dan dioleskan ke *NaCl window*. Setelah itu, *NaCl window* ditekan. Sedangkan urea dan oleamida yang dihasilkan diambil secukupnya lalu dicampur dengan KBr yang telah dipanaskan dan dimasukkan ke dalam cetakan *pellet*. Kemudian, asam oleat, urea, serta oleamida dianalisis dengan spektrofotometer FTIR pada bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹.

3.5.3.2 Analisis *Hydrophylic-Lipophylic Balance* (HLB)

Nilai HLB ditentukan melalui metode bilangan air. Hasil sintesis oleamida pada kondisi optimum diambil secukupnya. Kemudian, ditambahkan dengan campuran piridin : benzena (95:5) sebanyak 2,5 mL. Setelah itu, campuran dititrasi dengan akuades sampai diperoleh kekeruhan permanen yang menandakan titik akhir titrasi. Nilai HLB oleamida dapat ditentukan dari kurva baku standar berdasarkan surfaktan yang sudah diketahui nilai HLB nya.

3.5.4 Analisis Data

3.5.4.1 Sintesis Oleamida

Data hasil penentuan pengaruh waktu reaksi optimum dan rasio mol optimum asam oleat dan urea dalam sintesis oleamida diuji homogenitasnya. Kemudian, dianalisis dengan rancangan acak lengkap (RAL) menggunakan tabel ANOVA. Dari tabel ANOVA diketahui nilai F hitung dan dibandingkan dengan nilai F kritis (tabel). Jika $F_{\text{hitung}} > F_{\text{kritis}}$ (tabel) maka dilanjutkan dengan uji BNJ.

3.5.4.2 Nilai HLB Oleamida

Nilai HLB oleamida dapat diketahui dari bilangan air. Bilangan air dari oleamida dimasukkan ke dalam persamaan dari kurva baku standar surfaktan yang telah diketahui nilai HLB nya sehingga diperoleh nilai HLB dari alkilamida. Nilai HLB ini digunakan untuk menentukan aplikasi surfaktan dari oleamida.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Sintesis Oleamida dari Asam Oleat dan Urea Menggunakan Lipase Amobil

Sintesis oleamida dilakukan dengan cara mereaksikan asam oleat dan urea menggunakan katalis enzim lipase dari *Candida rugosa* yang diamobilisasi dalam matriks kitosan dengan cara penjebakan. Lipase yang diamobilisasi akan terjebak dalam matriks kitosan yang berikatan silang dengan natrium tripolifosfat. Gugus amina pada kitosan akan terprotonasi menjadi --NH_3^+ ketika kitosan dilarutkan dalam asam asetat. Sedangkan, larutan natrium tripolifosfat akan mengalami disosiasi menjadi $\text{H}_3\text{P}_3\text{O}_{10}^{2-}$ ketika dilarutkan dalam akuades. Kemudian, muatan positif pada kitosan yaitu --NH_3^+ akan berikatan silang dengan muatan negatif pada natrium tripolifosfat yaitu $\text{H}_3\text{P}_3\text{O}_{10}^{2-}$ [32].

Enzim lipase apabila dalam kondisi pelarut polar akan mengkatalisis reaksi hidrolisis. Sedangkan pada kondisi pelarut non polar, enzim lipase dapat mengkatalisis reaksi esterifikasi dan amidasi. Sintesis oleamida dilakukan dengan mereaksikan asam oleat dan urea melalui reaksi amidasi yang dikatalisis oleh lipase dalam pelarut petroleum eter. Reaksi amidasi untuk sintesis oleamida menggunakan asam karboksilat lebih sulit, oleh karena itu asam karboksilat atau dalam penelitian ini yaitu asam oleat akan diubah terlebih dahulu menjadi asil ester melalui tahap asilasi Reaksi sintesis oleamida terjadi melalui dua tahap yaitu asilasi yang ditunjukkan pada

Gambar 4.1 dan tahap deasilasi yang ditunjukkan pada **Gambar 4.2**.

Pada tahap asilasi, elektron pada atom O pada sisi aktif lipase yaitu asam amino serin₂₀₉ akan menyerang karbonil pada asam oleat melalui reaksi adisi nukleofilik. Kemudian, sisi aktif lipase, aspartat₄₅₇ akan membentuk ikatan hidrogen dengan histidin₄₄₉. Selanjutnya, asam amino serin₂₀₉ akan terdeprotonasi oleh asam amino histidin₄₄₉ yang telah berikatan dengan asam aspartat₄₅₇. Asam amino serin₂₀₉ akan lepas dan berikatan dengan asam oleat dan akan terbentuk intermediet

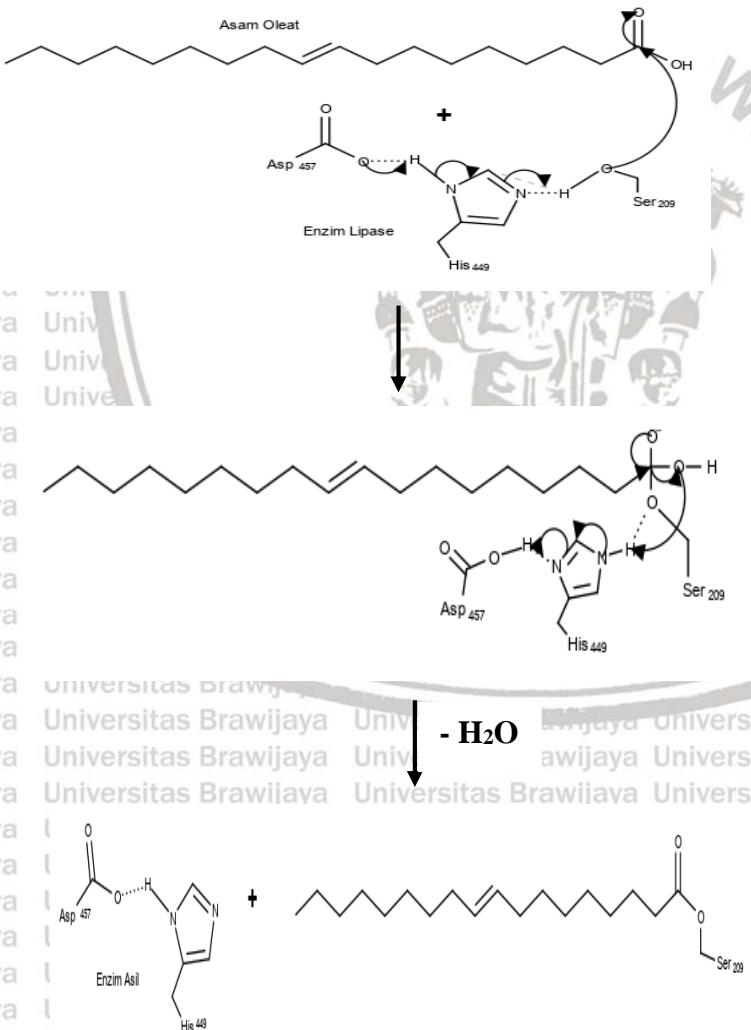




pertama. Lalu, intermediet pertama akan melepaskan air sehingga intermediet mengalami dehidrasi. Hal ini mengakibatkan terbentuknya asil ester.

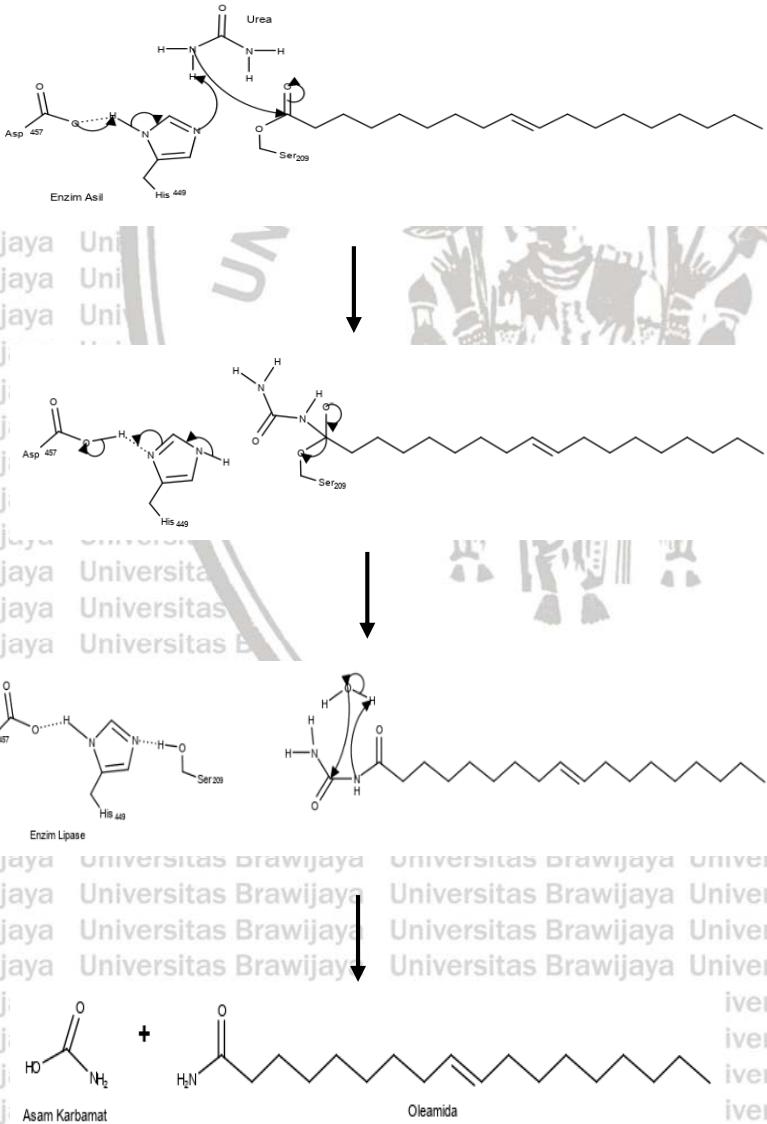
Pada tahap deasilasi, elektron pada sisi aktif asam amino histidin⁴⁴⁹ akan menyerang N-H primer pada urea sehingga atom H urea akan lepas dan berikatan dengan asam amino histidin⁴⁴⁹. Hal ini mengakibatkan atom N pada urea menjadi lebih elektronegatif, sehingga atom N akan menyerang atom karbonil pada asil ester. Kemudian, atom O pada asam amino serin²⁰⁹ akan berikatan dengan atom H pada asam amino histidin⁴⁴⁹. Hal ini menyebabkan asam amino serin lepas dari asil ester dan terbentuk lipase pada kondisi semula serta intermediet kedua. Selanjutnya, intermediet kedua akan bereaksi dengan air membentuk oleamida.

Tahap Asilasi



Gambar 4. 1 Mekanisme Reaksi Tahap Asilasi

Tahap Deasilasi



Gambar 4. 2 Mekanisme Reaksi Tahap Deasilasi

Sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan lipase amobil dilakukan dengan dua parameter yaitu waktu reaksi dan rasio mol.

4.1.1 Pengaruh Waktu Reaksi Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang dihasilkan

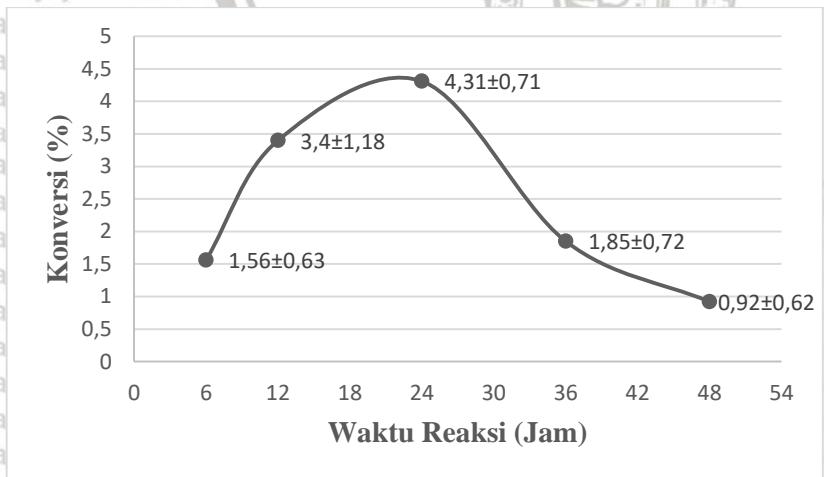
Parameter pertama yang ditentukan pada sintesis oleamida adalah pengaruh waktu reaksi. Parameter ini ditentukan dengan cara mereaksikan asam oleat dan urea dengan variasi waktu 6;12;24;36 dan 48 jam untuk mengetahui waktu reaksi optimum.

Data hasil penentuan pengaruh waktu reaksi pada sintesis oleamida diuji homogenitas nya untuk mengetahui variansi data antara waktu reaksi dengan persen konversi bersifat homogen atau tidak. Uji homogenitas pada penelitian ini dianalisis dengan menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada **Lampiran D.1**. Hasil uji homogenitas menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,224, hal ini menunjukkan bahwa variansi data waktu reaksi dan persen konversi adalah homogen karena nilai signifikansi $> 0,05$. Oleh karena itu, analisis dapat dilanjutkan dengan ANOVA. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pula pada **Lampiran D.1**. Pada uji ANOVA didapatkan nilai F hitung sebesar 12,322 dengan nilai F 5% sebesar 3,06 sehingga $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$. Selain itu, didapatkan pula nilai P-value sebesar 0,000123 dengan nilai alfa 0,05, maka $P_{\text{value}} < \alpha$. Nilai $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$ serta nilai $P_{\text{value}} < \alpha$ menunjukkan bahwa H_0 ditolak. Sehingga, berdasarkan hasil uji ANOVA, ada nyata perbedaan nyata terhadap persen konversi karena pengaruh waktu reaksi. Selanjutnya, dilakukan analisa data dengan uji BNJ untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang nyata dari masing-masing perlakuan waktu reaksi. Hasil uji BNJ dapat dilihat pada **Lampiran D.1**. Pada hasil uji BNJ dapat diketahui bahwa variasi waktu reaksi 24 jam berbeda nyata dibandingkan variasi waktu reaksi yang lain.

Pada sintesis oleamida, ditentukan persen konversi dari masing-masing waktu reaksi melalui titrasi dengan NaOH 0,25 M. Asam oleat yang tidak bereaksi dengan urea akan bereaksi dengan NaOH. Mol asam oleat yang tidak bereaksi atau mol asam oleat sisa ditentukan

dengan mengalikan volume titrasi dengan konsentrasi NaOH. Kemudian, akan ditentukan mol asam oleat yang bereaksi dengan cara mol asam oleat awal dikurangi dengan mol asam oleat sisa. Setelah didapatkan mol asam oleat yang bereaksi dapat ditentukan persen konversi dengan cara mol asam oleat yang bereaksi dibagi dengan mol asam oleat awal. Waktu reaksi dengan persen konversi tertinggi merupakan waktu reaksi optimum karena dengan persen konversi yang tinggi menunjukkan bahwa asam oleat bereaksi dengan urea menghasilkan oleamida paling banyak.

Berdasarkan hasil penelitian, persen konversi oleamida yang dihasilkan oleh reaksi amidasi antara asam oleat dan urea pada waktu reaksi 6, 12, 24, 36, dan 48 jam berturut-turut adalah $1,56\pm0,63\%$; $3,40\pm1,18\%$; $4,31\pm0,71\%$; $1,85\pm0,72\%$ dan $0,92\pm0,62\%$. Kurva hubungan antara variasi waktu reaksi terhadap persen konversi oleamida dengan rasio mol 1:1 dapat dilihat pada **Gambar 4.3**.



Gambar 4.3 Kurva Hubungan Waktu Reaksi dengan Persen Konversi

Pada Gambar 4.3 dapat diketahui waktu reaksi optimum terjadi pada waktu reaksi 24 jam dengan persen konversi yang dihasilkan sebesar $4,31\pm0,71\%$. Waktu reaksi untuk sintesis oleamida merupakan waktu yang dibutuhkan bagi asam oleat dan urea untuk bereaksi

membentuk oleamida. Semakin lama waktu reaksi asam oleat dan urea, maka semakin banyak oleamida yang dihasilkan. Namun, setelah lewat dari waktu reaksi optimum akan terjadi penurunan persen konversi. Hal ini dapat dilihat pula pada **Gambar 4.3**, dari waktu reaksi 6 jam hingga 24 jam persen konversi yang dihasilkan meningkat, akan tetapi terjadi penurunan persen konversi pada waktu reaksi 36 jam dan 48 jam. Hal tersebut karena pada reaksi amidasi, dihasilkan produk samping berupa air . Adanya air ini dapat menghidrolisis produk sehingga kesetimbangan reaksi akan bergeser ke arah kiri. Kesetimbangan reaksi yang bergeser ke arah kiri menyebabkan penurunan produk yang terbentuk [4].

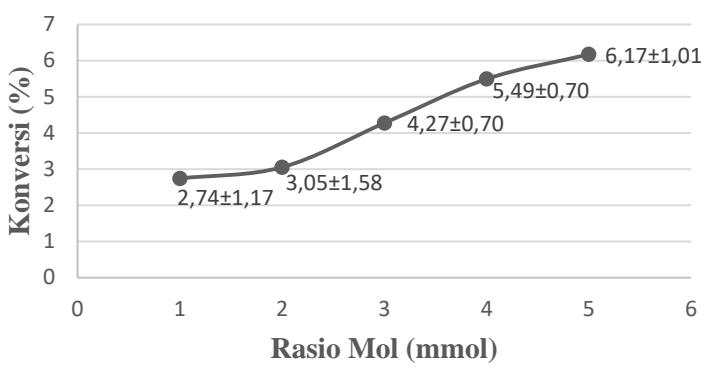
Penelitian sebelumnya yaitu sintesis alkilamida dari minyak inti buah ketapang menunjukkan waktu reaksi yang sama yaitu 24 jam [3]. Sedangkan pada penelitian lain yaitu sintesis erukamida dari asam erukat dan urea diperoleh waktu reaksi optimum selama 48 jam [33]. Perbedaan waktu reaksi antara penelitian tersebut dengan penelitian ini, dikarenakan perbedaan panjang rantai karbon asam lemak yang digunakan. Penelitian tersebut menggunakan asam erukat yang memiliki 22 rantai karbon, sedangkan penelitian ini menggunakan asam oleat yang memiliki rantai karbon lebih pendek yaitu 18 rantai karbon. Panjang rantai karbon mempengaruhi kereaktifan asam lemak tersebut dengan urea. Semakin panjang rantai karbon maka semakin berkurang kereaktifannya, sehingga waktu yang diperlukan untuk bereaksi akan semakin lama. Selanjutnya, waktu reaksi optimum yang didapatkan digunakan sebagai waktu reaksi sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan lipase amobil dengan parameter rasio mol asam oleat dan urea.

4.1.2 Pengaruh Rasio Mol Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang dihasilkan

Parameter kedua yang ditentukan pada sintesis oleamida adalah pengaruh waktu reaksi. Parameter ini ditentukan dengan cara mereaksikan asam oleat dan urea dengan variasi rasio mol asam oleat dan urea yaitu 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5 yang direaksikan selama 24 jam.



Data hasil penentuan pengaruh rasio mol optimum pada sintesis oleamida diuji homogenitas nya untuk mengetahui variansi data antara rasio mol dengan persen konversi bersifat homogen atau tidak. Uji homogenitas pada penelitian ini dianalisis dengan menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada **Lampiran D.2**. Hasil uji homogenitas menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,360, hal ini menunjukkan bahwa variansi data waktu reaksi dan persen konversi adalah homogen karena nilai signifikansi $> 0,05$. Oleh karena itu, analisis dapat dilanjutkan dengan ANOVA. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pula pada **Lampiran D.2**. Pada uji ANOVA didapatkan nilai F hitung sebesar 7,596 dengan nilai F 5% sebesar 3,06 sehingga $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$. Selain itu, didapatkan pula nilai P-value sebesar 0,001492 dengan nilai alfa 0,05, maka $P_{\text{value}} < \alpha$. Nilai $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$ serta nilai $P_{\text{value}} < \alpha$ menunjukkan bahwa H_0 ditolak. Sehingga, berdasarkan hasil uji ANOVA, ada nya perbedaan nyata terhadap persen konversi karena pengaruh rasio mol. Selanjutnya, dilakukan analisa data dengan uji BNJ untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang nyata dari masing-masing perlakuan rasio mol. Hasil uji BNJ dapat dilihat pada **Lampiran D.2**. Pada hasil uji BNJ dapat diketahui bahwa variasi rasio mol 1:4 dan 1:5 berbeda nyata dibandingkan variasi rasio mol yang lain. Data yang diperoleh kemudian dibuat kurva hubungan antara rasio mol dengan persen konversi. Kurva hubungan antara rasio mol dengan persen komversi dapat dilihat pada **Gambar 4.4**.



Gambar 4. 4 Kurva Hubungan Rasio Mol dengan Persen Konversi

Pada sintesis oleamida, ditentukan persen konversi dari masing-masing rasio mol melalui titrasi dengan NaOH 0,25 M. Asam oleat yang tidak bereaksi dengan urea akan bereaksi dengan NaOH. Mol asam oleat yang tidak bereaksi atau mol asam oleat sisa ditentukan dengan mengalikan volume titrasi dengan konsentrasi NaOH.

Kemudian, akan ditentukan mol asam oleat yang bereaksi dengan cara mol asam oleat awal dikurangi dengan mol asam oleat sisa. Setelah didapatkan mol asam oleat yang bereaksi dapat ditentukan persen konversi dengan cara mol asam oleat yang bereaksi dibagi dengan mol asam oleat awal. Rasio mol dengan persen konversi tertinggi merupakan rasio mol optimum karena dengan persen konversi yang tinggi menunjukkan bahwa asam oleat bereaksi dengan urea menghasilkan oleamida paling banyak.

Berdasarkan hasil penelitian, persen konversi oleamida yang dihasilkan oleh reaksi amidasi antara asam oleat dan urea pada rasio mol asam oleat dan urea 1:1 ; 1:2; 1:3 ; 1:4 dan 1:5 berturut-turut adalah 2,74±1,17%; 3,05±1,58%; 4,27±0,70%; 5,49±0,70% dan 6,17±1,01%.



Pada **Gambar 4.4** dapat diketahui bahwa semakin besar rasio mol asam oleat dan urea, maka semakin tinggi persen konversinya. Pada penelitian ini, persen konversi dengan variasi rasio mol tidak mengalami penurunan. Oleh karena itu, rasio mol optimum dapat ditentukan dari persen konversi yang paling tinggi. Sehingga, rasio mol optimum untuk sintesis oleamida adalah 1:5 dengan persen konversi sebesar $6,17 \pm 1,01\%$.

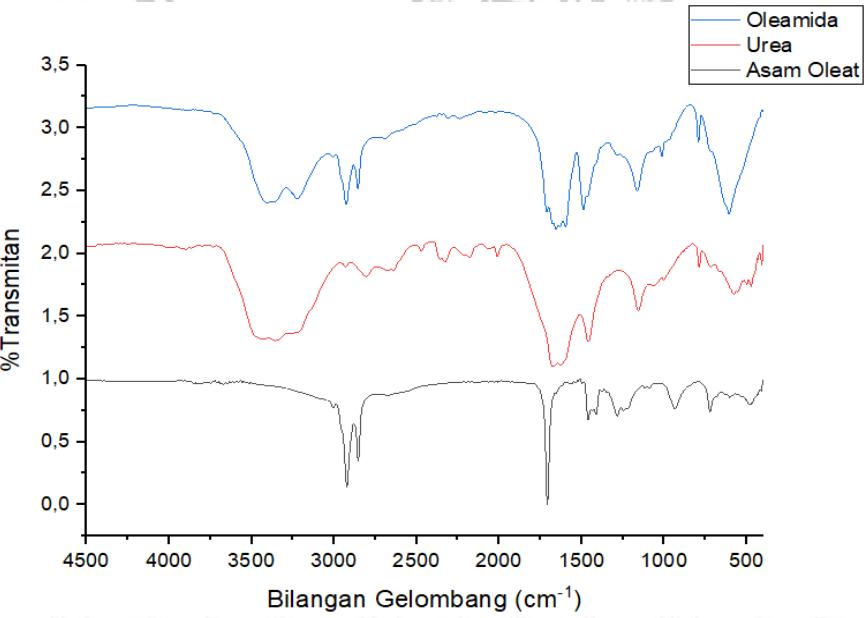
Penelitian sebelumnya yaitu sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan katalis AlCl_3 menunjukkan bahwa rasio mol optimum yaitu 1:4 dengan persen konversi sebesar 72% [4]. Penelitian lain yaitu sintesis erukamida dari asam erukat dan urea menunjukkan bahwa rasio mol optimum yaitu 1:4 dengan persen konversi 88,74% [33]. Persen konversi dua penelitian sebelumnya lebih besar dibandingkan persen konversi pada penelitian ini. Hal ini dikarenakan, penelitian sebelumnya mereaksikan asam oleat dan urea pada suhu 200°C dan 60°C, sedangkan pada penelitian ini asam oleat dan urea direaksikan pada suhu ruang karena pelarut yang digunakan memiliki titik didih yang rendah. Apabila direaksikan pada suhu tinggi, pelarut akan menguap terlebih dahulu sebelum reaksi berjalan. Selain itu, persen konversi juga dipengaruhi dari kemurnian bahan yang digunakan.

Setelah diketahui waktu reaksi optimum dan rasio mol optimum sebagai kondisi optimum untuk sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan lipase amobil, sintesis oleamida dapat dilakukan kemudian oleamida dapat dipisahkan dari pelarutnya untuk diidentifikasi dan dikarakterisasikan.

4.2 Identifikasi dan Karakterisasi Oleamida

4.2.1 Analisis dengan Spektrofotometer FTIR

Produk oleamida yang telah dipisahkan, dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer FTIR. Analisis dengan spektrofotometer FTIR ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya gugus amida yang terbentuk pada produk hasil sintesis. Hasil dari analisis ini adalah berupa spektra hubungan antara bilangan gelombang dengan % transmitan. Keberadaan oleamida dalam produk dapat diketahui dengan cara menganalisis gugus-gugus fungsi dari spektra FTIR yang didapat. Spektra FTIR oleamida juga dibandingkan dengan spektra FTIR asam oleat dan urea sebagai pereaksi dalam sintesis oleamida untuk dilihat pergeseran bilangan gelombang. Spektra FTIR asam oleat, urea, dan oleamida dapat ditunjukkan pada **Gambar 4.5**.



Gambar 4. 5 Spektra FTIR Asam Oleat, Urea, dan Oleamida





Keberadaan oleamida dalam produk hasil sintesis dapat dilihat dari gambar spektra IR pada Gambar 4.5, spektra yang berwarna biru adalah spektra oleamida. Interpretasi spektrum IR oleamida dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Interpretasi Spektrum IR Oleamida

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi
1.	3326,09 – 3377,27	N-H
2.	2855,28 – 2926,59	C-H
3.	1655,83	C=O
4.	1163,79	C-N

Pada spektra urea yang ditandai dengan warna merah terdapat pula serapan gugus fungsi NH_2 yang berada pada daerah bilangan gelombang 3355,88-3438,60 cm^{-1} . Ciri khas dari puncak serapan gugus fungsi NH_2 adalah terbentuknya 2 puncak. Adanya 2 puncak tersebut disebabkan oleh regangan simetri dan asimetri pada gugus NH_2 . Regangan simetri memerlukan energi yang lebih sedikit untuk bervibrasi dibandingkan dengan regangan asimetri, sehingga regangan simetri akan muncul pada bilangan gelombang yang lebih rendah dan regangan asimetri akan puncul pada bilangan gelombang yang lebih tinggi.

Keberadaan oleamida dalam produk hasil sintesis juga dapat dilihat dari adanya puncak serapan dari gugus fungsi C=O. Pada Gambar 4.5, spektra oleamida menunjukkan adanya serapan gugus fungsi C=O pada bilangan gelombang 1655,83 cm^{-1} . Serapan gugus fungsi C=O juga terdapat pada spektra asam oleat di daerah bilangan gelombang 1707,18 cm^{-1} dan pada spektra urea di daerah bilangan gelombang 1627,31 cm^{-1} . Jika dibandingkan, bilangan gelombang gugus fungsi C=O oleamida dan urea lebih rendah dibandingkan dengan asam oleat. Hal ini dikarenakan, pada oleamida dan urea terhadap gugus fungsi NH_2 yang berikatan dengan gugus C=O. Adanya pasangan elektron bebas pada NH_2 akan menyebabkan gugus C=O mengalami resonansi sehingga bilangan gelombang dari gugus C=O akan bergeser ke daerah bilangan gelombang yang lebih kecil. Jika spektra urea dan oleamida dibandingkan, bilangan gelombang

untuk gugus fungsi C=O pada urea lebih rendah dibandingkan dengan oleamida. Hal ini dikarenakan, pada urea terdapat dua gugus NH₂ yang berikatan dengan C=O, sedangkan pada oleamida hanya ada satu gugus NH₂ yang berikatan dengan gugus C=O.

Hasil analisa gugus fungsi oleamida dalam penelitian ini didasarkan pada literatur yang menyebutkan bahwa untuk identifikasi dan karakterisasi senyawa amida asam lemak dapat melihat serapan IR pada bilangan gelombang 3100-3500-cm⁻¹ yang menunjukkan adanya regangan N-H. Pada bilangan gelombang 1670-1820 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya regangan dari gugus fungsi C=O. Sedangkan, gugus fungsi C=O pada asam lemak dapat dilihat pada bilangan gelombang 1700-1725 cm⁻¹ [34].

4.2.2 Analisis HLB

Hydrophilic-Lipophylic Balance (HLB) merupakan nilai yang menunjukkan keseimbangan hidrofilik dan lipofilik pada surfaktan. Analisis nilai HLB bertujuan untuk mengetahui aplikasi dari surfaktan. Pada penelitian ini, analisis HLB dilakukan dengan menggunakan metode bilangan air (*water number method*). Gugus amida pada oleamida merupakan senyawa polar yang bersifat hidrofilik yang akan tarik menarik dengan molekul air dan ion nitrogen dari piridin yang bersifat non polar. Sedangkan gugus alkil pada oleamida bersifat hidrofobik atau lipofilik yang akan menarik molekul benzena yang bersifat non polar dan cincin heterosiklik aromatik molekul piridina. Titik akhir titrasi dicapai pada saat kekeruhan permanen. Hal tersebut menunjukkan bahwa larutan telah jenuh dan senyawa oleamida tidak dapat lagi berikatan dengan molekul air maupun larutan piridin dan benzena [35].

Produk oleamida diambil sebanyak 0,1 gram kemudian ditambahkan dengan 2,5 mL piridin:benzena (95:5) lalu dititrasi dengan akuades hingga diperoleh kekeruhan permanen yang menandakan titik akhir titrasi. Bilangan air diperoleh dengan cara membagi volume titrasi dengan massa sampel. Kemudian, bilangan air yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan dari kurva baku





standar surfaktan yang telah diketahui nilai HLB nya yang dapat dilihat pada **Lampiran F**. Berdasarkan perhitungan, diperoleh nilai HLB oleamida sebesar 5,64 dengan demikian oleamida dapat digunakan sebagai emulsifier pada sistem air dalam minyak (W/O).

Penelitian sebelumnya yaitu sintesis biosurfaktan lauril amida dari asam laurat dan dietanolamida menunjukkan nilai HLB lauril amida adalah 11,93 [2]. Nilai HLB oleamida lebih rendah dibandingkan lauril amida. Hal ini disebabkan oleh perbedaan panjang rantai lipofilik dari lauril amida dengan oleamida. Lauril amida merupakan amida asam lemak dengan rantai lipofilik yang tersusun atas 12 atom C sedangkan oleamida merupakan amida asam lemak dengan rantai lipofilik yang tersusun atas 18 atom C. Semakin panjang rantai lipofilik, maka akan semakin rendah nilai HLB. Surfaktan yang memiliki nilai HLB rendah akan larut dalam minyak dan meningkatkan emulsi air dalam minyak (w/o) [35].

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan sementara dari penelitian yang telah dilakukan adalah :

1. Waktu reaksi asam oleat dan urea memberikan pengaruh nyata terhadap hasil sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan lipase amobil. Waktu reaksi optimum adalah 24 jam dengan persen konversi sebesar $4,31 \pm 0,71$.
2. Rasio mol asam oleat dan urea memberikan pengaruh nyata terhadap hasil sintesis oleamida dari asam oleat dan urea menggunakan lipase amobil. Rasio mol optimum dari variasi rasio mol 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5 adalah 1:5 dengan persen konversi sebesar $6,17 \pm 1,01\%$.
3. Oleamida telah diidentifikasi dan dikaraktersasi dengan spektrofotometer FTIR yang menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang $3226,09 - 3377,27 \text{ cm}^{-1}$ untuk gugus fungsi NH_2 , $2855,28 - 2926,59 \text{ cm}^{-1}$ untuk gugus C-H, $1655,83 \text{ cm}^{-1}$ untuk gugus fungsi C=O, dan $1163,79 \text{ cm}^{-1}$ untuk gugus C-N. Nilai HLB oleamida adalah 5,64 sehingga oleamida dapat digunakan sebagai emulsifier W/O.

5.2 Saran

Sebaiknya untuk penelitian selanjutnya dilakukan variasi suhu agar didapat persen konversi yang lebih tinggi dan dilakukan pemurnian terhadap oleamida sebelum diidentifikasi dan dikarakterisasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wibi Sana, A., & Kailani, Z. (2017). APLIKASI SURFAKTAN MINYAK SAWIT UNTUK PROSES PEMASAKAN-PENGELANTANGAN DAN PENCELUPAN TEKSTIL. *Arena Tekstil*, 32(1). <https://doi.org/10.31266/at.v32i1.2708>
2. Denny Samuel Silaen, Tjahjono Herawan, Zuhrina Masyithah, & Hiskia Arapenta Ginting. (2017). OPTIMASI SINTESIS BIOSURFAKTAN LAURIL AMIDA DARI ASAM LAURAT DAN DIETANOLAMINA MENGGUNAKAN PELARUT HEXANE DAN ENZIM LIPASE TERIMOBILISASI. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 6(2), 19–23. <https://doi.org/10.32734/jtk.v6i2.1578>
3. Suhendra, D., Gunawan, E. R., & Murniati. (2013). Sintesis Secara Enzimatis Alkilamida Dari Minyak Inti Buah Ketapang Dengan Substrat Urea. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*, 36–43.
4. Taherkhani, Z., & Shojaei, O. (2020). Synthesis and Characterization of Oleamide Slip Agent. *International Journal of New Chemistry*, 1–11.
5. Supriyantini, E., Yulianto, B., Ridlo, A., Sedjati, S., & Nainggolan, A. C. (2018). Pemanfaatan Chitosan Dari Limbah Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) sebagai Adsorben Logam Timbal (Pb). *Jurnal Kelautan Tropis*, 21(1), 23. <https://doi.org/10.14710/jkt.v21i1.2399>
6. Prasetyawan, S. (2015). Optimasi Amobilisasi Enzim Pektinase dari Aspergillus niger Menggunakan Matriks Kitosan-Natrium Tripolifosfat dan Penentuan Efisiensi Penggunaannya. *Prosiding SEMIRATA*, 312–321.
7. Gunawan, E. R., Suhendra, D., Asnawati, D., Sudarma, I. M., & Zulpiani, I. (2014). SINTESIS ASAM-ASAM LEMAK AMIDA DARI EKSTRAK MINYAK INTI BUAH NYAMPLUNG (*Calophyllum Inophyllum*) MELALUI REAKSI ENZIMATIK. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 147–154.
8. Rios, M. Y., & Olivo, H. F. (2014). Natural and Synthetic Alkanides: Application in Pain Therapy. *Studies in Natural Products Chemistry*, 43, 79–121.



9. Elufioye, T. O., Habtemariam, S., & Adejare, A. (2020). Chemistry and Pharmacology of Alkylamides from Natural Origin. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 30(5), 622–640. <https://doi.org/10.1007/s43450-020-00095-5>
10. National Center For Biotechnology Information. (2021). Oleamide. *PubChem Compound Summary*. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oleamide>
11. Serdaroglu, M., Öztürk, B., & Kara, A. (2015). An Overview of Food Emulsions: Description, Classification and Recent Potential Applications. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 3(6), 430. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v3i6.430-438.336>
12. Sidik, S. L., Fatimah, F., & Sangi, M. S. (2013). Pengaruh Penambahan Emulsifier dan Stabilizer Terhadap Kualitas Santan Kelapa. *Jurnal MIPA*, 2(2), 79. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.1991>
13. Usaid, A., Premkumar, J., & Ranganathan, T. V. (2014). Emulsion and it's Applications in Food Processing- A Review. *International Journal of Engineering Research and Applications*, 4(4), 241–248.
14. Choulis, N. H. (2011). Miscellaneous Drugs, Materials, Medical Devices, and Techniques. *Side Effects of Drugs Annual*, 33, 1009–1029.
15. Granado-Casas, M., & Mauricio, D. (n.d.). *Oleic Acid in The Diet and What It Does: Implications for Diabetes and Its Complications* (Second.).
16. National Center For Biotechnology Information. (2021). Oleic Acid. *PubChem Compound Summary*. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oleic-acid>
17. yanuartono, yanuartono, Nururrozi, A., Indarjulianto, S., Purnamaningsih, H., & Rahardjo, S. (2018). Urea : Manfaat Pada Ruminansia. *Jurnal Ilmu-Ilmu peternakan*, 28(1), 10–34. <https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2018.028.01.02>
18. National Center For Biotechnology Information. (2021). Urea. *PubChem Compound Summary*. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Urea>
19. Wang, H., Ran, J., & Jiang, T. (2014). Urea. In B. Yang & J. M. Sands (Eds.), *Urea Transporters* (Vol. 73, pp. 7–29).



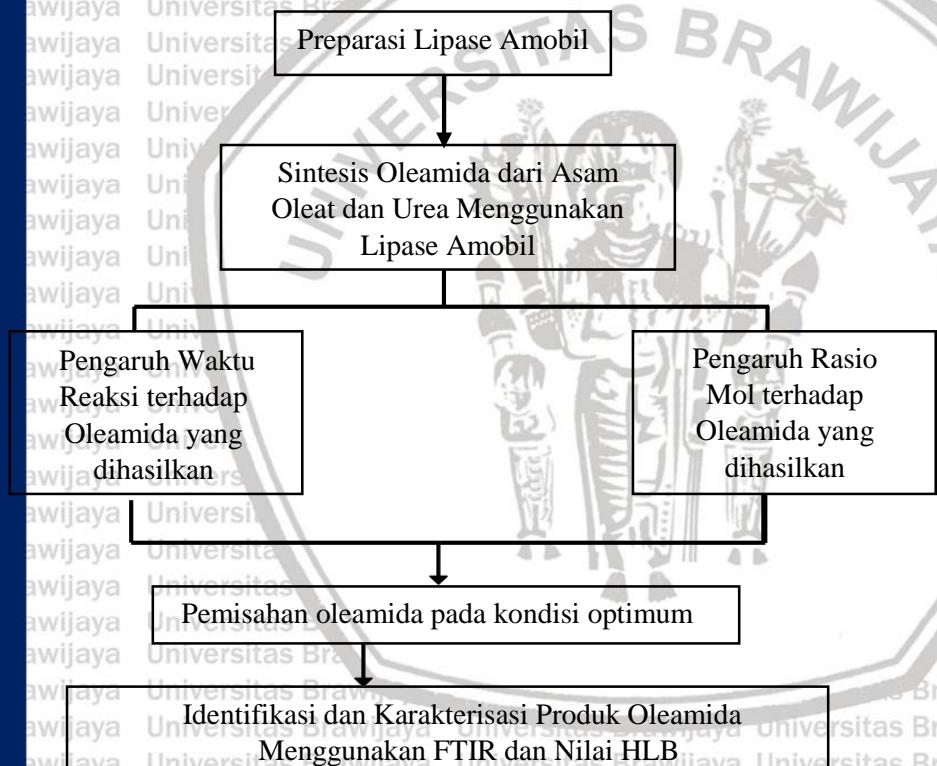
- Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9343-8_2
20. Pirahanchi, Y., & Sharma, S. (2020). *Biochemistry Lipase*. California: StatPearls.
21. Casas-Godoy, L., Gasteazoro, F., Duquesne, S., Bordes, F., Marty, A., & Sandoval, G. (2018). Lipases: An Overview: Methods and Protocols. In *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.) (Vol. 1835, pp. 3–38). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8672-9_1
22. Djarkasi, G. S. S., Raharjo, S., & Noor, Z. (2017). ISOLASI DAN AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM LIPASE INDIGENOUS BIJI KENARI. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 8(1), 28–35.
23. Tamer, T., Omer, A., & Hassan, M. (2016). Methods of Enzyme Immobilization. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, 7, 385–392.
24. Marieta, A., & Musfiroh, I. (2019). REVIEW ARTIKEL : BERBAGAI AKTIVITAS FARMAKOLOGI DARI SENYAWA KITOSAN. *Farmaka*, 17(2), 105–110.
25. Sari, N. W., & Fajri, M. (2018). ANALISIS FITOKIMIA DAN GUGUS FUNGSI DARI EKSTRAK ETANOL PISANG GOROHO MERAH (MUSA ACUMINATE (L)). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(1), 30–34.
26. Pambudi, A., Farid, M., & Hakim, J. A. R. (2017). Analisis Morfologi dan Spektroskopi Infra Merah Serat Bambu Betung (Dendrocalamus Asper) Hasil Proses Alkalisasi Sebagai Penguat Komposit Absorbsi Suara. *Jurnal Teknik ITS*, 6(2), 441–444.
27. Suseno, J. E., & Firdausi, K. S. (2008). Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared) untuk Penentuan Kualitas Susu Sapi. *Berkala Fisika*, 11(1), 23–28.
28. Gadhave, A. (2014). Determination of Hydrophilic-Lipophilic Balance Value. *International Journal of Science and Research*, 3(4), 3.
29. Anastasia Wulan Pratidina Swasono, Putri Dei Elvarosa Sianturi, & Zuhrina Masyithah. (2012). SINTESIS SURFAKTAN ALKIL POLIGLIKOSIDA DARI GLUKOSA DAN DODEKANOL DENGAN KATALIS ASAM. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 1(1), 5–9. <https://doi.org/10.32734/jtk.v1i1.1398>



30. Verdinelli, V., Messina, P. V., Schulz, P. C., & Vuano, B. (2008). Hydrophile-lipophile balance (HLB) of n-alkane phosphonic acids and theirs salts. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 316(1), 131–135. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.08.040>
31. Ogonowski, J., & Tomaszkiewicz-Potepa, A. (2004). *The Analysis of Surfactants*. Krakow: Wydawnictwo IGSMie PAN.
32. Tantowidjojo, V. R., Roosdiana, A., & Prasetyawan, S. (2013). Optimasi Amobilisasi Pektinase dari Bacillus subtilis menggunakan Kitosan-Natrium Tripolifosfat. *Kimia Student Journal*, 1(1), 91–97.
33. Awasthi, N. P., & Singh, R. P. (2007). Lipase-catalyzed Synthesis of Fatty Acid Amide (Ercamamide) Using Fatty Acid and Urea. *Journal of Oleo Science*, 56(10), 507–509. <https://doi.org/10.5650/jos.56.507>
34. Abel-Anyebe, O., Idris, N., Keita, D., Ita Ekpenyong, K., & Audu Yakubu, M. (2020). Fatty Amides in Minutes: Direct Formation from Fatty Esters in a Green Synthetic Process. *Science Journal of Analytical Chemistry*, 8(1), 18. <https://doi.org/10.11648/j.sjac.20200801.14>
35. Bastian, F., Suryani, A., & Sunarti, T. C. (2012). PENINGKATAN KECERAHAN PADA PROSES SINTESIS SURFAKTAN NONIONIK ALKIL POLIGLIKOSIDA (APG) BERBASIS TAPIOKA DAN DODEKANOL. *Reaktor*, 14(2), 143. <https://doi.org/10.14710/reaktor.14.2.143-150>
36. Putri, K. S. S. (2010). *Optimasi Nisbah Mol Pati Tapioka-Butanol dan Nisbah Mol Pati Tapioka-Fatty Alcohol C10 pada Proses Pembuatan Surfaktan Nonionik Alkil Poliglikosida* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor.

LAMPIRAN

Lampiran A. Tahapan Penelitian



Lampiran B. Perhitungan

Lampiran B. 1 Pembuatan 50 mL Asam Asetat Glasial 3%

Larutan asam asetat glasial 3% dibuat dari asam asetat glasial 100% dengan perhitungan :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100\% = 50 \text{ mL} \times 3\%$$

$$V_1 = \frac{50 \text{ mL} \times 3\%}{100\%}$$

$$V_1 = 1,5 \text{ mL}$$

Jadi asam asetat glasial 100% dipipet sebanyak 1,5 mL dengan pipet ukur 10 mL lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Kemudian ditambahkan dengan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

Lampiran B. 2 Pembuatan Larutan Kitosan 2,5%

Pada pra-penelitian digunakan 0,625 gram kitosan dan 0,14 gram lipase yang dihomogenkan dalam 25 mL asam asetat glasial untuk membuat larutan kitosan 2,5%. Pada penelitian ini digunakan lipase sebanyak 0,2 gram sehingga :

$$\frac{0,625 \text{ g kitosan}}{0,14 \text{ g enzim lipase}} = \frac{\text{massa kitosan}}{0,2 \text{ g enzim lipase}}$$
$$\frac{\text{massa kitosan}}{0,625 \text{ g} \times 0,2 \text{ g}} = \frac{0,14 \text{ g}}{\text{massa kitosan}}$$
$$\text{massa kitosan} = 0,89 \text{ gram}$$

Asam asetat glasial 3% yang diambil untuk membuat larutan kitosan 2,5% adalah :

$$\text{Kitosan } 2,5\% = \frac{\text{massa kitosan}}{\text{volume asam asetat glasial}}$$

$$0,025 = \frac{0,89 \text{ g}}{\text{volume asam asetat glasial}}$$

$$\text{Volume asam asetat glasial} = \frac{0,89 \text{ g}}{0,025}$$

Volume asam asetat glasial = 35 mL

Jadi kitosan ditimbang sebanyak 0,89 gram kemudian dihomogenkan dalam 35 mL larutan asam asetat glasial 3%.

Lampiran B. 3 Pembuatan Larutan Natrium Tripolifosfat 3%

Larutan natrium tripolifosfat 3% dibuat dari natrium tripolifosfat dengan perhitungan :

$$[\text{NaTPP}] = \frac{3 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = \frac{1,5 \text{ gram}}{50 \text{ mL}}$$

Jadi natrium tripolifosfat ditimbang sebanyak 1,5 gram dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Kemudian ditambahkan dengan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

Lampiran B. 4 Pembuatan Larutan Buffer Fosfat pH 8

Larutan buffer fosfat pH 8 dibuat dari larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M dan larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,2 M dengan perhitungan :

- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M

$$M = \frac{\text{massa (g)}}{\frac{\text{Mr}}{\text{Volume (L)}}}$$

$$0,1 = \frac{\text{massa (g)}}{177,99 \text{ g/mol}}$$

$$0,1 \text{ L}$$

$$\text{massa (g)}$$

$$0,01 = \frac{177,99 \text{ g/mol}}{177,99 \text{ g/mol}}$$

$$\text{Massa} = 1,78 \text{ gram}$$

• $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,2 M

$$M = \frac{\text{massa (g)}}{\text{Volume (L)}}$$
$$0,2 = \frac{137,99 \text{ g/mol}}{0,1 \text{ L}}$$
$$0,02 = \frac{\text{massa (g)}}{137,99 \text{ g/mol}}$$
$$\text{Massa} = 2,76 \text{ gram}$$

Jadi $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ditimbang sebanyak 1,78 gram dan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ditimbang sebanyak 2,76 gram. Kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, lalu dihomogenkan. Setelah itu, larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ diambil sebanyak 94,7 mL dan larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ diambil sebanyak 5,3 mL, lalu dicampurkan dan ditambahkan akuades hingga volumenya 200 mL.

Lampiran B. 5 Pembuatan Larutan NaOH 0,25 M

Larutan NaOH 0,25 M dibuat dengan menimbang padatan NaOH dengan perhitungan :

$$\text{mol NaOH} = 0,25 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}} \times 100 \text{ mL}$$

$$\text{mol NaOH} = 25 \text{ mmol}$$

$$\text{massa NaOH} = \text{mol NaOH} \times \text{Mr NaOH}$$

$$\text{massa NaOH} = 25 \text{ mmol} \times 40 \text{ mg/mmol}$$

$$\text{massa NaOH} = 1000 \text{ mg} = 1 \text{ g}$$

Jadi NaOH ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dengan etanol teknis dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu, ditambahkan etanol teknis hingga tanda batas dan dihomogenkan.

Lampiran B. 6 Pembuatan Larutan Asam Oksalat 0,025 M

Larutan asam oksalat 0,025 M dibuat dengan menimbang asam oksalat dengan perhitungan :

$$M = \frac{\text{massa (g)}}{\text{Volume (L)} \times \text{Mr}}$$

$$0,025 = \frac{\text{massa (g)}}{0,1 \text{ L} \times 126 \text{ g/mol}}$$

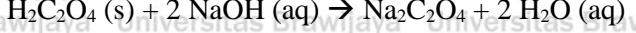
$$0,0025 = \frac{\text{massa (g)}}{126 \text{ g/mol}}$$

$$\text{Massa} = 0,315 \text{ gram}$$

Jadi asam oksalat ditimbang sebanyak 0,315 gram lalu dilarutkan dengan akuades. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dan diencerkan dengan akuades hingga tanda batas lalu dihomogenkan.

Lampiran B. 7 Pembakuan Larutan NaOH dengan Larutan Asam Oksalat 0,025 M

Larutan asam oksalat 0,025 M diambil sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Setelah itu, ditambahkan indikator fenolftalein (pp) sebanyak 3 tetes lalu dititrasi dengan NaOH-etanol teknis hingga terjadi perubahan warna. Reaksi yang terjadi saat pembakuan NaOH dengan asam oksalat adalah sebagai berikut :



Perhitungan konsentrasi NaOH adalah sebagai berikut :

$$2 \text{ mol NaOH} = \text{mol H}_2\text{C}_2\text{O}_4$$

- Pembakuan NaOH untuk variasi 6 jam

$$[\text{NaOH}] = \frac{0,025 \text{ M} \times 10 \text{ mL} \times 2}{2 \text{ mL}}$$

$$[\text{NaOH}] = 0,25 \text{ M}$$



- Pembakuan NaOH untuk variasi 12;24;36;48 jam

$$[NaOH] = \frac{0,025 \text{ M} \times 10 \text{ mL} \times 2}{2,025 \text{ mL}}$$

$$[NaOH] = 0,2469 \text{ M}$$

- Pembakuan NaOH untuk variasi 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 mmol

$$[NaOH] = \frac{0,025 \text{ M} \times 10 \text{ mL} \times 2}{2,05 \text{ mL}}$$

$$[NaOH] = 0,2439 \text{ M}$$

- Pembakuan NaOH untuk variasi 1:5 mmol

$$[NaOH] = \frac{0,025 \text{ M} \times 10 \text{ mL} \times 2}{2,025 \text{ mL}}$$

$$[NaOH] = 0,2469 \text{ M}$$

Tabel B. 1 Pembakuan NaOH dengan Asam Oksalat

Massa Asam Oksalat (g)	Volume NaOH (mL)		Volume rata-rata (mL)	Keterangan
	1	2		
0,315	2,05	1,95	2	Untuk variasi 6 jam
0,315	2,1	1,95	2,025	Untuk variasi 12-48 jam
0,315	2	2,1	2,05	Untuk variasi 1:1 – 1:4 mmol
0,315	2,05	2	2,025	Untuk variasi 1:5 mmol

Lampiran B. 8 Perhitungan Rasio Mol Asam Oleat dan Urea

a. Perbandingan Asam Oleat dan Urea (1:1)

- Asam Oleat

Asam oleat yang digunakan memiliki Mr 282,47 g/mol

Perhitungannya adalah :

Massa asam oleat = mol × Mr

Massa asam oleat = 0,001 mol × 282,47 g/mol

Massa asam oleat = 0,2824 g

- Urea

Urea yang digunakan adalah urea 99,5% dengan Mr 60 g/mol

Perhitungannya adalah :

Massa urea = mol × % × Mr

Massa asam oleat = 0,001 mol × 99,5% × 60 g/mol

Massa asam oleat = 0,0597 g

b. Perbandingan Asam Oleat dan Urea (1:2)

- Asam Oleat

Asam oleat yang digunakan memiliki Mr 282,47 g/mol

Perhitungannya adalah :

Massa asam oleat = mol × Mr

Massa asam oleat = 0,001 mol × 282,47 g/mol

Massa asam oleat = 0,2824 g

- Urea

Urea yang digunakan adalah urea 99,5% dengan Mr 60 g/mol

Perhitungannya adalah :

Massa urea = mol × % × Mr

Massa asam oleat = 0,002 mol × 99,5% × 60 g/mol

Massa asam oleat = 0,1194 g

c. Perbandingan Asam Oleat dan Urea (1:3)

- Asam Oleat

Asam oleat yang digunakan memiliki Mr 282,47 g/mol

Perhitungannya adalah :

Massa asam oleat = mol × Mr

Massa asam oleat = 0,001 mol × 282,47 g/mol

Massa asam oleat = 0,2824 g

- Urea

Urea yang digunakan adalah urea 99,5% dengan Mr 60 g/mol

Perhitungannya adalah :

Massa urea = mol × % × Mr

Massa asam oleat = 0,003 mol × 99,5% × 60 g/mol

Massa asam oleat = 0,1791 g

d. Perbandingan Asam Oleat dan Urea (1:4)

- Asam Oleat

Asam oleat yang digunakan memiliki Mr 282,47 g/mol



Perhitungannya adalah :

$$\text{Massa asam oleat} = \text{mol} \times \text{Mr}$$

$$\text{Massa asam oleat} = 0,001 \text{ mol} \times 282,47 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa asam oleat} = 0,2824 \text{ g}$$

• Urea

Urea yang digunakan adalah urea 99,5% dengan Mr 60 g/mol

Perhitungannya adalah :

$$\text{Massa urea} = \text{mol} \times \% \times \text{Mr}$$

$$\text{Massa asam oleat} = 0,004 \text{ mol} \times 99,5\% \times 60 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa asam oleat} = 0,2388 \text{ g}$$

e. Perbandingan Asam Oleat dan Urea (1:5)

• Asam Oleat

Asam oleat yang digunakan memiliki Mr 282,47 g/mol

Perhitungannya adalah :

$$\text{Massa asam oleat} = \text{mol} \times \text{Mr}$$

$$\text{Massa asam oleat} = 0,001 \text{ mol} \times 282,47 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa asam oleat} = 0,2824 \text{ g}$$

• Urea

Urea yang digunakan adalah urea 99,5% dengan Mr 60 g/mol

Perhitungannya adalah :

$$\text{Massa urea} = \text{mol} \times \% \times \text{Mr}$$

$$\text{Massa asam oleat} = 0,005 \text{ mol} \times 99,5\% \times 60 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa asam oleat} = 0,2985 \text{ g}$$

Lampiran B. 9 Perhitungan Persen Konversi Oleamida

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{\text{massa asam oleat}}{\text{Mr asam oleat}} \times 1000$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (V_{\text{blanko}} - V_{\text{NaOH}}) \times [\text{NaOH}]$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{\text{mol asam oleat bereaksi}}{\text{mol asam oleat awal}} \times 100\%$$

Variasi Waktu

a. 6 Jam

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2825 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0001 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat breakksi} = (4,4 - 4,35) \text{ mL} \times 0,2500 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0125 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0125}{1,0001} \times 100\% \\ = 1,25\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2827 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0008 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bbreakksi} = (4,4 - 4,35) \text{ mL} \times 0,2500 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0125 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0125}{1,0001} \times 100\% \\ = 1,25\%$$

(3)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2826 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0005 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bbreakksi} = (4,4 - 4,30) \text{ mL} \times 0,2500 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0250 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0250}{1,0005} \times 100\% \\ = 2,50\%$$

(4)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2828 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0012 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bbreakksi} = (4,4 - 4,35) \text{ mL} \times 0,2500 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0125 \text{ mmol}$$



$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0125}{1,0001} \times 100\% \\ = 1,25\% \\ \text{Rata-rata} = \frac{1,25+1,25+2,50+1,25}{4} = 1,56\%$$

b. 12 Jam

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2822 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 0,9990 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,25) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0494 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0494}{0,9990} \times 100\% \\ = 4,94\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2822 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 0,9990 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,30) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0370 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0370}{0,9990} \times 100\% \\ = 3,71\%$$

(3)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2823 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 0,9994 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,35) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0247 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0247}{0,9994} \times 100\% \\ = 2,47\%$$

(4)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2826 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0005 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,35) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0247 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0247}{1,0005} \times 100\%$$
$$= 2,47\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{4,94+3,71+2,47+2,47}{4} = 3,40\%$$

c. 24 Jam

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2828 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0012 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,25) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0494 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0494}{1,0012} \times 100\%$$
$$= 4,93\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2829 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0015 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,25) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0494 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0494}{1,0015} \times 100\%$$
$$= 4,93\%$$

(3)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2826 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0005 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,30) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0370 \text{ mmol}$$



$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0370}{1,0005} \times 100\% \\ = 3,70\%$$

(4) Universit

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2824 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 0,9997 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,30) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0370 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0370}{0,9997} \times 100\% \\ = 3,70\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{4,93 + 4,93 + 3,70 + 3,70}{4} = 4,31\%$$

d. 36 Jam

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2827 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0008 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,35) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0247 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0247}{1,0008} \times 100\% \\ = 2,47\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2829 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0015 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,4) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0123 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0123}{1,0015} \times 100\% \\ = 1,23\%$$

(3)



$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2826 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0005 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,35) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0247 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0247}{1,0005} \times 100\%$$
$$= 2,47\%$$

(4)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2828 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0012 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,4) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0123 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0123}{1,0012} \times 100\%$$
$$= 1,23\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{2,47+1,23+2,47+1,23}{4} = 1,85\%$$

e. 48 Jam

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2826 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0005 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,4) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0123 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0123}{1,0005} \times 100\%$$
$$= 1,23\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2827 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0008 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,4) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0123 \text{ mmol}$$



$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0123}{1,0008} \times 100\% \\ = 1,23\%$$

(3) Universit

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2826 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0005 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,45) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0000 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0000}{1,0005} \times 100\% \\ = 0,00\%$$

(4) Unive

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2828 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0012 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,4) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0123 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0123}{1,0012} \times 100\% \\ = 1,23\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{1,23+1,23+0,00+1,23}{4} = 0,92\%$$

Variasi Rasio Mol

a. 1:1

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2829 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0015 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,35) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0244 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0244}{1,0015} \times 100\% \\ = 2,44\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2828 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0012 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,4) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0122 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0122}{1,0012} \times 100\% \\ = 1,22\%$$

(3)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2827 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0008 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,30) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0366 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0366}{1,0008} \times 100\% \\ = 3,66\%$$

(4)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2824 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 0,9997 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,30) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0366 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0366}{0,9997} \times 100\% \\ = 3,66\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{2,44+1,22+3,66+3,66}{4} = 2,74\%$$

b. 1:2

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2826 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0005 \text{ mmol}$$



$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,25) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0488 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0488}{1,0005} \times 100\% \\ = 4,88\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2829 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0015 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,4) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0122 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0122}{1,0015} \times 100\% \\ = 1,22\%$$

(3)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2827 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0008 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,30) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0366 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0366}{1,0008} \times 100\% \\ = 3,66\%$$

(4)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2828 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0012 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,35) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0244 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0244}{1,0012} \times 100\% \\ = 2,44\%$$

Rata-rata = $\frac{4,88+1,22+3,66+2,44}{4}$ = 3,05%

c. 1:3

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2828 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0012 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,30) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0366 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0366}{1,0012} \times 100\% \\ = 3,66\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2825 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0001 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,25) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0488 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0488}{1,0001} \times 100\% \\ = 4,88\%$$

(3)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2824 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 0,9997 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,25) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0488 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0488}{0,9997} \times 100\% \\ = 4,88\%$$

(4)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2827 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0008 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,30) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0366 \text{ mmol}$$



$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0366}{1,0008} \times 100\% \\ = 3,66\% \\ \text{Rata-rata} = \frac{3,66 + 4,88 + 4,88 + 3,66}{4} = 4,27\%$$

d. 1:4

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2829 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0015 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,20) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0610 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0610}{1,0015} \times 100\% \\ = 6,10\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2827 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 1,0008 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,25) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0488 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0488}{1,0008} \times 100\% \\ = 4,88\%$$

(3)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2824 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 0,9997 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,20) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0610 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0610}{0,9997} \times 100\% \\ = 6,10\%$$

(4)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2824 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 0,9997 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,45 - 4,25) \text{ mL} \times 0,2439 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0488 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0488}{0,9997} \times 100\%$$
$$= 4,88\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{6,10+4,88+6,10+4,88}{4} = 5,49\%$$

e. 1:5

(1)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2825 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0001 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,40 - 4,15) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0617 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0617}{1,0001} \times 100\%$$
$$= 6,17\%$$

(2)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2824 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 0,9997 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,40 - 4,15) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$
$$= 0,0617 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0617}{0,9997} \times 100\%$$
$$= 6,17\%$$

(3)

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2829 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000$$
$$= 1,0015 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,40 - 4,20) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL}$$



$$\text{Persepsi} = 0,0494 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0494}{1,0015} \times 100\% \\ = 4,94\%$$

(4) Universitas

$$\text{Mol asam oleat awal} = \frac{0,2824 \text{ gram}}{282,47 \text{ gram/mol}} \times 1000 \\ = 0,9997 \text{ mmol}$$

$$\text{Mol asam oleat bereaksi} = (4,40 - 4,10) \text{ mL} \times 0,2469 \text{ mmol/mL} \\ = 0,0741 \text{ mmol}$$

$$\text{Persen konversi} = \frac{0,0741}{0,9997} \times 100\% \\ = 7,41\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{6,17 + 6,17 + 4,94 + 6,17}{4} = 6,17\%$$



Lampiran C. Data Hasil Penelitian

Lampiran C. 1 Pengaruh Waktu Reaksi Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang Dihasilkan

Tabel C. 1 Data Awal Penentuan Waktu Reaksi Optimum

Waktu Reaksi (jam)	Massa Asam Oleat (g)	Massa Urea (g)	Massa Lipase Amobil (g)	[NaOH] (M)	Volume Titrasi Blanko (mL)	Volume Titrasi Sampel (mL)
6	0,2825	0,0599	0,1084	0,2500	4,40	4,35
	0,2827	0,0597	0,1009	0,2500	4,40	4,35
	0,2826	0,0597	0,1021	0,2500	4,40	4,30
	0,2828	0,0598	0,1034	0,2500	4,40	4,35
12	0,2822	0,0598	0,1063	0,2469	4,45	4,25
	0,2822	0,0599	0,1056	0,2469	4,45	4,30
	0,2823	0,0598	0,1003	0,2469	4,45	4,35
	0,2826	0,0597	0,1063	0,2469	4,45	4,35
24	0,2828	0,0597	0,1049	0,2469	4,45	4,25
	0,2829	0,0598	0,1002	0,2469	4,45	4,25
	0,2826	0,0598	0,1025	0,2469	4,45	4,30
	0,2824	0,0597	0,1052	0,2469	4,45	4,30
36	0,2827	0,0599	0,1050	0,2469	4,45	4,35
	0,2829	0,0597	0,1035	0,2469	4,45	4,40
	0,2826	0,0598	0,1015	0,2469	4,45	4,35
	0,2828	0,0599	0,1052	0,2469	4,45	4,40
48	0,2826	0,0597	0,1042	0,2469	4,45	4,40
	0,2827	0,0598	0,1022	0,2469	4,45	4,40
	0,2826	0,0597	0,1005	0,2469	4,45	4,45
	0,2828	0,0597	0,1065	0,2469	4,45	4,40



Tabel C. 2 Data Hasil Penentuan Waktu Reaksi Optimum

Waktu (jam)	Massa Asam Oleat (g)	Mr Asam Oleat (g/mol)	Mol Asam Oleat Awal (mmol)	V Blanko (mL)	V Sampel (mL)	[NaOH] (M)	Mol Asam Oleat yang Bereaksi (mmol)	Konversi (%)
6	0,2825	282,47	1,0001	4,40	4,35	0,2500	0,0125	1,25
	0,2827	282,47	1,0008	4,40	4,35	0,2500	0,0125	1,25
	0,2826	282,47	1,0005	4,40	4,30	0,2500	0,0250	2,50
	0,2828	282,47	1,0012	4,40	4,35	0,2500	0,0125	1,25
	Rata-rata							1,56
12	0,2822	282,47	0,9990	4,45	4,25	0,2469	0,0494	4,94
	0,2822	282,47	0,9990	4,45	4,30	0,2469	0,0370	3,71
	0,2823	282,47	0,9994	4,45	4,35	0,2469	0,0247	2,47
	0,2826	282,47	1,0005	4,45	4,35	0,2469	0,0247	2,47
	Rata-rata							3,40
24	0,2828	282,47	1,0012	4,45	4,25	0,2469	0,0494	4,93
	0,2829	282,47	1,0015	4,45	4,25	0,2469	0,0494	4,93
	0,2826	282,47	1,0005	4,45	4,30	0,2469	0,0370	3,70
	0,2824	282,47	0,9997	4,45	4,30	0,2469	0,0370	3,70
	Rata-rata							4,31
36	0,2827	282,47	1,0008	4,45	4,35	0,2469	0,0247	2,47
	0,2829	282,47	1,0015	4,45	4,4	0,2469	0,0123	1,23
	0,2826	282,47	1,0005	4,45	4,35	0,2469	0,0247	2,47
	0,2828	282,47	1,0012	4,45	4,4	0,2469	0,0123	1,23
	Rata-rata							1,85
48	0,2826	282,47	1,0005	4,45	4,4	0,2469	0,0123	1,23
	0,2827	282,47	1,0008	4,45	4,4	0,2469	0,0123	1,23
	0,2826	282,47	1,0005	4,45	4,45	0,2469	0,0000	0,00
	0,2828	282,47	1,0012	4,45	4,4	0,2469	0,0123	1,23
	Rata-rata							0,92



Lampiran C. 2 Pengaruh Rasio Mol Asam Oleat dan Urea terhadap Oleamida yang Dihasilkan

Tabel C. 3 Data Awal Penentuan Rasio Mol Optimum

Rasio Mol (mmol)	Massa Asam Oleat (g)	Massa Urea (g)	Massa Lipase Amobil (g)	[NaOH] (M)	Volume Titrasi Blanko (mL)	Volume Titrasi Sampel (mL)
1:1	0,2829	0,0598	0,1006	0,2439	4,45	4,35
	0,2828	0,0598	0,1024	0,2439	4,45	4,40
	0,2827	0,0597	0,1066	0,2439	4,45	4,30
	0,2824	0,0599	0,1077	0,2439	4,45	4,30
1:2	0,2826	0,1195	0,1062	0,2439	4,45	4,25
	0,2829	0,1195	0,1038	0,2439	4,45	4,40
	0,2827	0,1195	0,1003	0,2439	4,45	4,30
	0,2828	0,1196	0,1085	0,2439	4,45	4,35
1:3	0,2828	0,1792	0,1080	0,2439	4,45	4,30
	0,2825	0,1791	0,1078	0,2439	4,45	4,25
	0,2824	0,1792	0,1060	0,2439	4,45	4,25
	0,2827	0,1792	0,1061	0,2439	4,45	4,30
1:4	0,2829	0,2388	0,1008	0,2439	4,45	4,20
	0,2827	0,2389	0,1042	0,2439	4,45	4,25
	0,2824	0,2388	0,1092	0,2439	4,45	4,20
	0,2824	0,2389	0,1054	0,2439	4,45	4,25
1:5	0,2825	0,2986	0,1078	0,2469	4,40	4,15
	0,2824	0,2986	0,1071	0,2469	4,40	4,15
	0,2829	0,2985	0,1080	0,2469	4,40	4,20
	0,2824	0,2987	0,1021	0,2469	4,40	4,10



Tabel C.4 Data Hasil Penentuan Rasio Mol Optimum

Rasio Mol (mmol)	Massa Asam Oleat (g)	Mr Asam Oleat (g/mol)	Mol Asam Oleat Awal (mmol)	V Blanko (mL)	V Sampel (mL)	[NaOH] (M)	Mol Asam Oleat yang Bereaksi (mmol)	% Konversi
1:1	0,2829	282,47	1,0015	4,45	4,35	0,2439	0,0244	2,44
	0,2828	282,47	1,0012	4,45	4,40	0,2439	0,0122	1,22
	0,2827	282,47	1,0008	4,45	4,30	0,2439	0,0366	3,66
	0,2824	282,47	0,9997	4,45	4,30	0,2439	0,0366	3,66
	Rata-rata							2,74
1:2	0,2826	282,47	1,0005	4,45	4,25	0,2439	0,0488	4,88
	0,2829	282,47	1,0015	4,45	4,40	0,2439	0,0122	1,22
	0,2827	282,47	1,0008	4,45	4,30	0,2439	0,0366	3,66
	0,2828	282,47	1,0012	4,45	4,35	0,2439	0,0244	2,44
	Rata-rata							3,05
1:3	0,2828	282,47	1,0012	4,45	4,30	0,2439	0,0366	3,66
	0,2825	282,47	1,0001	4,45	4,25	0,2439	0,0488	4,88
	0,2824	282,47	0,9997	4,45	4,25	0,2439	0,0488	4,88
	0,2827	282,47	1,0008	4,45	4,30	0,2439	0,0366	3,66
	Rata-rata							4,27
1:4	0,2829	282,47	1,0015	4,45	4,20	0,2439	0,0610	6,10
	0,2827	282,47	1,0008	4,45	4,25	0,2439	0,0488	4,88
	0,2824	282,47	0,9997	4,45	4,20	0,2439	0,0610	6,10
	0,2824	282,47	0,9997	4,45	4,25	0,2439	0,0488	4,88
	Rata-rata							5,49
1:5	0,2825	282,47	1,0001	4,40	4,15	0,2469	0,0617	6,17
	0,2824	282,47	0,9997	4,40	4,15	0,2469	0,0617	6,17
	0,2829	282,47	1,0015	4,40	4,20	0,2469	0,0494	4,94
	0,2824	282,47	0,9997	4,40	4,10	0,2469	0,0741	7,41
	Rata-rata							6,17



Lampiran D. Analisa Data

Lampiran D. 1 Analisa Data Waktu Reaksi

Tabel D. 1 Uji Homogenitas Waktu Reaksi

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Persen Konversi	Based on Mean	1,605	4	15	0,224
	Based on Median	1,162	4	15	0,366
	Based on Median and with adjusted df	1,162	4	8,998	0,389
	Based on trimmed mean	1,564	4	15	0,235

Nilai signifikansi $< 0,05$ menunjukkan variansi dari dua kelompok data tidak homogen

Nilai signifikansi $> 0,05$ menunjukkan variansi dari dua kelompok data homogen

Hasil : nilai signifikansi $> 0,05$ maka variansi dari dua kelompok data adalah homogen

Tabel D. 2 Tabel ANOVA Waktu Reaksi

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance	SD
6	4	6,25	1,56	0,39	0,63
12	4	13,59	3,40	1,40	1,18
24	4	17,26	4,31	0,50	0,71
36	4	7,4	1,85	0,51	0,72
48	4	3,69	0,92	0,38	0,62

	SS	df	MS	F	P-Value	F 5%
Between Groups	31,395	4	7,849	12,322	0,000	3,060
Within Groups	9,555	15	0,637			
Total	40,949	19				

H_0 : tidak ada perbedaan nilai signifikan pada persen konversi karena perbedaan waktu reaksi

H_1 : ada perbedaan nilai signifikan pada persen konversi karena perbedaan waktu reaksi

Hasil : H_0 ditolak karena F hitung > F tabel

$$BNJ = q\alpha(p, v) \times \sqrt{\frac{MSW}{n}}$$

Keterangan :

α = taraf nyata

p = banyak perlakuan

v = derajat bebas galat

MSW = kuadrat tengah galat

n = ulangan

$$BNJ = 4,37 \times \sqrt{\frac{0,637}{4}}$$

$$BNJ = 1,74$$

Tabel D. 3 Uji BNJ Waktu Reaksi

Waktu Reaksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
48	4	0,92		
6	4	1,56		
36	4	1,85	1,85	
12	4		3,40	3,40
24	4			4,31

Tabel D. 4 Pemberian Notasi Hasil Uji BNJ Waktu Reaksi

Waktu Reaksi (jam)	Rata-Rata Konversi	Rata-Rata Konversi + BNJ	Notasi
48	0,92	2,66	a
6	1,56	3,30	a
36	1,85	3,56	ab
12	3,40	5,14	bc
24	4,31	6,05	c

Lampiran D. 2 Analisa Data Rasio Mol

Tabel D. 5 Uji Homogenitas Rasio Mol

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Persen Konversi	Based on Mean	1,178	4	15	0,360
	Based on Median	1,071	4	15	0,405
	Based on Median and with adjusted df	1,071	4	8,841	0,426
	Based on trimmed mean	1,176	4	15	0,361

Nilai signifikansi $< 0,05$ menunjukkan variansi dari dua kelompok data tidak homogen

Nilai signifikansi $> 0,05$ menunjukkan variansi dari dua kelompok data homogen

Hasil : nilai signifikansi $> 0,05$ maka variansi dari dua kelompok data adalah homogen

Tabel D. 6 Tabel ANOVA Rasio Mol

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance	SD
(1:1)	4	10,98	2,74	1,36	1,17
(1:2)	4	12,2	3,05	2,48	1,58
(1:3)	4	17,08	4,27	0,50	0,70
(1:4)	4	21,96	5,49	0,50	0,70
(1:5)	4	24,69	6,17	1,02	1,01

	SS	df	MS	F	P-value	F 5%
Between Groups	35,574	4	8,893	7,596	0,001	3,060
Within Groups	17,562	15	1,171			
Total	53,136	19				

H_0 : tidak ada perbedaan nilai signifikan pada persen konversi karena perbedaan waktu reaksi

H_1 : ada perbedaan nilai signifikan pada persen konversi karena perbedaan waktu reaksi

Hasil : H_0 ditolak karena F hitung > F tabel

$$BNJ = q\alpha(p, v) \times \sqrt{\frac{MSW}{n}}$$

Keterangan :

α = taraf nyata

p = banyak perlakuan

v = derajat bebas galat

MSW = kuadrat tengah galat

n = ulangan

$$BNJ = 4,37 \times \sqrt{\frac{1,171}{4}}$$

$$BNJ = 2,36$$



Tabel D. 7 Uji BNJ Rasio Mol

Rasio Mol	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1:1	4	2,74	
1:2	4	3,05	
1:3	4	4,27	4,27
1:4	4		5,49
1:5	4		6,17

Tabel D. 8 Pemberian Notasi Hasil Uji BNJ Rasio Mol

Rasio Mol	Rata-Rata Konversi	Rata-Rata Konversi + BNJ	Notasi
1:1	2,74	5,10	a
1:2	3,05	5,41	a
1:3	4,27	6,63	ab
1:4	5,49	7,85	b
1:5	6,17	8,53	b



Lampiran E Spektra FTIR

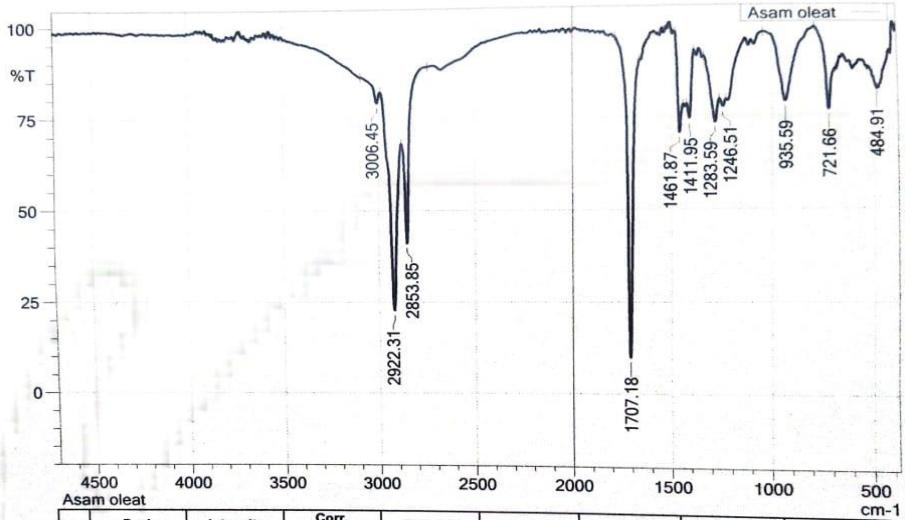
Lampiran E. 1 Spektra FTIR Asam Oleat

FTIR Model : IRSpirit - T
Serial No. : A22415801432 AE
Window (KRS-5H, PKG)

SHIMADZU

26/04/2021 09:35:36

Item	Value
Acquired Date&Time	22/04/2021 09:20:41
Filename	G:\TA\Adhitami kurnia wulan dewi\Asam oleat1.ispd
Sample name	Asam oleat
Sample ID	Asam oleat
Comment	Asam oleat
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Happ-Genzel



Asam oleat								
	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area	Comment
1	484.91	81.74	0.51	502.03	482.06	337.700	5.914	
2	721.66	76.43	14.75	788.70	686.01	1126.172	394.320	
3	935.59	78.67	19.01	1043.99	788.70	2124.804	1557.600	
4	1246.51	77.37	1.94	1262.20	1230.62	678.784	29.672	
5	1283.59	73.20	9.32	1340.64	1262.20	1483.882	317.279	
6	1411.95	74.30	9.40	1426.21	1389.13	697.138	154.050	
7	1461.87	70.54	16.58	1483.26	1443.33	786.524	299.520	
8	1707.18	10.00	82.32	1784.19	1662.96	3284.072	2458.137	
9	2853.85	41.08	31.18	2880.95	2744.03	3155.135	219.572	
10	2922.31	22.72	50.78	2989.34	2880.95	4698.584	2005.984	
11	3006.45	79.26	3.61	3090.60	2989.34	1639.322	41.003	

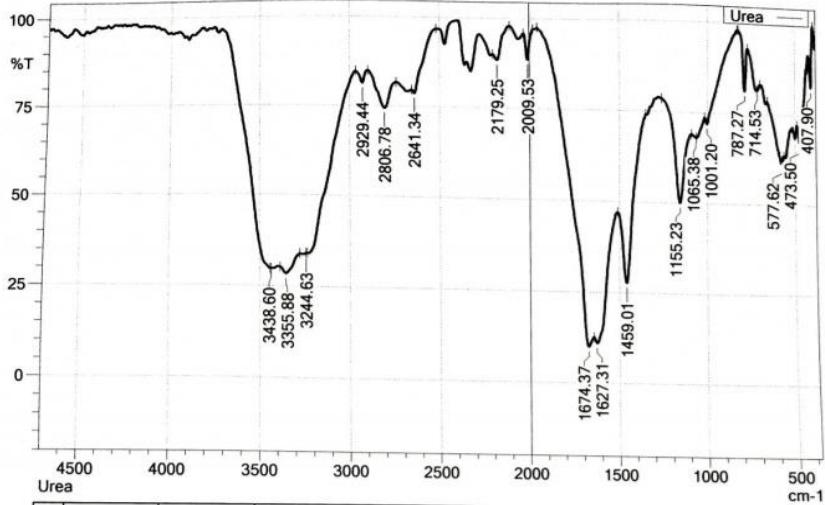
Lampiran E. 2 Spektra FTIR Urea

FTIR Model : IRSpirit - T
 Serial No. : A22415801432 AE
 Window (KRS-5H, PKG)

SHIMADZU

26/04/2021 09:25:00

Item	Value
Acquired Date&Time	26/04/2021 09:35:16
Filename	G:\TAV\Farisa\Urea1.ispd
Sample name	Urea
Sample ID	Urea
Comment	Urea
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Hann-Genzel



	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area	Comment
1	407.90	82.90	6.72	412.18	395.06	156.159	37.708	
2	473.50	67.35	9.53	489.19	434.99	1361.726	287.715	
3	577.62	61.64	4.42	657.48	563.35	2888.832	181.823	
4	714.53	81.73	0.14	715.96	698.84	299.838	0.757	
5	787.27	81.42	13.18	822.92	771.58	451.715	223.561	
6	1001.20	72.02	3.59	1015.46	828.63	2623.954	-3.084	
7	1065.38	68.12	0.20	1089.63	1061.10	897.192	2.026	
8	1155.23	50.12	22.55	1260.77	1089.63	5753.097	1265.862	
9	1459.01	27.76	27.89	1508.93	1350.62	7859.181	1630.334	
10	1627.31	11.02	5.97	1644.42	1508.93	9863.801	363.623	
11	1674.37	10.00	10.82	1955.34	1644.42	12640.746	-1323.548	
12	2009.53	88.61	7.73	2030.93	1978.16	353.615	166.939	
13	2179.25	88.34	3.57	2202.07	2109.37	640.631	77.542	
14	2641.34	78.71	2.67	2655.61	2518.69	1587.656	-25.608	
15	2806.78	74.42	8.51	2899.49	2742.61	3245.054	613.875	
16	2929.44	81.33	3.38	2966.52	2899.49	1115.427	89.308	
17	3244.63	34.08	0.01	3246.06	3237.50	563.929	0.105	

18	3355.88	28.47	2.82	3387.25	3278.86	7524.717	162.044	
19	3438.60	29.74	0.04	3442.67	3435.74	500.850	0.123	



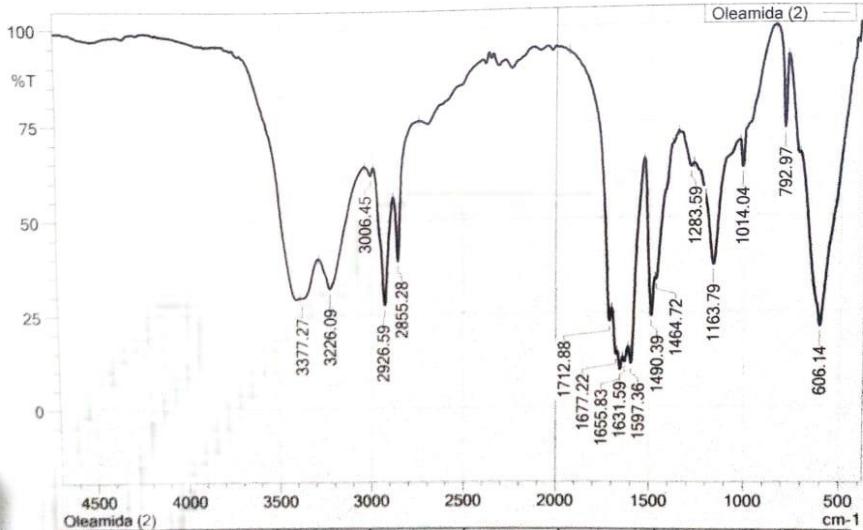
Lampiran E. 3 Spektra FTIR Oleamida

FTIR Model : IRSpirit - T
 Serial No. : A22415801432 AE
 Window (KRS-5H, PKG)

 SHIMADZU

26/04/2021 09:26:56

Item	Value
Acquired Date&Time	26/04/2021 08:29:26
Filename	G:\TA\Adhitami kurnia wulan dewi\Oleamida (2).ispd
Sample name	Oleamida (2)
Sample ID	Oleamida (2)
Comment	Oleamida (2)
No. of Scans	10
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Hann-Genzel

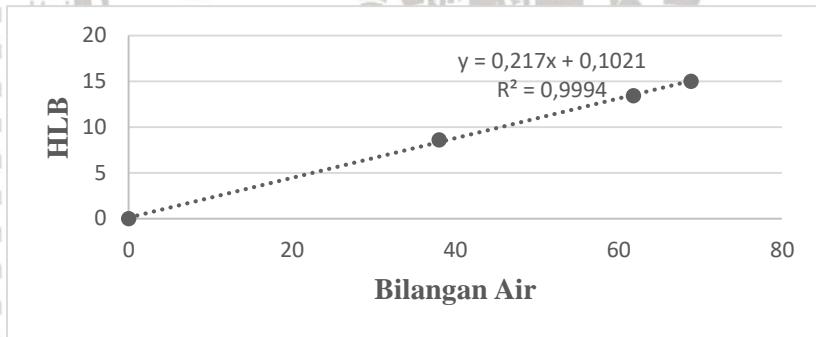


Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area	Comment
1 606.14	21.02	54.02	713.11	423.58	13883.670	7557.002	
2 792.97	20.92	840.04	775.86	653.106	359.844		
3 1014.04	62.64	9.21	1028.30	840.04	3152.416	219.735	
4 1163.79	37.40	28.96	1269.33	1028.30	10135.936	2113.024	
5 1283.59	63.03	2.29	1350.62	1269.33	2640.435	45.334	
6 1464.72	33.74	2.56	1470.42	1382.00	4244.899	43.484	
7 1490.39	24.14	20.34	1530.33	1470.42	3568.658	554.918	
8 1597.36	11.63	13.67	1613.05	1530.33	5190.255	278.604	
9 1631.59	12.00	2.19	1641.57	1613.05	2466.713	30.800	
10 1655.83	10.00	3.99	1670.09	1641.57	2505.395	54.953	
11 1677.22	14.07	3.38	1700.04	1670.09	2431.010	48.659	
12 1712.88	22.81	7.06	1935.37	1790.04	5857.804	-3564.076	
13 2855.28	39.23	26.78	2882.37	2739.75	4908.244	85.645	
14 2926.59	27.58	31.77	2990.77	2882.37	5822.522	1492.438	
15 3006.45	61.87	2.13	3037.83	2990.77	1733.357	42.135	
16 3226.09	31.95	14.05	3286.84	3037.83	13972.378	1345.778	
17 3377.27	29.42	1.28	3368.68	3286.84	6644.149	127.080	

Lampiran F. Analisis HLB

Tabel F. 1 Nilai HLB Surfaktan Standar [36]

Bilangan air	HLB
0	0
38,00	8,60
61,80	13,40
68,85	15,00



Gambar F. 1 Kurva Baku HLB

Tabel F. 2 Data Hasil Penentuan Nilai HLB

Massa Sampel (gram)	Volume akuades (mL)	Rata-rata
0,1	2,50	2,60

$$\text{Bilangan air} = \frac{\text{Volume akuades (mL)}}{\text{Massa sampel (gram)}}$$

$$\text{Bilangan air} = \frac{2,50 \text{ mL}}{0,1 \text{ gram}}$$

$$\text{Bilangan air} = 25,00$$

$$\text{Bilangan air} = \frac{2,60 \text{ mL}}{0,1 \text{ gram}}$$

$$\text{Bilangan air} = 26,00$$

$$\text{Rata - rata} = \frac{25 + 26}{2}$$

$$\text{Rata - rata} = 25,5$$

Nilai rata-rata bilangan air dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku :

$$y = 0,217 x + 0,1021$$

$$y = 0,217 (25,5) + 0,1021$$

$$y = 5,64$$

Jadi nilai HLB oleamide adalah 5,64



Lampiran G. Dokumentasi Penelitian



Campuran Kitosan dan
Enzim Lipase



Lipase Amobil



Hasil Titrasi Parameter
Waktu Reaksi



Hasil Titrasi Parameter
Rasio Mol



Oleamida



Hasil Titrasi HLB