

## PEMURNIAN ASAM LINOLEAT TERKONJUGASI HASIL SINTESA DARI RISINOLEAT CASTOR OIL DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM SILIKAGEL PERAK NITRAT

Marham Sitorus<sup>1</sup> dan Bajoka Nainggolan<sup>2</sup>

<sup>1,3</sup> Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Medan, Jl. Willem Iskandar Psr. V Medan, Indonesia 20221, Email: marham.sitorus@gmail

Diterima 5 Februari 2014, disetujui untuk publikasi 26 Februari 2014

**Abstract:** Conjugated Linoleic acid (CLA) was sepereted by using colomn chromatography with silicagel – AgNO<sub>3</sub> as stationary phase. Seperation based on the differences reversibility of coordination bond between double bond and silver ion. The indreasing number of double bond and trans isomers more strongly the molecule is retained. Gradien elution was carried out by various n-hexane (H) and Acetone (A) (v/a) e. g: 97.5/2.5; 95/5; 90/10; 80/20; 70/30 and 60/40 in 8 vial x 2.5 mL. Each of fraction was analyzdy by using GC,FTIR, UV and GC-MS and It's compare with authentic CLA standard and the best was ratio (v/v) of eluen (H/A) 95/5. The composition of product ratio of CLA/linoleic was 0,85 : 1 or 77.6 % compared to the authentic standar 1.45/1.

**Kata kunci:**

CLA, silicagel impregnated AgNO<sub>3</sub> and ratio of optimally eluen,s..

**Pendahuluan:**

Senyawa CLA (*Conjugated Linoleic Acid*) hasil sintesis dari risinoleat minyak jarak masih tercampur dengan komponen lain sesuai dengan komposisi minyak jarak dari dari hasil samping reaksi dehidrasi dan isomerisasi. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa CLA dapat terpisah dengan resolusi yang tinggi bila dianalisa dengan GC dan GC – MS dengan kolom kapiler baik fasa normal maupun fasa terbalik (Cristie *et al.*, 2000, Dobson, 1998, Ozgul 2005 dan Sehat *et al.*, 1998). Resolusi juga relatif baik bila dianalisis dengan Ag<sup>+</sup> HPLC dengan fasa normal atau terbalik dengan merangkai minimal tiga buah kolom (Yuruwecs dan Morehouse, 2001, Adolft *et al.*, 2002, Vereshhchagin dan Pchelkin, 2003 dan Cristie *et al.*, 2007). Analisis dengan GC dan GC – MS tidak preparatif dan harus melalui derivatisasi

sehingga pemisahan CLA tidak cocok dilakukan dengan cara tersebut. Selanjutnya walapun HPLC adalah preparatif namun hanya dalam skala kecil dan harga peralatannyapun sangat mahal. Pemisahan dengan fraksi urea akan menghasilkan CLA dengan kemurnian yang tinggi (Vellenuve *et al.*, 1995), namun dalam bentuk asam lemak sehingga esensialitasnya berubah bila dibandingkan dengan dalam bentuk trigliserida. Pemisahan isomer CLA telah dilakukan dengan teknik fraksinasi solven dengan hasil yang cukup baik, namun pelarut dan disain reaktornya sangat mahal (Hidetaka *et al.*, 2006 dan Uehara *et al.*, 2006). Pemisahan dengan kromatografi kolom dengan fasa diam silikagel dan alumina tidak optimal karena komponen pengotor dan CLA mempunyai sifat fisik dan kimia yang berdekatan (Cristie *et al.*, 2007), padahal kedua sifat ini adalah sebagai

dasar pemisahan dengan kromatografi kolom. Dalam penelitian ini direncanakan pemisahan CLA dengan kromatografi kolom yang dimodifikasi yaitu dengan mengimpregnasi fasa silikagel dan alumina dengan perak nitrat (*argentonated*). Dasar terjadinya pemisahan adalah fenomena dimana ikatan rangkap komponen lemak dalam DCO dapat membentuk ikatan koordinasi yang reversibel dengan ion perak melalui kompleks *EDA* (*electron donor acceptor*) yang analog dengan dasar yang digunakan dengan analisis pada Ag<sup>+</sup>-HPLC. Sifat reversibel ikatan rangkap dengan ion perak dipengaruhi oleh jumlah ikatan rangkap dan geometri trans dari komponen penyusunnya (Damyonova, 2006, Neff *et al.*, 1999 dan Cristie *et al.*, 2007), sehingga waktu elusi tiap komponen akan berbeda. Cara elusi yang dilakukan adalah elusi bergradien dengan memvariasi campuran pelarut heksana, aseton. Kondisi ini telah dicobakan untuk memisahkan trigliserida *GLA* (*gamma linoleic acid*) suatu trigliserida dengan tiga ketidakjenuhan (linoleat) dari *Evening Primrose Oil* (*EPO*) dan berbagai bijian tumbuhan dengan hasil yang baik (Guel- Guerro, 2000 dan Rincon *et al.*, 2009). Kajian perbandingan pelarut dilakukan secara elusi bergradien berdasarkan kenaikan kepolaran dengan memvariasi campuran eluen heksana dan aseton. Pemisahan dipandu dengan KLT dan deteksi noda dengan lampu UV. Analisis dilakukan dengan gabungan GC, FTIR dan UV, sedangkan penentuan komposisi dengan GC – MS yang dibandingkan dengan standar.

## Metodologi Penelitian

### 1.1. Bahan dan Peralatan

Bahan kimia yang digunakan adalah kualifikasi pa: CLA hasil sintesis, silikagel 60G, Perak Nitrat, n-heksana, aseton, plat KLT dan akuades. Peralatan yang digunakan adalah timbangan digital DND GR 2000, evaporator Heidolp VV 2000, pompa vacuum KRISBOW, GC HP 5890, FTIR SHIMADZU, UV SHIMADZU, GC –

MS SHIMADZU QP2010S, Kolom 20 cm dengan diameter 1 inc, lampu UV Spektroline dan oven pengering Memmert.

### 1.2. Prosedur Penelitian

Sebanyak 20 g silikagel ditambahkan ke dalam 50 mL etanol absolut membentuk bubur silikagel. Ditempat lain dibuat 1 g AgNO<sub>3</sub> dalam 50 mL etanol absolut yang diaduk dengan pengaduk magnet. Selanjutnya larutan perak nitrat dicampurkan dengan bubur silikagel dan diaduk sekitar 10 menit. Etanol diuapkan dengan rotari evaporator vakum (50°C) dan silikagel terimpregnasi diperoleh dengan pemanasan dalam oven pada suhu 105°C selama 2 Jam. Kolom disiapkan dengan melarutkan silikagel terimpregnasi dengan pelarut n-heksana hingga menjadi bubur. Selanjutnya bubur dimasukkan kedalam kolom dengan diameter 2,5 cm dan tinggi 30 cm hingga tidak ada lagi gelembung udara dalam kolom. Untuk homogenisasi dibiarkan selama semalam dengan membiarkan pelarut sekitar 2 cm diatas kolom serta karan bawah dan bagian atas ditutup untuk menghindari kekeringan. Sampel sekitar 2,5 mL dimasukkan pelan – pelan kedalam kolom dan dilakukan elusi gradien dengan pelarut Heksana (H) dan Aseton (A). Urutan perbandingan H : A (masing – masing 8 x 5 mL) adalah: 97,5 : 2,5; 95 : 5 ; 90 : 10; 80 : 20; 70 : 30 dan 60 : 40 . Sampling tiap fraksi (1 – 6) di KLT untuk melihat kemiripan pola noda dengan standar dan selanjutnya dianalisis dengan GC, FTIR dan GC – MS. Selanjutnya dilakukan perekaman (scan) panjang gelombang maks ( $\lambda_{maks}$ ) dengan spektrofotometer UV dari CLA hasil dehidrasi, hasil pemurnian dengan kromatografi kolom silikgel yang diimpregnasi dengan perak nitrat dengan pelarut n-heksan yang dibandingkan dengan standar otentik CLA. Hasil interpretasi akan menghasilkan perbandingan eluen optimal untuk pemurnian CLA dengan kromatografi kolom fasa diam silikagel yang diimpregnasi dengan perak nitrat.

**Hasil dan Pembahasan**

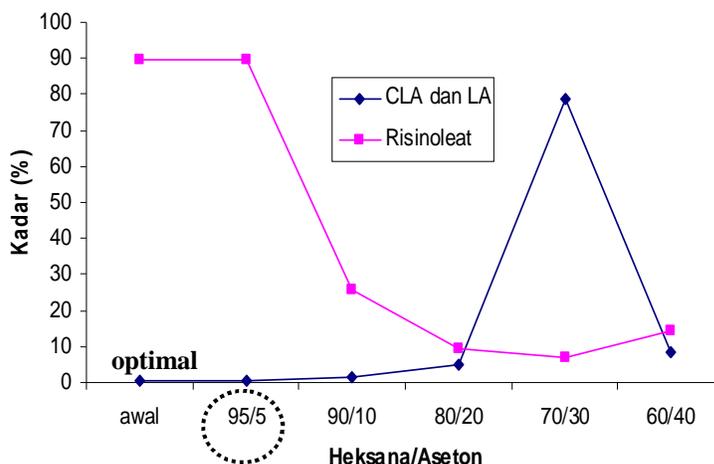
raksi yang dipilih yang didasarkan pada analisis dengan KLT dengan pengungkapan noda menggunakan lampu UV yang

dibandingkan dengan standar CLA adalah seperti tabel 1 dan gambar 1

**Tabel 1: Komposisi risinoleat dan linoleat dan CLA hasil pemurnian dengan kromatografi kolom silikagel perak nitrat**

Perbandingan Eluen Hesana : Aseton (H : A)	Kadar (%) <sup>a</sup>	
	Risinoleat	LA dan CLA
1. Sampel awal yang dimurnikan	0,47	89,37
<b>2. 95 : 5<sup>b</sup></b>	<b>0,34</b>	<b>89,82</b>
3. 90 : 10	1,33	25,88
4. 80 : 20	5,08	9,22
5. 70 : 30	78,89	6,77
6. 60 : 40	8,6	14,30

- a. perbandingan berdasarkan luasan puncak
- b. relatif terhadap luasan puncak



**Gambar 1. Komposisi risinoleat dan linoleat dan CLA hasil pemurnian dengan kromatografi kolom silikagel perak nitrat**

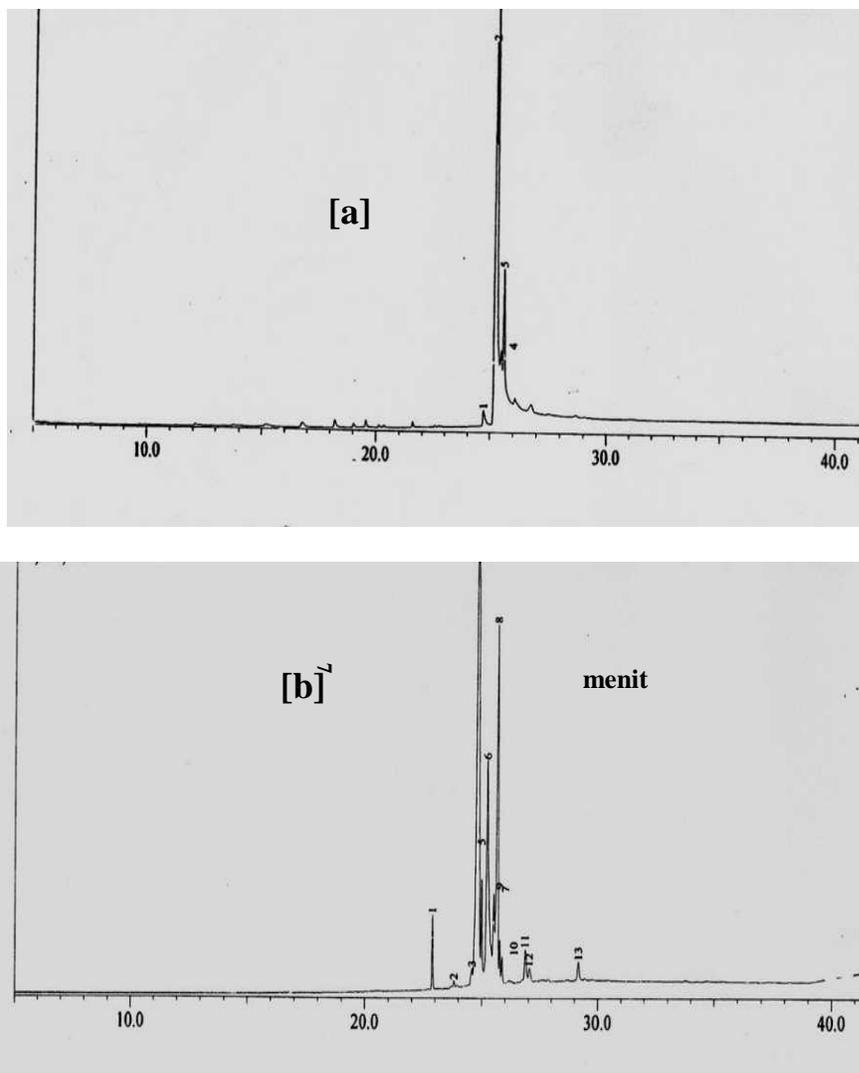
Tujuan utama dari pemurnian adalah menghilangkan komponen yang tidak perlu khususnya sisa risinoleat dari hasil isomerisasi karena produk yang dihasilkan diperuntukkan untuk konsumsi. Hasil pada tabel 1 dan gambar 1 menunjukkan hasil pemurnian yang paling optimal adalah dengan perbandingan

eluen heksan : aseton adalah 95: 5 (v/v) dengan sisa risinoleat terendah (**0,34 %**) dan kadar LA dan CLA tertinggi (**89,82%**). Perubahan kadar risinoleat menjadi makin naik dan kadar campuran linoleat dan CLA makin turun mengindikasikan bahwa kromatografi kolom dengan fasa diam silikagel terimpregnasi perak

nitrat ( $Ag^+$ ) dapat digunakan untuk memurnikan CLA hasil sintesa dari risinoleat dalam minyak jarak. Pada perbandingan eluen heksan : aseton adalah 60 : 40, maka kadar risinoleat sudah kembali turun dan kadar linoleat naik yang menginformasikan bahwa elusi sampel sudah hampir selesai . Hasil pemurnian yang dilakukan belum mendapatkan hasil yang maksimal yaitu tetap menyisakan risinoleat namun data ini memberi indikasi bahwa kromatografi kolom yang diimpregnasi dengan perak nitrat dapat digunakan untuk memurnikan CLA hasil sintesis dan merupakan acuan untuk peneliti

selanjutnya hingga diperoleh hasil yang lebih optimal.

Untuk menentukan komposisi hasil pemurnian CLA maka dilakukan analisis terhadap hasil pemurnian paling optimal yaitu perbandingan heksan : aseton 95 : 5 dengan GC - MS yang dibandingkan dengan kromatogram GC - MS CLA standar seperti gambar 2.



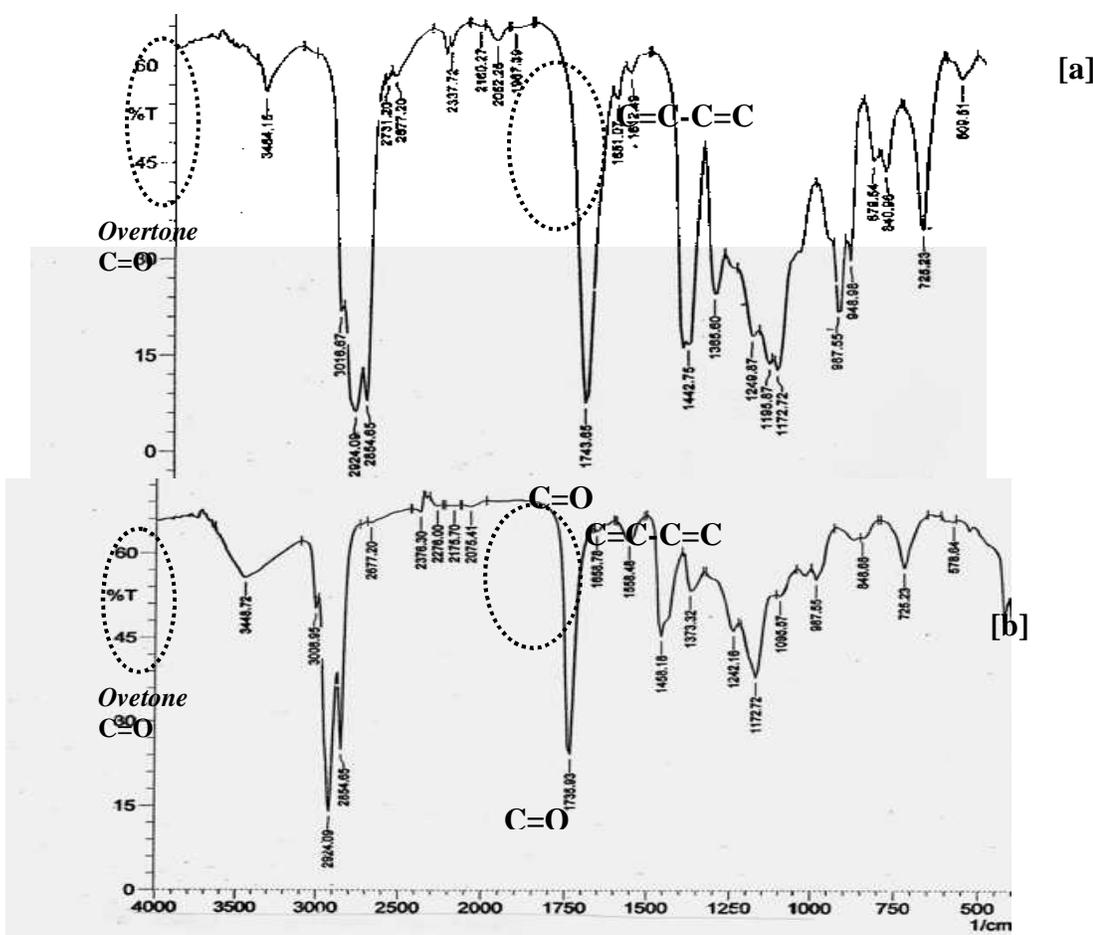
Gambar 2. Kromatogram GS - MS [a] . standar CLA dan [b]. hasil pemurnian CLA paling optimal eluen heksan : aseton 95 : 5 (v/v)

Berdasarkan hasil interpretasi tiap puncak MS kromatogram GC – MS heksana : aseton 95 : 5 (v/v), maka komposisi hasil pemurnian CLA/Linoleat adalah **0,85 : 1 77,66 %** di bandingkan standat dengan ratio CLA/Linoleat 1,85:1.

Hasil yang diperoleh belum optimal namun untuk suatu sintesis percapaian sebesar 77, 66% tergolong relatif baik. Faktor – faktor yang menyebabkan kekurang optimalan hasil diperkirakan karena perbedaan reversibilitas ikatan rangkap terhadap perak masih sempit, dikarenakan jumlah ikatan rangkap antara CLA dan LA sama – sama dua buah yang merupakan dasar pemisahan kromatografi kolom argentonasi disamping jumlah geometri trans

dari lemak. Berdasarkan hasil yang diperoleh maka pengaruh jumlah ikatan rangkap lebih dominan dibandingkan dengan geometri trans, sehingga hasil pemisahan yang diperoleh belum maksimal.

Data spektroskopi FTIR hasil pemurnian CLA yang bertujuan untuk mengkonformasi gugus fungsional antara hasil pemurnian dan standar. Identifikasi dilakukan terhadap hasil pemurnian dengan eluen heksana : aseton 95 : 5 (v/v) yang dibandingkan dengan CLA standar untuk mengidentifikasi keidentikan pola spektranya FTIRnya. Secara spesifik keduanya akan memunculkan pita serapan dari alkena terkonjugasi dengan spektra seperti gambar 3.

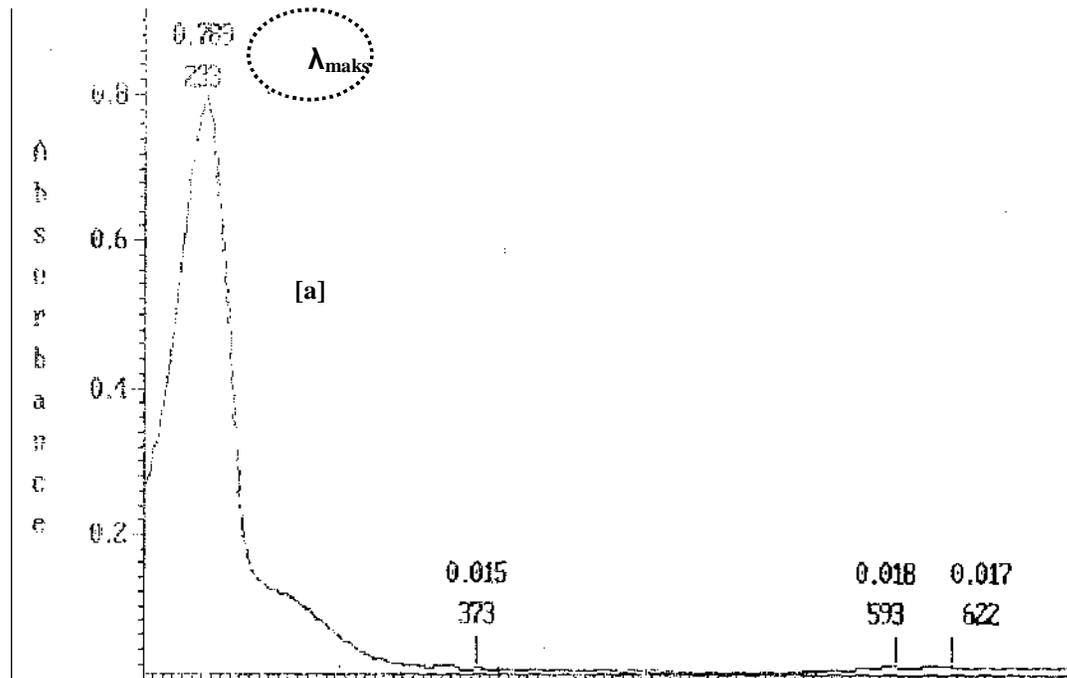


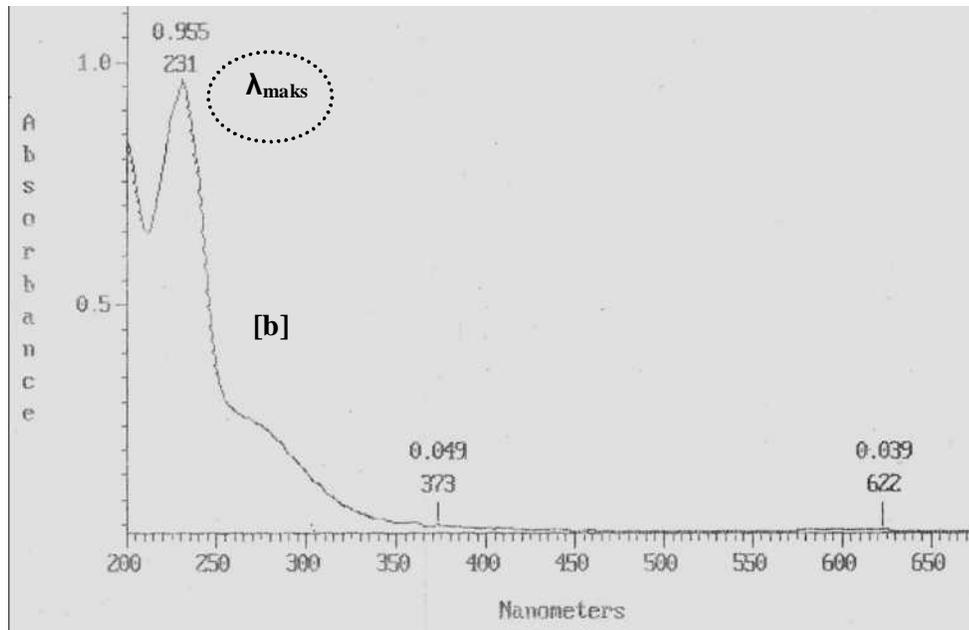
Gambar 3. Spektra FTIR [a]. CLA standar dan [b]. hasil pemisahan dengan perbandingan eluen heksana : aseton 95 : 5 (v/v)

Penampilan spektra FTIR hasil pemurnian (gambar 3a) identik dengan standar CLA (gambar 3b) khususnya serapan alkena konjugasi yaitu pita ganda pada bilangan gelombang sekitar 1600an  $\text{cm}^{-1}$  yang mengindikasikan secara kualitatif bahwa keduanya mengandung komponen yang sama yaitu CLA. Secara spesifik persamaan spektra adalah serapan alkena terkonjugasi ( $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$ ) yaitu dengan munculnya serapan ganda yaitu  $1851,07 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1612,49 \text{ cm}^{-1}$  untuk standar (gambar a) dan  $1658,78 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1558 \text{ cm}^{-1}$  untuk hasil pemisahan (Gambar 3b). Pita serapan  $3464,15 \text{ cm}^{-1}$  (Gambar 3a) dan  $3448,72 \text{ cm}^{-1}$  (gambar 3b) masing – masing adalah penguatan (*overtone*) dari serapan gugus karbonil ( $\text{C}=\text{O}$ ). Hasil verifikasi menunjukkan kesamaan pola spektra FTIR yang mengindikasikan bahwa keduanya mengandung senyawa sama yaitu CLA.

Selanjutnya analisis dengan spektroskopi UV adalah untuk

membandingkan kesamaan pola gugus kromofor yaitu ikatan rangkap terkonjugasi ( $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$ ) yang dapat menyerap radiasi sinar ultra violet (UV) antara CLA hasil pemurnian dan standar. Serapan ini adalah merupakan dasar analisa kualitatif dari suatu senyawa yang mengandung gugus kromofor yang didasarkan pada serapan maksimum pada suatu panjang gelombang yang spesifik ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) untuk setiap senyawa yang mengandung gugus kromofor. Dalam penelitian ini dilakukan perekaman (scan) UV terhadap hasil pemurnian dengan kromatografi kolom silikagel terimpregnasi peraknitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) yang paling optimal (eluen heksana : aseton 95 : 5 v/v) . Interpretasi spektra UV dibandingkan dengan standar CLA untuk membandingkan kesamaan pola grafik absorbansi lawan panjang gelombang antara sampel dan standar dengan spektra pada gambar 4 berikut.





Gambar 4 Spektra UV [a]. CLA standar dan [b]. hasil pemurnian dengan perbandingan eluen heksana : aseton = 95 : 5 (v/v).

Spektra UV standar CLA (gambar 4a) menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) adalah 233 nm ( $A = 0,789$ ). Harga panjang gelombang maksimum untuk hasil pemurnian dengan kromatografi kolom silikagel yang diimpregnasi perak nitrat ( $AgNO_3$ ) dengan eluen heksana : aseton = 95 : 5 (v/v) (gambar 4b) juga adalah identik yaitu 231 nm ( $A = 0,955$ ). Kesamaan pola spektra UV dari standar CLA [a] dan hasil pemurnian [b] menunjukkan secara kualitatif bahwa keduanya terdapat senyawa CLA dan data ini melengkapi data spektra FTIR, GC dan GC - MS. Perbedaan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) sebesar 2 nm yaitu 233 nm untuk standar CLA dan 231 nm untuk hasil hasil pemurnian dengan kromatografi kolom impregnasi diperkirakan adalah pergeseran yang disebabkan oleh penggunaan pelarut atau adanya komponen selain linoleat dan CLA pada hasil pemurnian. Perbedaan ini adalah hal yang lazim bahkan menurut hasil penelitian yang dikemukakan Kanal dan Dhiman, 2004 harga ( $\lambda_{maks}$ ) untuk CLA adalah sebesar 230 nm.

### Kesimpulan

Pemurnian CLA dapat dilakukan dengan teknik kromatografi kolom silikagel modifikasi yaitu dengan mengimpregnasi silikagel dengan perak nitrat ( $AgNO_3$ ). Hasil terbaik diperoleh dengan perbandingan eluen Heksana : Aseton = 95:5 (v/v), dengan komposisi berdasarkan hasil analisis dengan GC- MS yang dibandingkan dengan standar CLA : LA hasil pemurnian adalah 0,85 : dengan tingkat pencapaian **77,66 %** dibanding standar CLA otentik dengan perbandingan 1,45 : 1.

### Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas Negeri Medan dan Dit. Litabmas DP2M Dikti Depdikbud yang memberikan dana penelitian Desentralisasi Skim Hibah Bersaing Tahun anggaran 2014.

### Daftar Pustaka

Adolf .R. O; A. Menzel and V. D. Taran; 2002; Analysis of Conjugated Linoleic Acid Enriched Triacylglycerol

- Mixture by Isocratic Silver – Ion High Performance Liquid Chromatography; *J. Chrom. A* 953 : 293 – 297.
- Albers . R; R. P. J. Van der Wielen; E. J. Brink; H. F. J. Hendriks; V. N. D. Taran and I. C. M. Mohede; 2003; Effects of cis-9, trans-11 And trans-10, cis-12 Conjugated Linoleic Acid (CLA) Isomers on Immune Function in Healthy Men; *Eur. L. Clin. Nutr.* 57: 595 – 6003.
- Allonso. L; E. P. Guesta and S. E. Gilliland; 2003; Production of Free Conjugated Linoleic Acid Isomers by *Lactobacillus acidophilus casei* of Human Intestinal Origin; *J. Dairy Sci* 86: 1941 – 1946.
- Bissonauth P; Y. Chounard; J. Marin; N. Leblac and H. Jacques; 2008; Altered Lipids Response in Hamster Fed cis – 9 trans – 11 and trans – 8, cis - 10 Conjugated Linoleic Acid; *Lipids* 43 (3): 252 – 258.
- Blankson. H; J. A. Stakkestad; H. Fagertun; E. Thorn; J. Wadstein and O. Gudmundsen; 2003; Conjugated Linoleic Acid Reduced Body Fat Mass in Overweight and Obese Humans. *J. Nutr.* 130: 2943 – 2948.
- Brahmana. H. R; 1989; Penentuan Komposisi Asam Lemak Dari Bahan Alam Dengan Cara Kromatografi Gas Terhadap Metil Ester Dari Minyak Nabati (Tidak dipublikasi); *Laporan Penelitian Lemlit USU Medan*.
- Cristie .W. W ; 1998; Gas Chromatography –Mass Spectrometry Methods for Structural Analysis of Fatty Acid; *Lipids* 33: 343 – 353.
- Cristie .W. W; G. Dopson and R. O. Adlof; 2007; A Practical Guide to The Isolation, Analysis and Identification of Conjugated Linoleic Acid; *Lipids* 42: 1073 – 1025.
- Damyanova B. N; 2010; Silver Ion Chromatography and Lipids; [http://www.lipidlibrary.aocs.org/silver/bn\\_d\\_rev/index1.htm](http://www.lipidlibrary.aocs.org/silver/bn_d_rev/index1.htm) (Accsted on September 10<sup>th</sup> 2010)
- Dobson. G; 1998; Identification of Conjugated Linoleic Acid by GC-MS of 4-methyl 1,2,4 – triazoline -3,5 – Dione Adducts; *JAACS* 75: 137 – 142.
- Guil - Guerro. J. L; P. Campa Madrid and E. El – Hassan; 2000;  $\gamma$  - Linoleic Acid Purification from Seed Oil Sources by Argentated Silica gel Chromatography Column ; *J. Chrom. A* 694: 381 – 389.
- Liangli.Y; 2001; Free Radical Scavenging of Conjugated Linoleic Acid; *J. Agr. and Food Chem.* 49: 3452 – 3456.
- Liangli.Y; D. Adams and M. Gabel; 2002, Conjugated Linoleid Acid Differs in Their Free Radical Scavenging Properties; *J. Agr. and Food Chem.* 50 : 4135 – 4140.
- Lin. T. Y; C. W. Lin and Y. J. Wang; 2003; Production of Conjugated Linoleic Acid by Enzyme Ekstract of *Lactobacillus Acidophilus* CCRC 14079; *Food Chem.* 83 : 27 – 31.
- Mawarni. R; 2006; Asam Linoleat Terkonjugasi Penurun Timbunan Lemak (Tidak dipublikasi); *Laporan Penelitian Pusat Kajian Makanan Dan Obat Tradisiana Lembaga Penelitian UNDIP Semarang*.
- Muller. J. D; and J. E. Delahoy; 2009; CLA Implications foe Animal Production and Human Health : [www.das.psu.edu/temdairy](http://www.das.psu.edu/temdairy) 04 : 1 – 8 (Accsted on September 10<sup>th</sup> 2010).
- Nagao. K. N; N. Inou; Y. M. Wang and J. Shimada; 2003; The t10, c12 Isomers of CLA Suppresses the Development of Hypertention in Otsuka Long Evans Tokushima Fatty Rats; *Biochem. Biophys. Res. Comun.* 36: 134 – 138.
- O’Shea. A. M; R. Devery; F. Lawless; K. Koegh and T. Stanton; 2000; Enrichment of The Conjugated Linoleic Acid Conten in Bovine Milk by Dry Fractination; *Int. Dairy J.* 10 : 289 – 294.
- Ozgul. Y. S; 2005; Determination of Conjugated Linoleic Acid Conten of Selected Oil Seeds Grown in Turkey; *JAACS* 82 : 893 – 898.
- Parodi. P.W; 1997; Conjugated Linoleic Acid of Milk Fat; *J. Dairy Sci.* 60: 1550 – 1553.

- Pawlosky, R. J; H. W. Sprecher and N. Salem; 1992; High Sensivity Negative GC – MS Method for Detection of Desaturated and chain Elongated Product of Deuterated Linoleic and Linolenic Acid; *Lipid* 33 : 1711 – 1717.
- Petridou, M; A. Mougios and M. A. de La Fuente; 2005; Suplementation with CLA Isomer Incorporation into Serum Lipids and Effects on Body Fat Women; *Lipids* 38: 805 – 811.
- Pilar, L; J. Fonthecca; M. Juarez and M. A. de la Fuente; 2005; Conjugated Linoleic Acid in Ewe Milk Fat; *J. Dairy Research* 72 : 415 – 424.
- Priest, W. G and J. D. Von Mikusch; 1997; Composition and Analysis of Dehydrated Castor Oil; *Woburn Degreasing Company of New Jersey* New York.
- Rincon, M. A. C; I. R. Garcia and J. L. Guil-Guerro; 2009; Purification of GLA – Triglycerides from Evening Primrose Oil by Gravimetric Column Chromatography; *JAOCS* 86 : 605 – 609.
- Roach, J.A.G; M.P. Yuruwecz; J.G.K. Kramer; M.M. Mossoba and Y. Ku; 2000; Gas Chromatography –High Resolution Selection Mass Spectrometric Identification of Trace 21:0 and 20:2 Fatty Acid Eluting With Conjugated Linoleic Acid Isomers; *Lipids* 35 :797 -802.
- Sehat, N; J. K. G. Kramer; M. M. Mossoba; M. P. Yurawecz; J. A. G. Roach; K. Eulitz; K. M. Morehouse and Y. Ku; 1998; Identification of Conjugated Linoleic Acid Isomers in Cheese by Gas Chromatography , Silver Ion High Performance Liquid Chromatography and Mass Spectral Reconstructed Ion Profiles Comparison of Chromatographic Elution Sequences; *Lipids* 33: 963 - 971.
- Sitorus, M; S. Ibrahim; H. Nurdin dan D. Darwis; 2009; Transformation of Ricinoleic of Castor Oil into Linoleic Acid (Omega – 6) and Conjugated Linoleic Acid by Dehydration; *Indo. J. Chem.* 9 (2): 278 – 284.
- Sitorus, M; S. Ibrahim; H. Nurdin dan D. Darwis; 2010; Studi Kinetika Dehidrasi Risinoleat Minyak Jarak; *Jurnal Riset Kimia*; 3 (2): 139 - 144
- Sitorus, M; S. Ibrahim; H. Nurdin dan D. Darwis; 2011<sup>a</sup>; Isomerisasi Linoleat Minyak jarak Hasil Dehidrasi Menjadi Asam Linoleat Terkonjugasi dan Pemisahannya dengan Kromatografi Kolom Fasa Diam Silikage Terimpregnasi Perak Nitrat; *Jurnal Matematika dan Sains* 16 (1): Inpress
- Villeneuve, P; R. Lago; N. Barouh and B. Barea; 2005; Production of Conjugated Linoleic Acid Isomers by Dehydration and Isomerization of Castor Bean Oil; *JAOCS* 82 : 261 – 270.
- Wisnu, A. Y; 2003; Asam Linoleat Terkonjugasi Nutrien Ajaib Yang Sarat Manfaat; *Departemen Teknologi Pangan Universitas Wangsa Manggala* Yogyakarta.
- Yuruwecz, M. P and K. M. Morehouse; 2001; Silver-Ion HPLC of Conjugated Linoleic Acid Isomers; *Eur J Lipid Sci Technol* 103 : 609 -613.