

Reaksi Maillard Mekanisme dan Peran dalam Pangan dan Kesehatan

by Dedin Finatsiyatull Rosida

Submission date: 14-Dec-2022 02:47PM (UTC+0700)

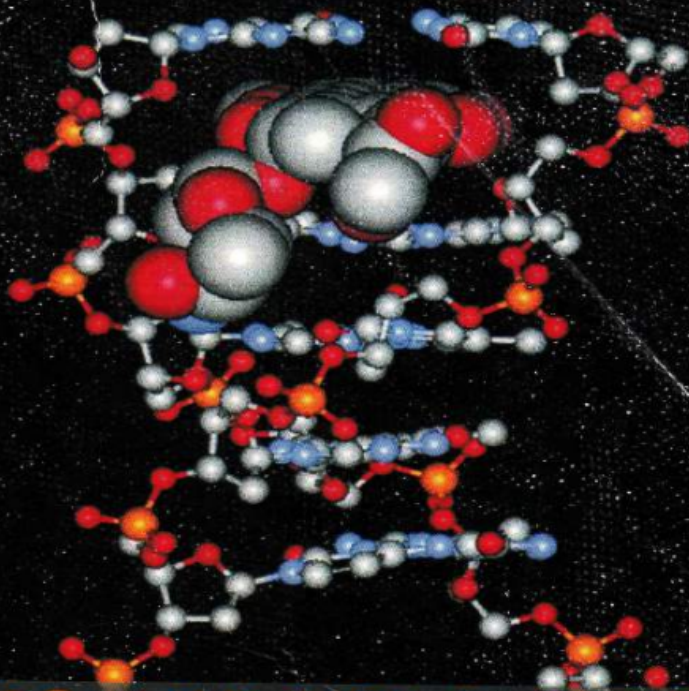
Submission ID: 1980956117

File name: BUKU_REAKSI_MAILLARD_DEDIN_FR-compressed.pdf (4.71M)

Word count: 28299

Character count: 182738

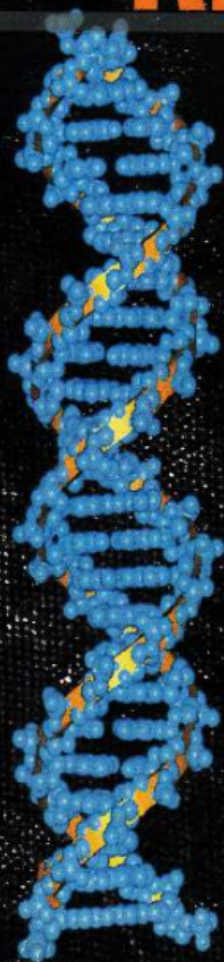
**PENERBIT
YAYASAN HUMANIORA**



REAKSI MAILLARD

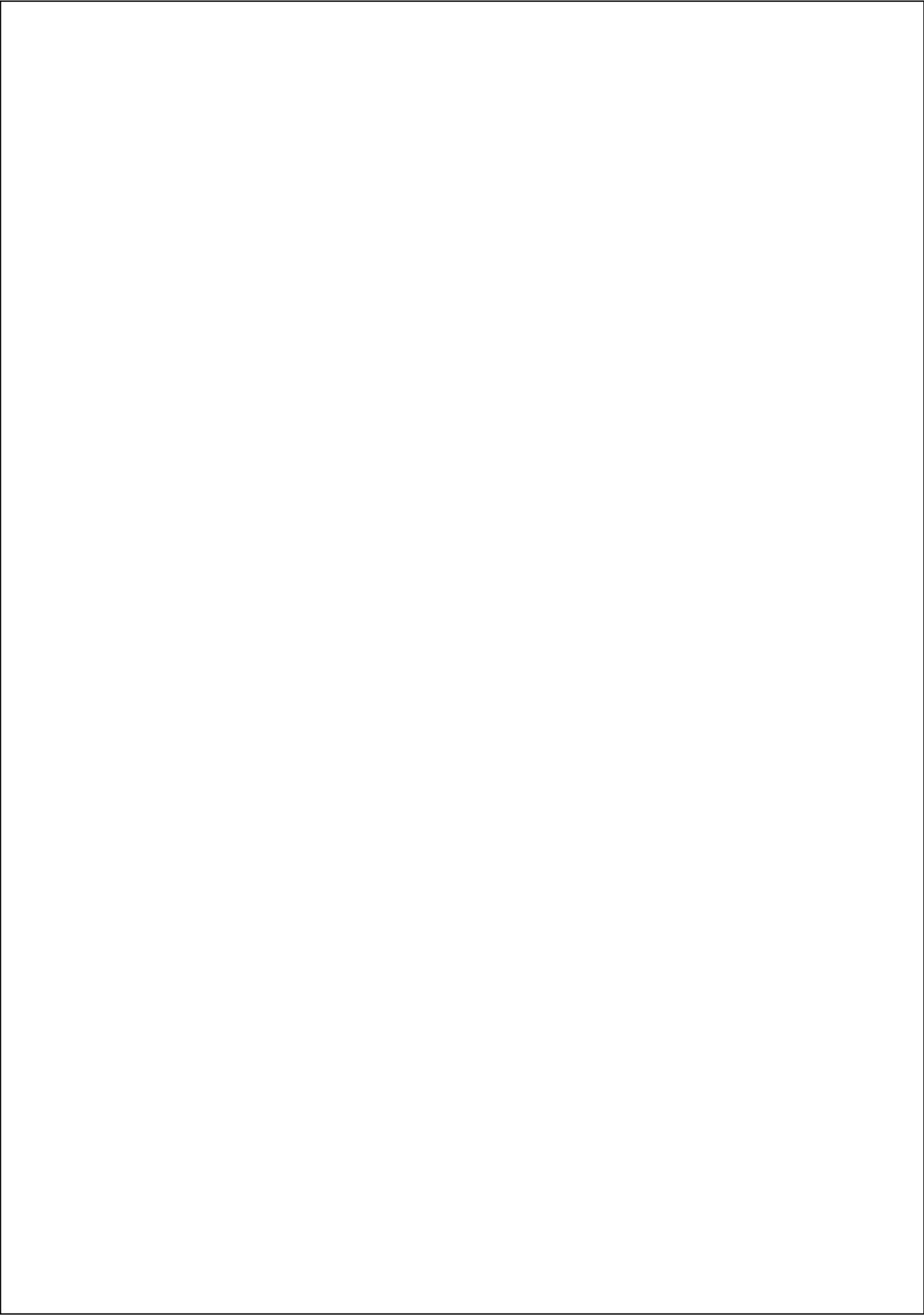
**MEKANISME DAN PERAN
DALAM PANGAN DAN KESEHATAN**

DEDIN F. ROSIDA



REAKSI MAILLARD

MEKANISME DAN PERAN DALAM PANGAN DAN KESEHATAN



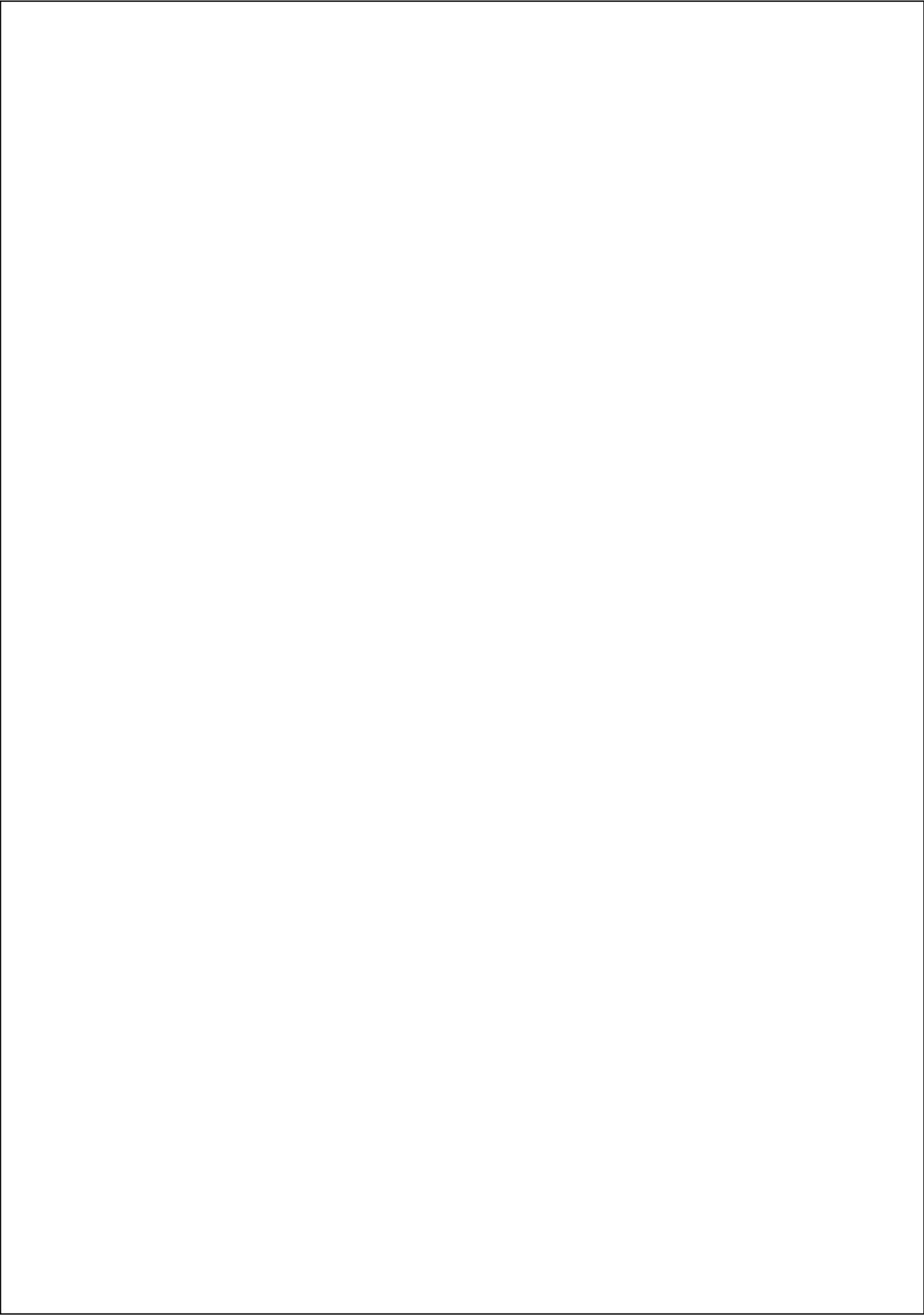
Dedin F. Rosida

REAKSI MAILLARD

MEKANISME DAN PERAN DALAM PANGAN DAN KESEHATAN

PENERBIT

YAYASAN HUMANIORA



REAKSI MAILLARD

MEKANISME DAN PERAN DALAM PANGAN DAN KESEHATAN

Oleh : Dedin F. Rosida

9

Edisi Pertama

Cetakan Pertama, 2011

Hak Cipta © 2011 pada penulis,

Hak Cipta dilindungi oleh Undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, secara elektronis maupun mekanis, termasuk memphoto copy, merekam atau dengan teknik perekaman lainnya tanpa izin tertulis dari penulis dan penerbit. Isi buku merupakan tanggung jawab penulis.

Penerbit :

Yayasan Humaniora

Jl. Melati gang Apel No. 6

Klaten 57412

E-mail : humaniorapenerbit@yahoo.co.id

Rosida, Dedin F.

Reaksi Maillard Mekanisme Dan Peran Dalam
Pangan Dan Kesehatan / Dedin F. Rosida
- Edisi Pertama-Klaten; Yayasan Humaniora, 2011
x + 204 hlm, 1 Jil. : 23 cm

ISBN : 978-979-3327-74-7

1. TEKNIK

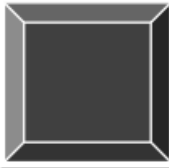
I. Judul

2

**Sanksi Pelanggaran pasal 44 :
Undang-Undang Nomor 7 Tahun 1987 tentang
Perubahan Undang-Undang Nomor 6 Tahun 1982**

Tentang Hak Cipta

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak mengumumkan atau memperbanyak suatu ciptaan atau memberi **ijin** untuk itu, dipidana dengan pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 100.000.000,- (seratus juta rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam ayat (1), dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 50.000.000,- (lima puluh juta rupiah).



KATA PENGANTAR

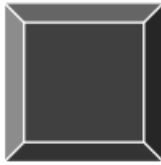
Alhamdulillahirobbil Aalamin kami panjatkan dengan selesainya penulisan buku yang berjudul " Reaksi Maillard, Mekanisme dan Peran dalam Pangan dan Kesehatan". Buku ini merupakan edisi pertama, yang disusun sebagai pegangan dalam perkuliahan Kimia Pangan . Dalam buku dibahas secara lengkap mekanisme reaksi Maillard secara umum dan pada pembentukan senyawa spesifik, demikian juga dibahas senyawa produk reaksi Maillard yang terdapat pada produk pangan dan efeknya pada flavor, nilai gizi, pembentukan senyawa toksik dan efek fungsionalnya.

Buku ini dirancang dan ditulis sesuai dengan prinsip-prinsip instruksional. Dosen sebagai salah satu sumber informasi, motivator dan fasilitator sangat diharapkan berperan aktif karena berhadapan langsung dengan mahasiswa

Akhirnya, penyusun berharap semoga buku ini bermanfaat. Kritik dan saran yang sifatnya membangun untuk lebih menyempurnakan buku ini sangat penyusun harapkan.

Surabaya, Maret 2011

Penyusun



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
BAB 1 REAKSI MAILLARD	1
1.1. Sejarah dan Perkembangannya	1
1.2. Peran Reaksi Maillard	2
1.3. Rangkuman	4
1.4. Latihan Soal	4
1.5. Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	4
BAB 2 MEKANISME REAKSI MAILLARD	7
2.1. Mekanisme Reaksi Maillard Secara Umum	7
2.2. Mekanisme Reaksi Maillard Pada Pembentukan Senyawa Spesifik	16
2.3. Rangkuman	25
2.4. Latihan Soal	26
2.5. Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	26
BAB 3 PERAN PEPTIDA, PROTEIN, LEMAK DAN OLIGOSAKARIDA DALAM REAKSI MAILLARD	27
3.1. Peptida	27
3.2. Protein	30
3.3. Lipida	32
3.36 Oligosakarida	47
3.5. Rangkuman	55
3.6. Latihan Soal	56
3.7. Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	56
BAB 4 FAKTOR-FAKTOR YANG BERPENGARUH TERHADAP REAKSI MAILLARD	57
4.1. Pengaruh pH	57
4.2. Pengaruh Suhu	59
4.3. Pengaruh Aktivitas Air (a_w)	61
4.4. Pengaruh Waktu	63

4.5.	Pengaruh Proporsi Dan Sifat Reaktan	64
4.6.	Penghambat Reaksi Maillard	65
4.7.	Rangkuman	66
4.8.	Latihan Soal	67
4.9.	Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	67
BAB 5	KOMPONEN VOLATIL, NON VOLATIL PRODUK REAKSI MAILLARD	69
5.1.	Komponen Volatil	69
5.2.	Komponen Non Volatil Berat Molekul Rendah	91
5.3.	Rangkuman	95
5.4.	Latihan Soal	95
5.5.	Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	95
BAB 6	PRODUK REAKSI MAILLARD DARI ASAM AMINO SPESIFIK	97
6.1.	Prolin	97
6.2.	Sistein	99
6.3.	Histidin	101
6.4.	Serin Dan Treonin	104
6.5.	Fenilalanin	112
6.6.	Rangkuman	116
6.7.	Latihan Soal	116
6.8.	Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	117
BAB 7	PENDUGAAN STRUKTUR MELANOIDIN	119
7.1.	Pembentukan Blue Pigment sebagai Penduga Struktur Melanoidin	119
7.2.	Struktur Melanoidin diduga sebagai Polimerisasi atau Oligomerisasi Pirol	120
7.3.	Struktur Melanoidin diduga Mengandung Senyawa Berberat Molekul Rendah dan Senyawa Berberat Molekul Tinggi	127
7.4.	Struktur Melanoidin diduga merupakan Ikatan Silang antara Asam Amino/ Protein dengan Senyawa Hasil reaksi Maillard Berberat Molekul Rendah	128
7.5.	Rangkuman	133
7.6.	Latihan Soal	133
7.7.	Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	134
BAB 8	PENGARUH REAKSI MAILLARD TERHADAP NILAI GIZI, PEMBENTUKAN KOMPONEN TOKSIN, KARSINOGENIK DAN MUTAGENIK	135
8.1.	Nilai Gizi	135
8.2.	Toksin	139

8.3.	Mutagenik	141
8.4.	Karsinogenik	149
8.5.	Rangkuman	152
8.6.	Latihan Soal	152
8.7.	Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	153
BAB 9	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PRODUK REAKSI MAILLARD	155
9.1.	Mekanisme Produk Reaksi Maillard sebagai Antioksidan	156
9.2.	Macam-macam Senyawa Produk Reaksi Maillard yang Bertindak sebagai Antioksidan	160
9.3.	Rangkuman	176
9.4.	Latihan Soal	177
9.5.	Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	177
BAB 10	REAKSI MAILLARD IN VIVO	179
10.1.	Diabetes	179
10.2.	Penuaan (Aging)	182
10.3.	Katarak	185
10.4.	Kerusakan DNA	187
10.5.	Rangkuman	189
10.6.	Latihan Soal	190
10.7.	Umpan Balik Dan Tindak Lanjut	190
	DAFTAR PUSTAKA	191
	LAMPIRAN JAWABAN LATIHAN SOAL	195
	TENTANG PENULIS	203
	GLOSARIUM	
	INDEKS	



REAKSI MAILLARD

1.1 SEJARAH DAN PERKEMBANGANNYA

Fenomena reaksi Maillard pertama kali ditemukan pada tanah, yaitu pada sedimen pasir laut. Pada sedimen pasir laut kaya polimer nitrogen dan gula pereduksi yang berasal dari organisme laut (*Ikan et al.*, 1996). Dengan adanya polimer yang mengandung nitrogen dan gula pereduksi serta terjadi pemanasan, menurut Maillard pada tahun 1912 dapat terjadi suatu reaksi yang dinamakan reaksi Maillard.

Louis-Camille Maillard adalah orang yang pertama mengamati pembentukan warna coklat dari reaksi antara gula pereduksi dengan asam amino. Pengamatan tersebut terjadi ketika Maillard melakukan percobaan cara sintesis protein dari campuran D-glukosa dengan asam amino sistem larutan pekat semi kering. Reaksi yang menimbulkan pencoklatan tersebut akhirnya disebut reaksi Maillard yang juga dikenal dengan nama reaksi pencoklatan non enzimatis. Penemuan Maillard pada tahun 1912 mendorong ilmuwan lain melakukan penyelidikan lanjut tentang fenomena-fenomena yang terjadi pada reaksi gula pereduksi dengan asam amino.

Sekitar 40 tahun kemudian, yakni pada tahun 1950-an diketahui reaksi Maillard berkontribusi terhadap pembentukan aroma, warna, rasa dan perubahan tekstur bahan pangan terolah dengan panas dan tersimpan dalam waktu yang relatif lama. Pengertian pembentukan aroma tersebut menjadi lebih jelas setelah teknik analisis kromatografi gas-spektrometer massa (CG-MS) berkembang pada tahun 1960-an

terutama penggunaannya untuk identifikasi komponen volatil bahan pangan. Kajian kontribusi reaksi Maillard dalam bahan pangan terolah dengan panas terus berlanjut dan telah banyak memberi sumbangan terhadap pengembangan kimia pangan. Reaksi Maillard dalam bahan pangan sangat kompleks yang disebabkan oleh kompleksnya komponen bahan pangan tersebut. Hal ini berakibat pemahaman secara mendalam peranan reaksi Maillard dalam bahan pangan sukar tercapai. Pemahaman menjadi lebih jelas dengan menggunakan sistem dimana komponen penyusun bahan dapat diatur serta pengaruh lingkungan dapat dikendalikan. Sistem seperti itu dikenal dengan nama sistem model.

1.2 PERAN REAKSI MAILLARD

Dengan sistem model telah menghasilkan beberapa informasi tentang peran reaksi Maillard dalam bahan pangan terolah dengan panas dan tersimpan dalam waktu relatif lama. Demikian pula telah banyak menghasilkan informasi mekanisme reaksi awal. Reaksi pembentukan senyawa intermediat dan pembentukan produk-produk stabil. Dalam bahan pangan, reaksi Maillard terjadi antara gugus karbonil gula produksi dengan gugus asam amino bebas, residu rantai peptida dan protein. Gugus α - amino residu lisin yang terikat pada peptida dan protein berperan penting dalam reaksi yang disebabkan kereaktifannya yang relatif tinggi. Selain gugus amino residu peptida dan protein, gugus α - amino terminal juga berperan dalam reaksi Maillard.

Selain berperan dalam pembentukan warna, aroma dan rasa, reaksi Maillard dalam bahan pangan dapat menyebabkan penurunan nilai gizi pangan, menghasilkan komponen yang bersifat toksik, antinutrisi, mutagenik, karsinogenik, antikarsinogenik, antimikroba, antioksidan dan komponen senyawa antibodi. Penurunan nilai gizi pangan disebabkan karena keterlibatan asam-asam amino esensial dan beberapa jenis vitamin dalam reaksi Maillard. Produk reaksi Maillard yang bersifat mutagenik dan karsinogenik pada umumnya senyawa-senyawa amino heterosiklik seperti imidazoquinolin (mutagenik) dan N,N-dimetilnitrosamin (karsinogenik). Reaksi antara laktosa dengan protein

membentuk laktosa-protein dilaporkan bersifat antibodi. Beberapa produk reaksi Maillard senyawa N heterosiklik dan S heterosiklik dilaporkan berperan sebagai antioksidan dan antikarsinogenik.

Pada tahun 1980-an mulai dilaporkan reaksi Maillard berlangsung dalam *in vivo* (dalam tubuh makhluk hidup) dengan fenomena yang serupa dalam bahan pangan (*in vitro*). Reaksi Maillard *in vivo* pertama kali teramati pada pasien yang menderita diabetes abnormal. Pasien penderita diabetes kadar glukosa darah tinggi. Glukosa ini bereaksi dengan protein plasma darah membentuk kompleks glukosa-protein melalui ikatan silang yang dikenal dengan istilah glikosilasi non enzimatik. Senyawa glukosa-protein terdeteksi dalam urin penderita diabetes. Kajian lebih lanjut memberi informasi glikosilasi non enzimatik meningkatkan fungsi ketuaan dan diabetes, Protein lensa mata dapat mengalami glikosilasi non enzimatik membentuk senyawa kompleks melapisi lensa mata yang dikenal dengan istilah katarak. Selain itu teramati pula kerusakan DNA yang disebabkan reaksi Maillard, yakni reaksi antara glukosa dengan amin heterosiklik penyusun asam nukleat (DNA dan RNA).

Fenomena reaksi Maillard dalam tubuh mamalia sebenarnya telah dihipotesiskan sejak awal penemuan Maillard, bahkan ketika itu telah ada dugaan reaksi Maillard telah ada sejak ditemukannya api. Saat ini kajian reaksi Maillard secara intensif lebih terfokus pada komponen protein, karbohidrat lipida pangan, terutama dalam kaitannya dengan metabolisme tubuh manusia. Beberapa produk reaksi Maillard yang hingga kini belum terlalu jelas adalah produk reaksi Maillard yang tidak mudah menguap (non volatil) berbobot molekul sedang, baik yang berwarna maupun yang tidak berwarna. Pada sisi lain komponen ini sangat berperan terhadap kesehatan manusia seperti senyawa-senyawa mutagenik dan karsinogenik. Ketidakjelasan tersebut terutama disebabkan keterbatasan teknik analisis komponen non volatil berbobot moleku sedang.

1.3 RANGKUMAN

Louis-Camille Maillard adalah orang yang pertama mengamati pembentukan warna coklat dari reaksi antara gula pereduksi dengan asam amino. Pengamatan tersebut terjadi ketika Maillard melakukan percobaan cara sintesis protein dari campuran D-glukosa dengan asam amino sistem larutan pekat semi kering. Reaksi yang menimbulkan pencoklatan tersebut akhirnya disebut reaksi Maillard yang juga dikenal dengan nama reaksi pencoklatan non enzimatis. Selain berperan dalam pembentukan warna, aroma dan rasa, reaksi Maillard dalam bahan pangan dapat menyebabkan penurunan nilai gizi pangan, menghasilkan komponen yang bersifat toksik, antinutrisi, mutagenik, karsinogenik, antikarsinogenik, antimikroba, antioksidan dan komponen senyawa antibodi.

1.4 LATIHAN SOAL

1. Senyawa apa saja yang menyebabkan terjadinya reaksi Maillard?
2. Apa kontribusi Produk Reaksi Maillard terhadap bahan pangan yang mengalami pengolahan dan penyimpanan?
3. Fenomena reaksi Maillard yang berlangsung secara *in vivo* (dalam tubuh makhluk hidup) dengan fenomena yang serupa dalam bahan pangan (*in vitro*) terjadi pada penderita penyakit apa?
4. Apa yang dimaksud dengan glikosilasi non enzimatis?
5. Apa penyebab penyakit katarak?

1.5 UMPAN BALIK DAN TIDAK LANJUT

Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan I.

Rumus: $\frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$

5

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan⁴ pada bab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.



MEKANISME REAKSI MAILLARD

2.1 MEKANISME REAKSI MAILLARD SECARA UMUM

Reaksi Maillard sangat kompleks, saling berhubungan satu terhadap yang lain membentuk suatu jaringan proses. Hodge pada tahun 1953 menyederhanakan reaksi tersebut ke dalam satu skema, yang kemudian dimodifikasi oleh Nursten (1990) dan disempurnakan lagi oleh Ho (1996) yang dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Pada dasarnya reaksi Maillard dibagi menjadi tiga tahap: tahap awal, intermediet dan tahap akhir. Pada tahap awal terjadi pembentukan glikosilamin N-tersubstitusi dan penyusunan ulang (rearrangement) glikosilamin. Pada tahap intermediet (tahap antara) berlangsung reaksi dehidrasi membentuk furfural ($-3\text{H}_2\text{O}$) atau membentuk redukton ($-2\text{H}_2\text{O}$); terjadi fisi yang melibatkan interaksi asam amino dengan senyawa-senyawa dikarbonil baik dehidroreduktion maupun produk-produk fisi, dehidroreduktion atau aldehyd Strecker menjadi produk-produk berberat molekul tinggi (melanoidin) melalui interaksinya dengan senyawa amin.

2.1.1 Tahap awal

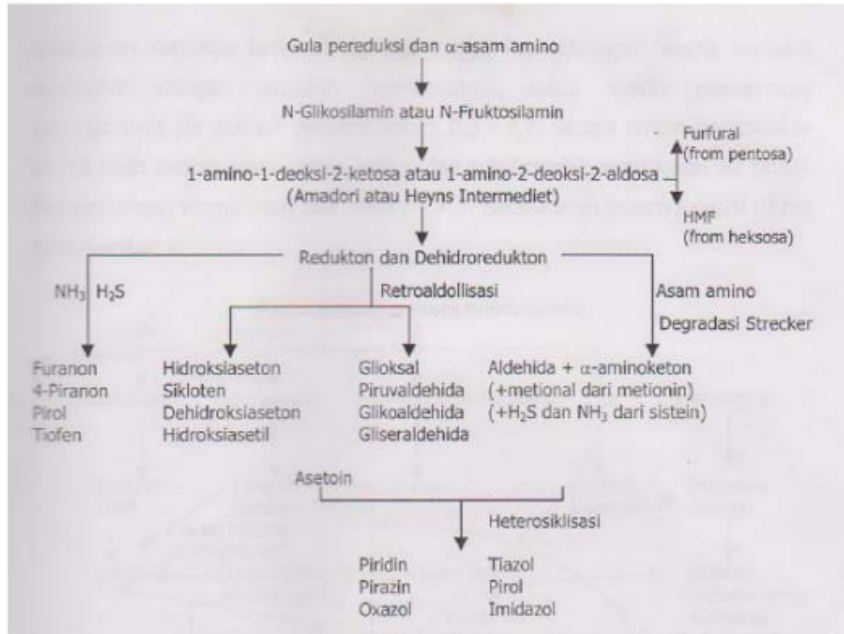
Pada tahap awal terjadi reaksi kondensasi senyawa karbonil dengan senyawa amino membentuk glikosilamin N-tersubstitusi melalui pembentukan basa Schiff yang reversibel seperti terlihat pada Gambar 2.2. Basa Schiff kemudian melakukan pengaturan ulang (rearrangement) membentuk senyawa intermediet rekatif, seperti 1-

deoksiglukoson dan 3-deoksiglukoson melalui pengaturan ulang amino-deoksialdosa atau deoksiketosa dengan amadori atau Heyns rearrangement. 1-Deoksiglukoson atau 3-deoksiglukoson melalui reaksi retroaldol membentuk α -dikarbonil reaktif, seperti piruvaldehida dan diasetil. Komponen-komponen reaktif ini kemudian bereaksi dengan komponen lain, seperti pirazin, piridon, pirol, furan dan lain sebagainya (HO, 1996). Laju reaksi kondensasi pada reaksi pembentukan glikosilamin N-tersubstitusi mencapai maksimum pada kondisi lingkungan asam lemah ($\text{pH} < 7$) untuk gula aldosa. Hal tersebut memberi keterangan reaksi dikatalisis oleh asam. Glikosilamin yang terbentuk selanjutnya mengalami penyusunan ulang yang disebut penyusunan ulang Amadori (rearrangement Amadori) membentuk 1-amino-1-deoksi-2-ketosa yang dikenal dengan nama Amadori Rearrangement Product (ARP).

Glikosilamin N-tersubstitusi (secara umum disebut dengan aldosilamin N-tersubstitusi) termasuk amin sekunder yang dapat bereaksi dengan senyawa aldosa lain membentuk diketosamin melalui penyusunan ulang. Keadaan ini telah dibuktikan oleh Anet (1964) yang berhasil mengisolasi ARP ganda (di-D-fruktosa-glisin) dari hasil reaksi D-fruktosa-glisin dengan manosa dan glisin dengan glukosa.

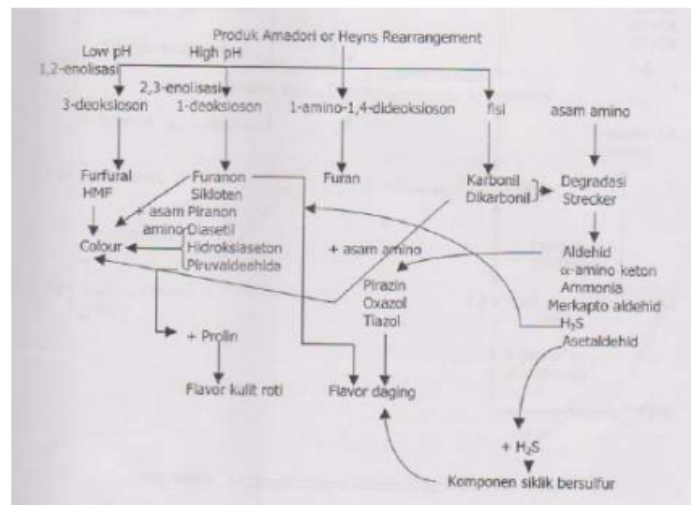
Reaksi antara ketosa dengan senyawa amino membentuk 2-amino-2-deoksialdosa melalui penyusunan ulang Heyns yang dikenal dengan nama Heyns Rearrangement Product (HRP). HRP, nama lainnya ketosilamin N-tersubstitusi analog dengan ARP, nama lainnya aldosilamin N-tersubstitusi. Reaksi penyusunan ulang Heyns menghasilkan senyawa kiral dengan pusat asimetri pada atom karbon dua, sehingga dari reaksi fruktosa dengan amin akan menghasilkan 2-amino-2-deoksiglukosa dan 2-amino-2-deoksimanosa. Produk yang terbentuk sangat bergantung dari jenis senyawa amino asalnya. Reaksi antara D-fruktosa dengan amonia atau amin primer menghasilkan 2-amino-2-deoksiglukosa, sedangkan reaksi antara D-fruktosa dengan asam α -amino menghasilkan campuran glukosa-amino, manosa-amino dan fruktosa-amino dengan persentase komposisi yang bervariasi.

Persentase komposisi bergantung pada jenis asam amino dan kondisi reaksi.



Gambar 2.1 Mekanisme Reaksi Maillard (Ho, 1996)

Mekanisme reaksi Maillard di dalam HO (1996) disempurnakan lagi oleh Mlotkeewiez (1998) (Gambar 2.2), bahwa kondensasi asam amino dengan gula pereduksi selain dapat membentuk Amadori dan Heyns rearrangement, juga dapat membentuk produk fisi lewat radikal bebas tanpa melalui amadori dan Heyns rearrangement. Apabila melalui produk Amadori atau Heyns rearrangement maka dapat membentuk : 1) 3-deoksioson pada proses 1,2-enolisasi dan pH rendah; 2) 1-deoksioson, pada proses 2,3-enolisasi dan pH tinggi, dan 3) 1-amino-1,4-dieksioson. Melalui reaksi kompleks seperti seperti dehidrasi, eliminasi, siklisasi, fisi dan fragmentasi membentuk flavor intermediet dan senyawa flavor. Jalan yang paling penting adalah degradasi Strecker, yang mana asam amino bereaksi dengan karbonil untuk membentuk senyawa intermediet reaktif.



Gambar 2.2 Mekanisme reaksi Maillard (Mlotkeewiez 1998)

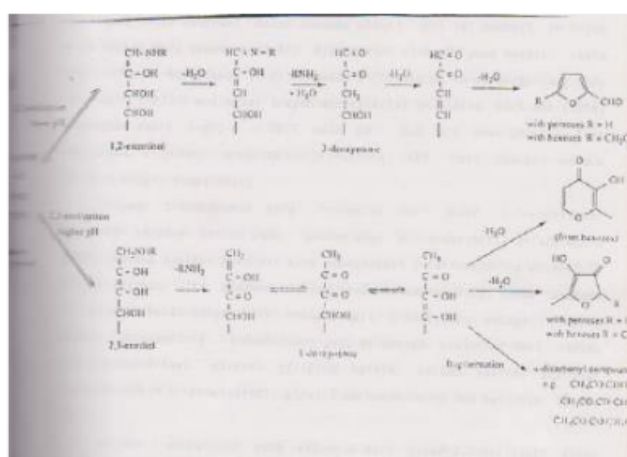
ARP merupakan senyawa intermediat reaksi Maillard yang sangat penting dalam bahan pangan, sebab intermediat ini bertanggung jawab terhadap pembentukan flavor dan warna kebanyakan bahan pangan terolah dengan panas. Keberadaan ARP dalam beberapa komoditi telah teridentifikasi seperti kecap, tepung tomat, teh hitam, daging panggang, miso, wine putih, sake, malt dan sayuran kering.

Pengaruh pH terhadap laju pembentukan ARP nampaknya saling bertentangan. Pada satu pihak menyatakan tahap awal reaksi Maillard berlangsung lebih cepat pada kondisi reaksi yang sedikit asam, di pihak lain menyatakan kecepatan reaksi Maillard meningkat sejalan dengan meningkatnya nilai pH. Keadaan tersebut menurut Namiki (1998) dapat dijelaskan dengan adanya tambahan mekanisme reaksi yang terjadi pada kondisi netral dan basa. Tambahan mekanisme reaksi melibatkan frakmentasi gula. Penjelasan tersebut berdasarkan terbentuknya fragmen-fragmen berat atom karbon dua dan tiga pada tahap awal reaksi Maillard. Fragmen berat atom karbon dua terbentuk sebelum pembentukan ARP, sedangkan fragmen berat atom karbon tiga terbentuk setelah pembentukan ARP (dibentuk dari ARP). Berdasarkan pengamatan Namiki, Nursten (1990) mengusulkan satu

jalur tambahan, yaitu terbentuknya produk-produk fisi langsung dari glikosilamin N-tersubstitusi. Fragmen tersebut masing-masing glikoaldehid dan glikoksal (fragmen beratom karbon dua) dan gliseraldehid dan metilglioksal untuk fragmen beratom tiga. Produksi produk-produk fisi meningkat dengan meningkatnya pH yang seiring dengan peningkatan laju pembentukan warna coklat. Hal ini memberi petunjuk fragmentasi gula berperan penting mempercepat reaksi Maillard.

2.1.2 Tahap Intermediet

Pada tahap intermediet terdapat empat jalur yang terlibat, tiga jalur berasal dari ARP secara langsung sedangkan satu jalur tidak langsung yang disebut jalur degradasi Strecker. Jalur pertama disebut jalur 1,2-enolisasi menghasilkan 3-deoksioson, jalur kedua disebut jalur 2,3-enolisasi menghasilkan 1-deoksioson (Gambar 2.3). Kedua jalur ini telah dipahami sejak lama. Jalur ketiga yang melibatkan pembentukan 1-amino-1,4-dideosioson sebagai senyawa intermediet adalah penemuan terbaru dimana keberadaannya secara tidak langsung menggunakan analogi pembentukan kuinoksalin. Jalur keempat adalah jalur degradasi Strecker yang melibatkan degradasi asam amino melalui reaksi antara asam amino dengan senyawa dikarbonil



Gambar 2.3 Dekomposisi ARP melalui 1,2 dan 2,3-enolisasi

Jalur kelima, yang melibatkan pembentukan intermediat 4-deoksioson, telah dikenal sebagai salah satu jalur pembentukan asam gluisosakarinat (dihasilkan dari campuran reaksi antara basa dengan gula) dan pembentukan 2-hidroksi asetilfuran. Pada Gambar 2.4 nampak terlihat pembentukan 3-deoksioson bersifat irreversibel, sedangkan pembentukan 1-deoksioson bersifat reversibel. Jalur 1,2-enolisasi lebih baik dalam suasana asam, sedangkan jalur 2,3-enolisasi lebih baik dalam suasana alkali. Hal ini memberi petunjuk arah reaksi dari dekomposisi ARP dipengaruhi oleh pH, yang berarti rasio pembentukan 1-deoksioson (1-d) terhadap 3-deoksioson (3-d) bergantung pada pH. Rasio 1-d/3-d meningkat dengan meningkatnya pH sistem.

Senyawa 3-deoksioson yang terbentuk dari jalur 1,2-enolisasi, merupakan senyawa antara pada pembentukan 5-hidroksimetil-2-furaldehid (HMF)(senyawa asal heksosa) atau pembentukan 2-furfuraldehid melalui 3-deoksipentosa, jika senyawa asalnya pentosa (Gambar 2.3). kedua senyawa ini telah dikenal dengan baik berasal dari 3-deoksioson sebagai senyawa antara (intermediat). 3-deoksioson juga merupakan prekursor dari lakton asam metasakarinat, piranon, piridinium betain, lakton, laktam, pirol-2-karboksaldehid 1-tersubstitusi, pirol-2-karboksaldehid dan maltosin (Ledl dan Schleicher, 1990).

Senyawa 1-deoksioson yang terbentuk dari jalur 2,3-enolisasi dapat mengalami dekomposisi membentuk reduktan dan produk-produk fisi seperti diasetil dan piruvaldehid. 1-deoksioson belum dapat diisolasi dari sistem model reaksi Maillard, akan tetapi keberadaannya diperkuat oleh hasil percobaan Beck dan kawan-kawan (1988) yang melakukan refluks campuran 1-deoksi-1-piperidino-D-fruktosa dengan o-fenilendiamin dalam larutan buffer fosfat pH 7 selama 10 jam. Hasil refluks menghasilkan 2-metil-3-(1,2,3-trihidroksiopropil) kuinoksalin dengan konsentrasi tinggi, yang memberi petunjuk terbentuknya 1-deoksioson sebagai hasil antara.

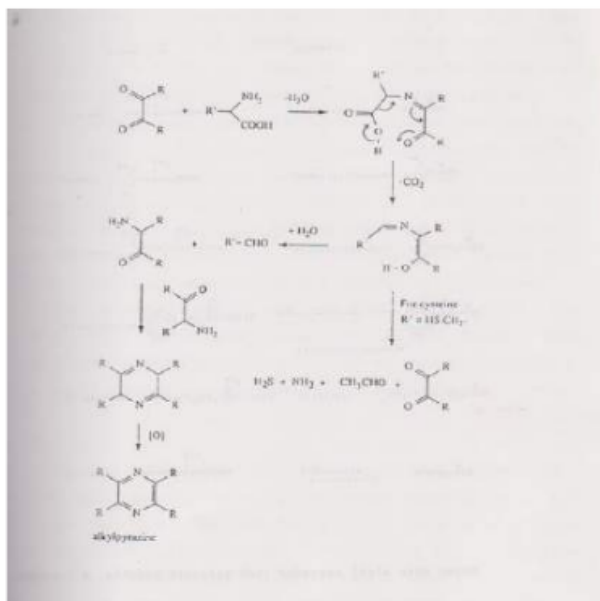
Senyawa 1-deoksioson merupakan prekursor pembentukan senyawa-senyawa flavor bahan pangan seperti turunan furanon dan piranon, prekursor pembentukan amino reduktan, produk-produk

fragmentasi gula, heksosa redukton, pirolinon dan piridon (Ledl dan Schleicher, 1990).

Senyawa 1-amino-1,4-dideoksioson produk jalur ketiga langsung dari ARP belum dapat diisolasi, akan tetapi pembentukan beberapa produk reaksi Maillard hanya dapat dijelaskan dengan mengasumsikan 1-amino-1,4-dideoksioson sebagai intermedietnya. Hal ini dapat dicontohkan sebagai berikut, pemanasan piperidinomaltulosa dengan O-fenilendiamin pada kisaran pH antara 4 dan 7, menghasilkan turunan kuinoksalin. Pembentukan turunan kuinoksalin membutuhkan 1-amino-1,4-dideoksioson sebagai intermediet.

Degradasi Strecker sebagai jalur keempat pada tahap intermediet menghasilkan senyawa aldehyd (disebut aldehyd Strecker) dan senyawa pirazin atau turunannya (Gambar 2.4). Reaksi awal melibatkan kondensasi antara senyawa α -dikarbonil dengan asam α -amino membentuk aldehyd Strecker dan α -aminoketon. Alfa aminoketon yang terbentuk berkondensasi dengan sesamanya, dengan furfural dan produk dehidrasi lainnya yang pada akhirnya terbentuk pigmen berwarna coklat. Aldehyd Strecker yang terbentuk dicirikan oleh asam amino asalnya.

Pembentukan 4-deoksioson pada jalur kelima dalam tahap intermediet reaksi Maillard belum dapat dikonfirmasi. Walaupun demikian, dapat dihasilkan dari isolasi 4-deoksioson dari produk degradasi maltosa dalam larutan natrium hidroksida 0.05 M yang diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 jam dalam suasana bebas oksigen. Produk degradasi maltosa tersebut diatas adalah asam D-glukoisosakarinat. Dengan dasar tersebut timbul asumsi 4-deoksioson terbentuk selama reaksi Maillard, dan pembentukan beberapa senyawa yang telah diisolasi dari sistem reaksi Maillard seperti 2-hidroksiasetilfuran, 2-hidroksiasetilpirol dan 2-hidroksimetilpiridium betain, paling baik dijelaskan melalui intermediet 4-deoksioson (Ledl dan Schleicher, 1990).

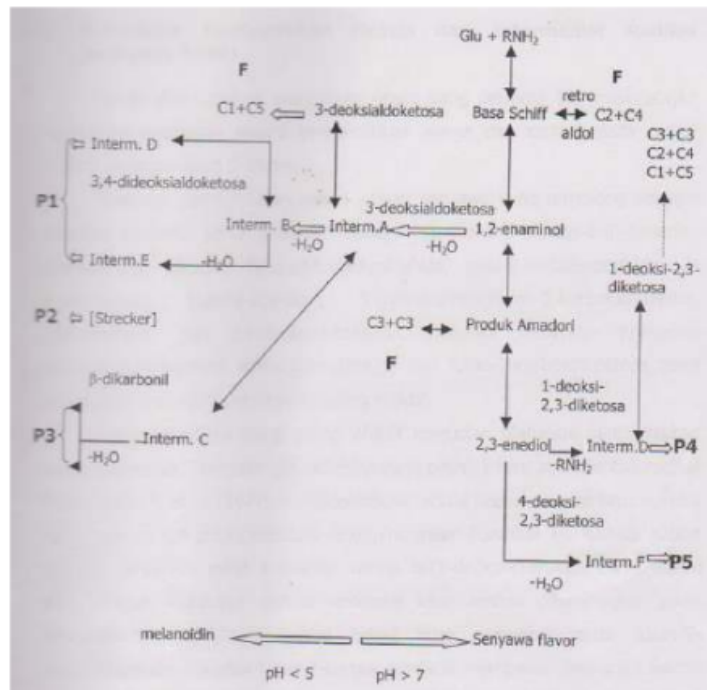


Gambar 2.4 Degradasi Strecker

2.1.3 Tahap Akhir

Pada tahap akhir reaksi Maillard, banyak senyawa-senyawa yang terbentuk pada tahap intermediat, seperti turunan enamiol, analog gula berberat molekul rendah dan produk karbonil tidak jenuh, bereaksi lebih lanjut dengan berbagai cara termasuk polimerisasi yang akhirnya membentuk polimer berwarna coklat yang disebut melanoidin sebagai produk akhir reaksi Maillard. Reaksi-reaksi utama yang terlibat dalam tahap akhir ini mencakup kondensasi aldol, reaksi aldehid dengan amin dan pembentukan senyawa heterosiklik bernitrogen.

Tahap akhir dari reaksi Maillard juga merupakan pembentukan polimer dan kopolimer nitrogen berwarna coklat. Perkembangan warna merupakan hal yang penting untuk reaksi selanjutnya. Ada dua kelas senyawa berwarna, yaitu senyawa berberat molekul rendah -2 sampai 4 cincin- dan melanoidin, yang merupakan senyawa berberat molekul tinggi. Perkembangan warna semakin meningkat dengan semakin meningkatnya suhu, waktu pemanasan, meningkatnya pH dan aw berkisar antara 0,3 – 0,7. Secara umum pencoklatan terjadi lebih lambat pada sistem kering dan suhu rendah serta kadar air tinggi. Perkembangan warna lebih baik pada pH >7. Secara lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Mekanisme reaksi Maillard (Tressl *et al* 1994)

Selain itu Tressl *et al.*, (1994) juga mengungkapkan mekanisme reaksi Maillard dengan berbagai produk intermediet dari berbagai fragmentasi. Fragmentasi dari heksosa dapat menjadi C1+ C5, C2 + C4 dan C3+ C3. Dari fragmentasi-fragmentasi ini dapat

dibentuk beberapa kelompok produk, yaitu P1 – P5. Produk melalui 3-deoksialdeketosa dengan fragmentasi C1 + C5 adalah 10 melalui 3,4-dedeoksialdocketosa (P1); 2) melalui degradasi Strecker (P2); 3) melalui β -dikarbonil (P3). Adapun P4 melalui 1-deoksi-2,3-diketosa dan P5 melalui 4-deoksi-2,3-diketosa dengan fragmentasi C3+C3, C2+C4 dan C1 + C5. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 2.5.

2.2 MEKANISME REAKSI MAILLARD PADA PEMBENTUKAN SENYAWA SPESIFIK

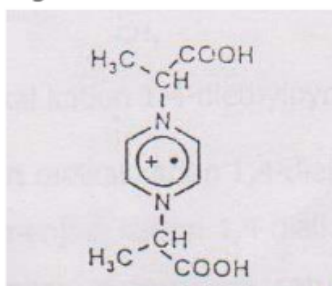
2.2.1 Mekanisme Pembentukan Produk Reaksi Maillard Non Sulfur.

a. Mekanisme Pembentukan Pirazin dari Intermediet Radikal (Hofmann, 1999)

Prekursor pembentukan warna adalah senyawa yang tergolong sebagai senyawa karbonil, yaitu glukosa, xilosa, N-(1-deoksi-D-fruktos-1-il)-L-alanin, glikoaldehida, glioksal, furan-2-karboksaldehida, pirol-2-karboksaldehida, 2-oksopropanal, butana-2,3-dion, 5-(hidroksimetil) furan-2-karboksaldehida, gliseraldehida, dan 2-hidroksi-3-butanon. Di antara beberapa prekursor pembentukan warna maka glikoaldehida dan furan-2-karboksaldehida yang merupakan prekursor warna yang paling efektif.

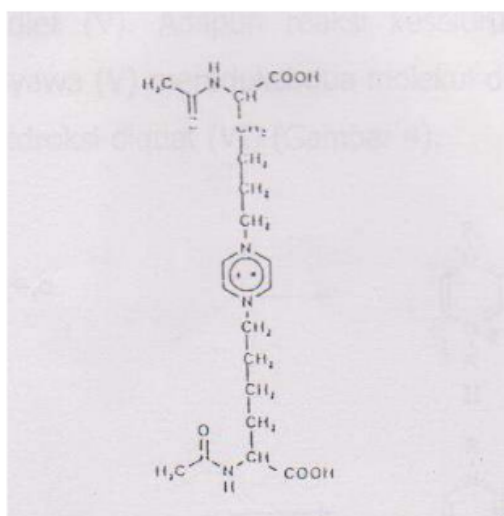
Prekursor warna yang paling efektif tersebut kemudian dianalisis pembentukan radikal bebasnya. Ternyata glikoaldehida yang paling intens membentuk radikal bebas. Hayashi *et al.* (1997) mengidentifikasi radikal bebas yang terbentuk yaitu radikal kation 1,4-bis (1-carboxy-1-ethyl) pirazynium (Gambar 2.6). Radikal kation ini juga terbentuk pada prekursor warna N-(1-deoksi-D-fruktos-1-il)-L-alanin atau glioksal. Walaupun radikal terbentuk lebih rendah dibandingkan pada glikoaldehida. Padahal furan-2-karboksaldehida merupakan prekursor warna yang efektif. Hal ini diduga bahwa pembentukan warna pada reaksi Maillard lanjut yang berasal di

intermediet, seperti furan- atau pirol-2-karboksaldehida melewati mekanisme ionik, sedangkan reaksi pencoklatan pada glikoaldehida diduga dihubungkan dengan radikal intermediet.



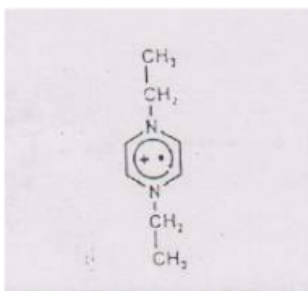
Gambar 2.6 Struktur radikal kation 1,4-bis(1-carboxy-1-ethyl)pyrazinium

Selain asam amino alanin, lisin juga dapat membentuk radikal bebas kation. Pemanasan campuran N-asetil-L-lisin dengan glukosa atau glikoaldehida, maka akan terbentuk senyawa berwarna coklat yang diidentifikasi sebagai radikal kation 1,4-bis(acetylamino-5-carboxy-1-pentyl)pyrazinium (Gambar 2.7)



Gambar 2.7 Struktur radikal kation 1,4-bis(acetylamino-5-carboxy-1-pentyl)pyrazinium

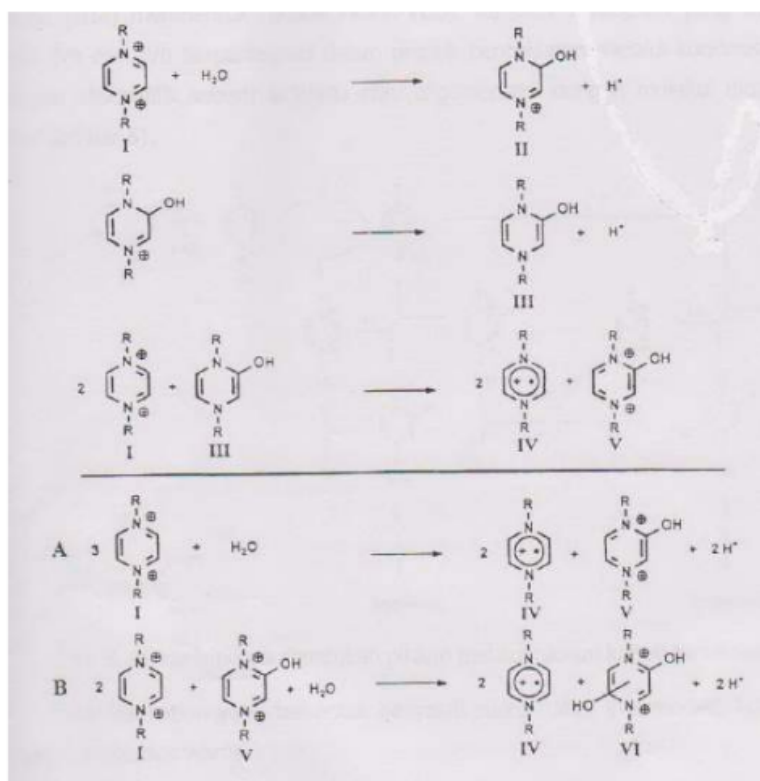
Mekanisme pembentukan radikal bebas pada reaksi Maillard diawali dengan pendapat Namiki dan Hayashi (1988) yang mendeteksi radikal kation 1,4-dialkilpirazinium yang dibentuk pada reaksi intermediat. Apabila produk tersebut teroksidasi satu elektron, maka menjadi 1,4-dialkilpirazinium dikuarterner garam (diquat), maka dapat menjadi prekursor warna. Adapun Hofmann (1999) menggunakan radikal bebas 1,4-dietilpirazinium sebagai prekursor warna (Gambar 2.8).



Gambar 2.8. Struktur radikal kation 1,4-diethylpirazinium

Mekanisme pembentukan radikal kation 1,4-dietilpirazinium adalah hidrasi diquat 1,4-dietilpirazinium (I) menjadi kation 1,4-dialkil-2-hidroksipirazinium (II) sebagai intermediat awal. Pelepasan proton membentuk 1,4-dialkil-2-hidroksi-1,4-dihidropirazin (III). Intermediat ini tereduksi dan bereaksi melalui pemindahanelektron tunggal dengan dua molekul diquat membentuk dua molekul radikal kation 1,4-dialkilpirazinium (IV) dan 1,4-dialkil-2-hidroksipirazinium (V).

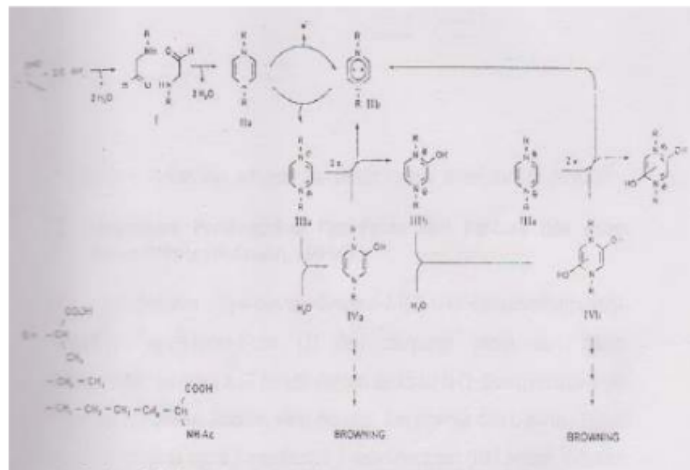
Reaksi keseluruhannya adalah A, yaitu 1/3 diquat asli (1) membentuk intermediat (V). Adapun reaksi keseluruhan B, setelah terjadi penambahan air, senyawa (V) mereduksi dua molekul diquat (I) dan teroksidasi sendiri membentuk hidroksi diquat (VI) (gambar 2.9)



Gambar 2.9 Mekanisme Pembentukan radikal kation 1,4-dialkilpirazinium

Senyawa hidroksipirazin yang terbentuk melalui intermediet diquat dikonfirmasi dengan mereaksikan glikoaldehid dan etilamin. Dua molekul alkilaminoasetaldehid (I) – yang dibentuk dari glikoaldehid dan amino – dikondensasi membentuk 1,4-dialkil-1,4-dihidropirazin (IIa). Apabila (IIa) teroksidasi, maka akan terbentuk radikal kation 1,4-dialkil-pirazinium (IIb). Ketidakproporsionalan radikal kation pirazinium mengakibatkan terbentuknya 1,4-dialkilpirazinium diquarterner garam (IIIa) dan dihidropirazin (IIa). Hidrasi yang cepat dari diquat (IIIa) membentuk 2-hidroksi-1,4-dialkil-1,4-dihidropirazin (IVa).

Reduksi dua molekul diquat (IIIa) menghasilkan dihidroksi-1,4-dihidropirazin (IVb).



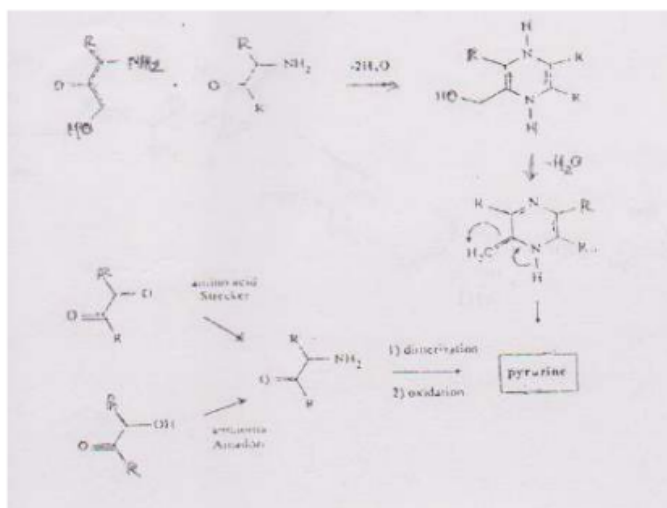
Gambar 2.10 Mekanisme pembentukan pirazin melalui radikal kation pirazinium

Transfer elektron tunggal pada dua molekul diquat (IIIa) membentuk radikal kation (IIb). Karakter nukleofilik yang kuat pada IVa dan IVb berpartisipasi dalam produk pencoklatan melalui kondensasi dengan elektrofilik seperti aldehida atau oligomerisasi dengan molekul diquat lain (Gambar 2.10). Radikal kation yang terbentuk hanyalah suatu reaksi intermediat, bukan sebagai prekursor warna.

b. Mekanisme Pembentukan Pirazin melalui Proses Dimerisasi dan Dehidrasi (Yaylayan *et al.*, 2000)

Pirazin dapat dibentuk dengan dimerisasi α -aminokarbonil dan diikuti dengan oksidasi. Apabila reaktannya adalah α -amino- α' -hidroksil, maka dilakukan dehidrasi untuk menghasilkan pirazin (Gambar 2.11).

Alpha-amino karbonil dibentuk melalui degradasi Strecker atau Amadori Rearrangement suatu senyawa α -hidroksikarbonil dengan ammonia.

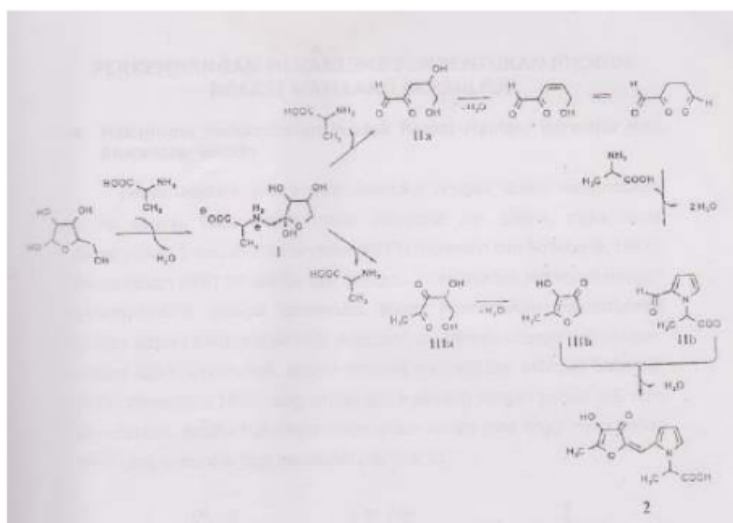


Gambar 2.11 Mekanisme pembentukan pirazin melalui dimerisasi dan dehidrasi

c. Mekanisme Pembentukan Pirol-Furan dari Pentosa dan Asam Amino Primer (Hofmann, 1998d)

6

Pembentukan(S)-4-hydroxy-5-methyl-2-[(E)-N-(1'-arboxyethyl)pyrrolyl-2-methylidene]-2H-furan-3-one (2) dari campuran xilosa dan alanin. Pembentukan senyawa 2 ini dimulai dengan dehidrasi N-(1-deoxypentulos-1-yl)-L-alanine (I), produk Amadori yang dibentuk dari pentosa dan L-alanin. Terjadi perpindahan pada posisi 3 membentuk 3-deoksimpentosa (IIa) setelah hidrolisis. Dehidrasi IIa dan siklisasi dengan satu molekul alanin membentuk N-(1'-carboxyethyl)-2-formylpyrrole (IIb).



6

Gambar 2.12 Pembentukan senyawa 4-hidroksi-5-metil-2-[(E)-N-(1'-carboxyethyl)pyrrolyl-2-methylidene]-2H-furan-3-one

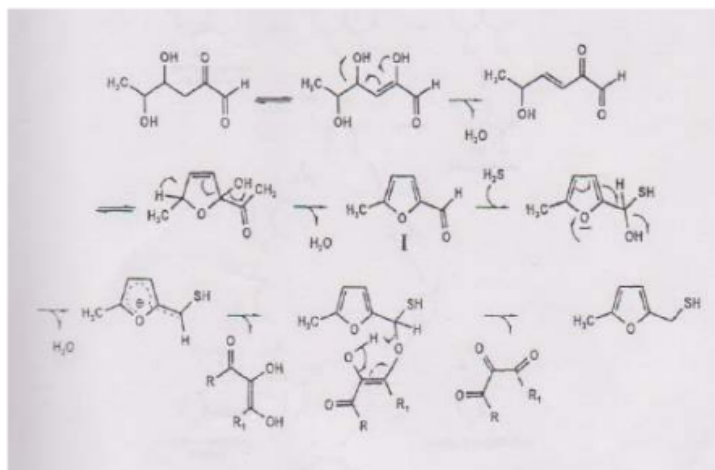
Deaminasi pada posisi satu produk Amadori Rearrangement (I) membentuk 4-hidroksi-5-metil-2H-furan-3-one (IIIb). Reaksi kondensasi antara intermediet metilen aktif (IIIb) dan aldehid (IIb) membentuk senyawa berwarna 2 (Gambar 2.12).

2.2.2 MEKANISME PEMBENTUKAN PRODUK REAKSI MAILLARD BERSULFUR

a. Mekanisme Pembentukan Produk Reaksi Maillard Bersulfur dari Rhamnosa/Sistein

Reaksi Maillard antara gula pereduksi dengan sistein menghasilkan aroma daging. Pada sistem model rhamnosa dan sistein, maka dapat menghasilkan 5-methyl-2-furfurylthiol (MFFT) (Hofmann dan Schieberle, 1997). Pembentukan MFFT ini dimulai dari dehidrasi 3-desoksioson rhamnosa menjadi 5-methylfurfural sebagai intermediet

kunci. Pembentukan thiohemiasetal dengan adanya penambahan H_2S , pelepasan air, dibantu dengan ring oksigen, reduksi kation intermediet, seperti senyawa enol-oxo dan akhirnya terbentuk MFFT. Konsentrasi MFFT yang dihasilkan tergantung dengan jumlah H_2S yang ditambahkan. Apabila H_2S ditambahkan dalam jumlah yang tinggi maka jumlah MFFT yang terbentuk juga meningkat (Gambar 2.13)

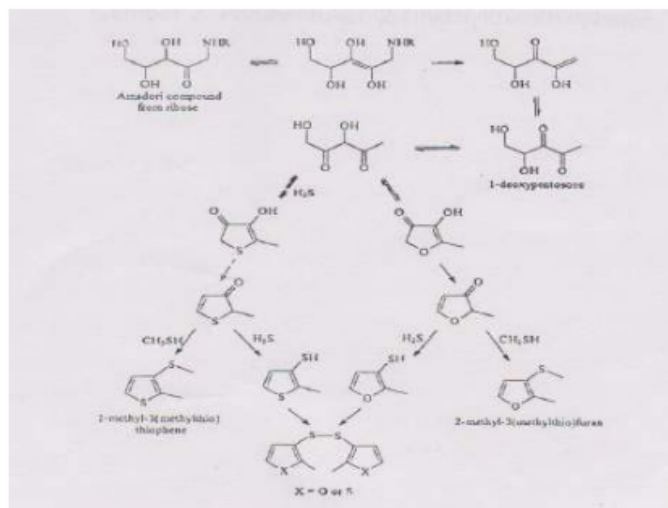


Gambar 2.13 Mekanisme pembentukan MFFT dari Rhamnosa dan H_2S

b. Mekanisme Pembentukan Furan, Thiopenethiol, Sulfida dan Disulfida pada Reaksi Maillard yang mengandung Sistein, Ribosa dan Fosfatidilkolin

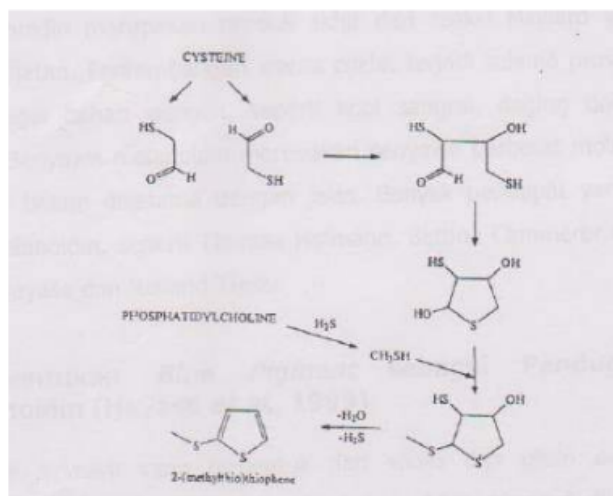
Ada tiga sulfida, 2-methyl-3-(methylthio)furan, 2(or3)-(methylthio)thiophene dan 2-methyl-3-(methylthio)thiophene yang teridentifikasi pada sistem sistein, ribosa, dan fosfolipid (Mottram dan Whitfield, 1995). Komponen-komponen ini tidak terdeteksi pada sistem yang tidak mengandung fosfolipid. 2-Methyl-(methylthio)furan merupakan aroma yang penting pada daging dan kopi. Pembentukan komponen-komponen tersebut melalui jalur 2,3-enolisasi dan dehidrasi produk Amadori ribosa membentuk 1-deoksisipentosa. Apabila terjadi dehidrasi pada 1-deoksisipentosa, maka membentuk methylhydroxyfuranone dan apabila terjadi penambahan H_2S , maka

terbentuk furanthiol (Gambar 2.15). Hidrogen sulfida dihasilkan dari hidrolisis atau degradasi Strecker sistein. Apabila terjadi pertukaran oksigen dengan sulfur pada ring heterosiklik, maka terbentuk 2-methyl-3-thiophenethiol. Pembentukan metilsulfida karena adanya grup metilthio reaktif, seperti methanethiol (Gambar 2.15). Disulfida dapat dibentuk ketika fosfotidilkolin atau kolin dipanaskan dengan H_2S .



Gambar 2.15 Mekanisme pembentukan furan, thiophenethiol, sulfida dan disulfide

Komponen 2- dan 3- (methylthio)thiophene dibentuk selama degradasi sistein dengan kondensasi 2 molekul merkaptaldehyd dan bereaksi dengan H_2S . Terjadi dehidrasi lagi dan pelepasan H_2S . Akhirnya terbentuk komponen 2- (methylthio)thiophene (gambar 2.15)



Gambar 2.15 Pembentukan 2-(methylthio)thiophene

2.3 RANGKUMAN

Pada dasarnya reaksi Maillard dibagi menjadi tiga tahap: tahap awal, intermediet dan tahap akhir. Pada tahap awal terjadi pembentukan glikosilamin N-tersubstitusi dan penyusunan ulang (rearrangement) glikosilamin. Pada tahap intermediet (tahap antara) berlangsung reaksi dehidrasi membentuk furfural ($-3\text{H}_2\text{O}$) atau membentuk redukton ($-2\text{H}_2\text{O}$); terjadi fisi yang melibatkan interaksi asam amino dengan senyawa-senyawa dikarbonil baik dehidroreduktan maupun produk-produk fisi, dehidroreduktan atau aldehyd Strecker menjadi produk-produk berberat molekul tinggi (melanoidin) melalui interaksinya dengan senyawa amin.

Mekanisme Pembentukan Produk Reaksi Maillard Non Sulfur dapat berupa pembentukan pirazin dari Intermediet, pembentukan pirazin melalui proses dimerisasi dan dehidrasi serta pembentukan pirol-furan dari pentosa dan Asam Amino Primer. Sedangkan mekanisme pembentukan produk reaksi Maillard bersulfur dapat melalui pembentukan produk reaksi Maillard bersulfur dari Rhamnosa/Sistein, pembentukan Furan, Thiopenethiol, Sulfida dan

Disulfida pada Reaksi Maillard yang mengandung Sistein, Ribosa dan Fosfotidilkolin

2.4 LATIHAN SOAL

1. Jelaskan tahapan-tahapan dalam reaksi Maillard? Apa saja senyawa yang terbentuk?
2. Apa yang dimaksud dengan Amadori Rearrangement Product (ARP)? Apa saja produk yang dihasilkan?
3. Apa yang dimaksud dengan Heyns Rearrangement Product (HRP)? Dan produk apa saja yang dihasilkan?
4. Jelaskan empat jalur dari tahap intermediet reaksi Maillard? Jelaskan masing-masing.
5. Senyawa enaminol dihasilkan pada tahap apa dalam reaksi Maillard? Apa perannya dalam pembentukan senyawa melanodin?

2.5 UMPAN BALIK DAN TINDAK LANJUT

Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan II.

$$\text{Rumus: } \frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$$

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan pada bab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.



PERAN PEPTIDA, PROTEIN, LEMAK DAN OLIGOSAKARIDA DALAM REAKSI MAILLARD

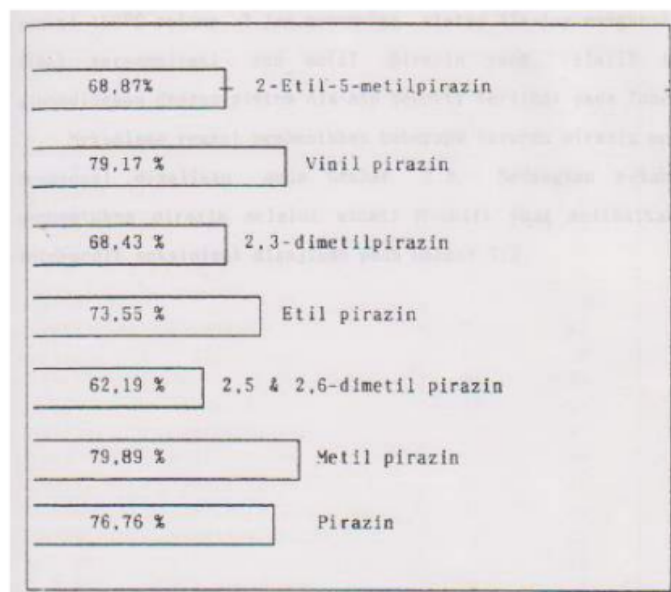
3.1 PEPTIDA

Keterlibatan peptida dalam reaksi Maillard dapat dipelajari melalui penggunaan senyawa peptida yang asam aminonya dapat menghasilkan amoniak dalam proses pemanasan atau pada hidrolitik deamidasi. Asam amino yang diketahui dapat berperan seperti itu adalah asam asparagin (asp) dan asam glutamin (Gln). Kedua jenis asam amino tersebut dapat mengalami deamidasi non enzimatik baik dalam bentuk bebas maupun dalam bentuk terikat sebagai peptida atau protein (Wright, 1991). Deamidasi asam glutamin menghasilkan asam glutamat, sedangkan deamidasi asam asparagin menghasilkan asam aspartat.

Deamidasi dapat terjadi melalui satu atau dua mekanisme. Mekanisme pertama melalui hidrolisis langsung ikatan amida dimana asam atau basa bertindak sebagai katalis. Mekanisme kedua, yang dikenal sebagai β -shift melibatkan pembentukan intermediet suksinimat. Terdapat beberapa faktor berpengaruh terhadap laju dan mekanisme reaksi seperti pH, aktivitas air, sekuen asam amino dalam protein, ketersediaan ion dan katalis non ionik.

Deamidasi pada residu asam amino peptida maupun protein akan melepaskan molekul amoniak yang dapat bereaksi dengan gula pereduksi membentuk senyawa-senyawa pirazin. Keterlibatan amoniak

dalam reaksi Millard dipelajari melalui cara penandaan, yakni penggunaan asam amino glutamin atau asparagin yang salah satu amidanya menggunakan ^{15}N (Amida- ^{15}N). Senyawa-senyawa pirazin bertanda (^{15}N) yang terbentuk dari reaksi antara asam glutamin- ^{15}N (amida- ^{15}N) dengan glukosa pada suhu reaksi (suhu pemanasan) 180°C , ditemukan lebih dari 50% (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Kontribusi relatif Amida Nitrogen terhadap pembentukan Pirazin dalam reaksi Glutamin bertanda dengan Glukosa

Hal yang sama juga ditemukan melalui penggunaan asparagin bertanda dalam sistem asparagin/glukosa. Keadaan tersebut memberi gambaran nitrogen amida relatif lebih reaktif dalam pembentukan pirazin dibandingkan dengan nitrogen pada posisi alfa amino.

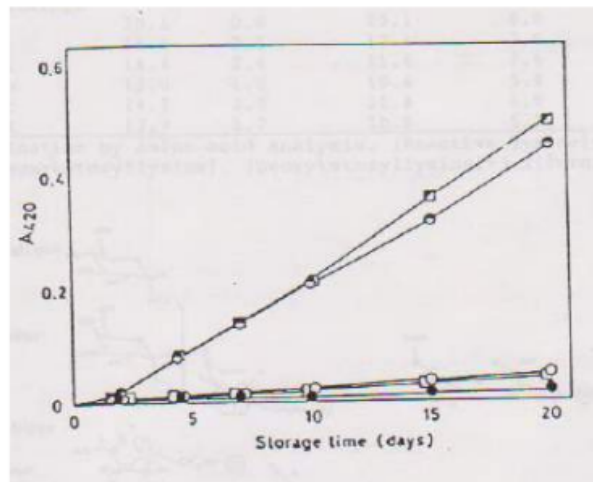
Tabel 3.1. Konsentrasi Pirazin teridentifikasi dalam system Ala-Asn/glukosa dan Ala—Asp/glukosa

Pirazine	ppm	
	Ala-Asn/ glukos	Ala-Asp/ lukosa
Pirazine	168	21
Metilpirazine	2241	878
2,5-dimetilpirazine	1189	1180
Etilpirazin	36	23
2,3-dimetilpirazine	36	34
Vinilpirazine	2	3
2-etil-6-metilpirazine	35	25
2-etil-5-metilpirazine	14	9
Trimetilpirazine	30	36
2-Vinil-6-metilpirazine	45	36
3-etil-2,5-dimetilpirazine	23	1747
2-etil-3,5-dimetilpirazine	14	39
2-metil-6-(1-propenil)pirazine	30	60
5,6-dimetil-2-vinilpirazine	18	54
5-n-butil-2,3-dimetilpirazine	9	68
3-(1-metilpropil)-2,5-dimetilpirazine	7	442
3-(2-metilpropil)-2,5-dimetilpirazine	57	362
2-hidroksietil-5-metilpirazine	128	117
2-hidroksietil-5,6-dimetilpirazine	10	11
2-hidroksietil-3,5,6-trimetilpirazine	11	58
Total	4103	5203

Ho *et al.*, (1994) mempelajari keterlibatan peptida dalam reaksi Maillard menggunakan sistem glukosa/Ala-Asn dan glukosa/ ala-Asp pada suhu reaksi 180⁰ C selama 2 jam Dari hasil penelitian ini didapatkan sistem Ala-Asp menghasilkan pirazin tidak tersubstitusi dan metil pirazin yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan sistem Ala-Asp seperti terlihat pada Tabel 3.1. Mekanisme reaksi pembentukan beberapa turunan pirazin melalui asumsi deamidasi, sedangkan mekanisme reaksi pembentukan pirazin melalui asumsi β -shift yang melibatkan pembentukan intermediat suksinimat.

3.2 PROTEIN

Keterlibatan protein dalam reaksi Maillard telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Laju reaksi pembentukan basa Schiff pada berbagai jenis gula dengan protein bergantung pada tingkat pembentukan karbonil. Reaksi antara ovalbumin dengan beberapa jenis disakarida (maltosa, isomaltosa, selobiosa, melobiosa dan laktosa) teramati melalui pengukuran warna coklat terbentuk dan polimerisasi protein dalam bentuk padat seperti terlihat pada Gambar 3.2. Peningkatan warna coklat teramati melalui pengukuran pada panjang gelombang 420 nm. Polimerisasi protein terdeteksi melalui cara analisis menggunakan SDS-PAGE



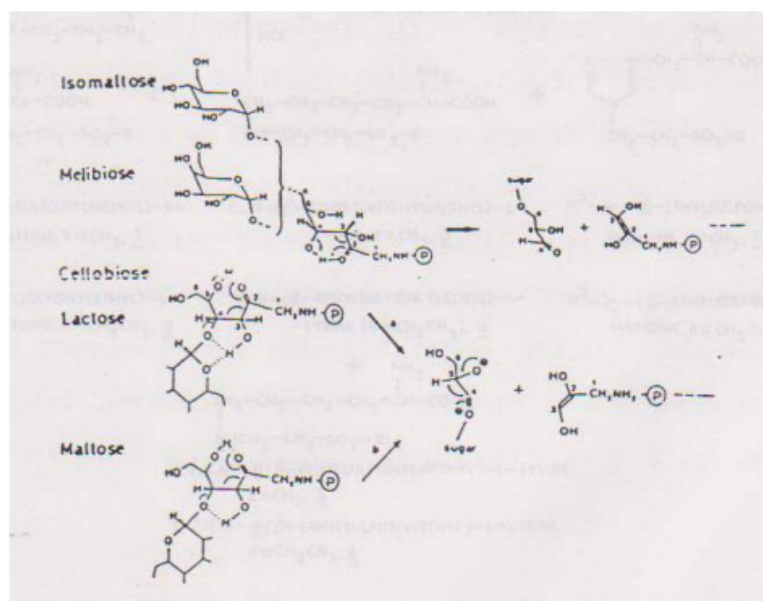
Gambar 3.2 Pengembangan Warna Coklat pada penyimpanan ovalbumin dengan maltose (o), selobiosa (.), isomaltosa (*), laktosa (-) dan melobiosa (:) selama 20 hari.

Pengamatan terhadap residu lisin protein pada penyusunan ulang Amadori menunjukkan lisin reaktif relatif lebih kecil dengan adanya gula dibandingkan tanpa gula seperti terlihat pada Tabel 3.2. Reaksi degradasi ARP yang terbentuk dari protein-disakarida diasumsikan mengikuti mekanisme yang tersaji pada Gambar 3.2.

Tabel 3.2 Evaluasi lisin reaktif dan deoksiketosilisin dalam reaksi ovalbumin- disakarida setelah proses hidrolisis

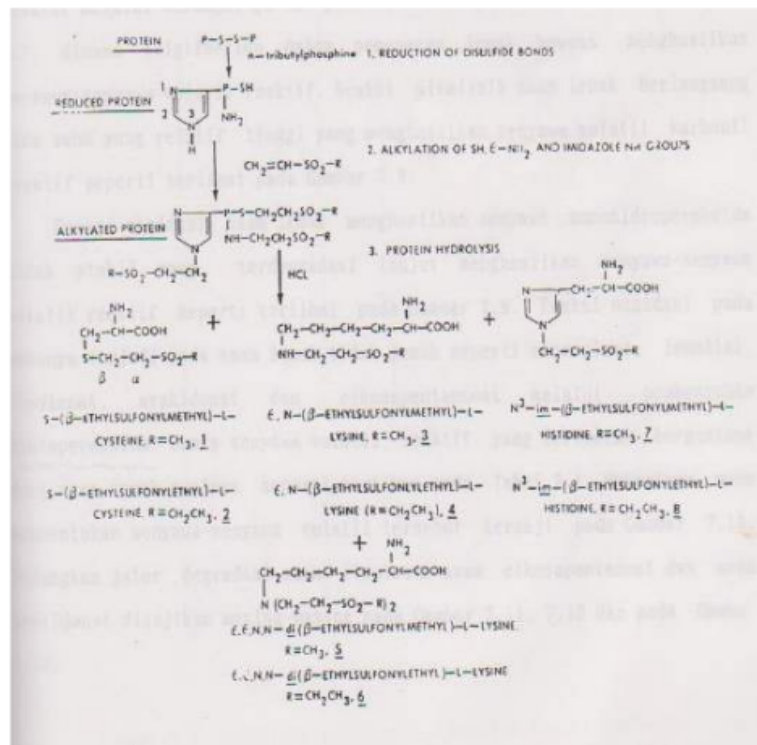
	lysine*	furosine*	reactive lysine (A)	(mol/mol protein) deoxyketosyl lysine (B)	A+B
7-day storage					
OVA	19.8	0.0	19.8	0.0	19.8
OVA-mal	16.4	1.7	14.2	5.4	19.6
OVA-cel	15.5	1.8	13.3	5.6	18.9
OVA-iso	13.2	1.7	11.2	5.1	16.3
OVA-lac	14.9	1.9	12.6	5.8	18.4
OVA-mel	12.9	1.8	10.7	5.6	16.3
15-day storage					
OVA	20.1	0.0	20.1	0.0	20.1
OVA-mal	15.4	2.5	12.4	7.6	19.9
OVA-cel	14.4	2.4	11.4	7.4	18.8
OVA-iso	13.0	1.9	10.6	5.9	16.5
OVA-lac	14.1	2.2	11.8	6.9	18.7
OVA-mel	12.9	1.7	10.8	5.2	16.0

*Determination by amino acid analysis. [Reactive lysine]=[lysine]-0.4[deoxyketosyllsine]. [Deoxyketosyllsine]=3.1[furosine].



Gambar 3.3. Asumsi Reaksi Degradasi ARP yang terbentuk dari protein-disakarida

Adisi glukosa terhadap gugus amino alfa dan epsilon protein terjadi melalui pengikatan ketoamin. Glikation protein diawali dengan pembentukan basa Schiff yang reversibel (aldimin) dari aldosa dengan gugus amino protein. Aldimin selanjutnya mengalami reductive glycation seperti terlihat pada Gambar 3.4. ARP yang terbentuk sering disebut sebagai protein teralkilasi yang dengan serangkaian reaksi akan menghasilkan produk akhir berwarna coklat



Gambar 3.4. Skema reduktif dan nonreduktif alkilasi protein dengan aldosa

3.3 LIPIDA

Keterlibatan lemak dalam reaksi Maillard pada hakikatnya bukanlah lemak utuh, akan tetapi produk degradasi lipida yang bereaksi dengan asam amino, peptida maupun protein menghasilkan

senyawa berwarna coklat atau produk-produk volatil seperti pirazin dan turunannya.

Degradasi lipida yang menghasilkan produk volatil reaktif dapat berlangsung melalui reaksi hidrolisis, pirolisis, dan reaksi oksidasi. Produk reaksi hidrolisis dapat mengalami perubahan menghasilkan senyawa reaktif melalui berbagai jenis jalur reaksi seperti terlihat pada Gambar 3.5, dimana trigeliserida dalam pemanasan lemak hewani menghasilkan senyawa-senyawa volatil reaktif. Reaksi pirolisis asam lemak berlangsung pada suhu yang relatif tinggi yang menghasilkan senyawa volatil karbonil reaktif seperti terlihat pada Gambar 3.6.

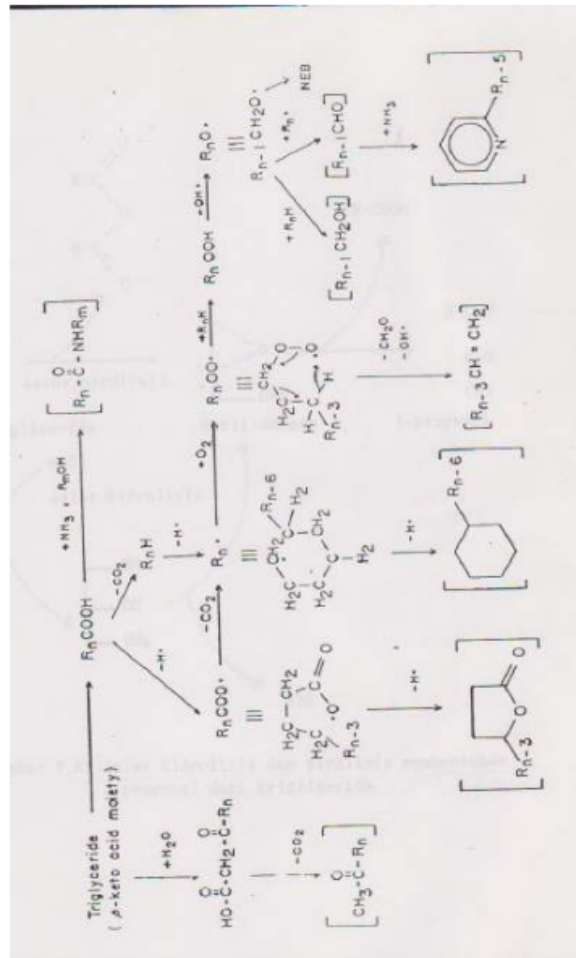
Reaksi oksidasi asam lemak menghasilkan senyawa monohidroperoksida tidak stabil yang terdegradasi lanjut menghasilkan senyawa-senyawa volatil reaktif seperti terlihat pada Gambar 3.7. Reaksi oksidasi pada umumnya terjadi pada asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat, linoleat, linolenat, arakidonat dan eikosapentanoat melalui pembentukan hidroperoksida. Jenis senyawa volatil reaktif yang terbentuk bergantung dari asam lemak asalnya seperti terlihat pada Tabel 3.3. Mekanisme umum pembentukan senyawa-senyawa volatil tersebut tersaji pada Gambar 3.8. Sedangkan jalur degradasi asam linoleat, asam eikosapentanoat dan asam arakidonat disajikan masing-masing pada Gambar 3.9, 3.10 dan pada Gambar 3.11.

Produk oksidasi senyawa volatil tidak jenuh seperti 2,4-dekadienal dan (E)2-oktenal dapat terdegradasi lanjut menghasilkan senyawa volatil yang lebih sederhana seperti terlihat pada Gambar 3.12 dan 3.13. Sedangkan produk volatil jenuh dapat teroksidasi lanjut menghasilkan senyawa lakton seperti terlihat pada Gambar 3.14.

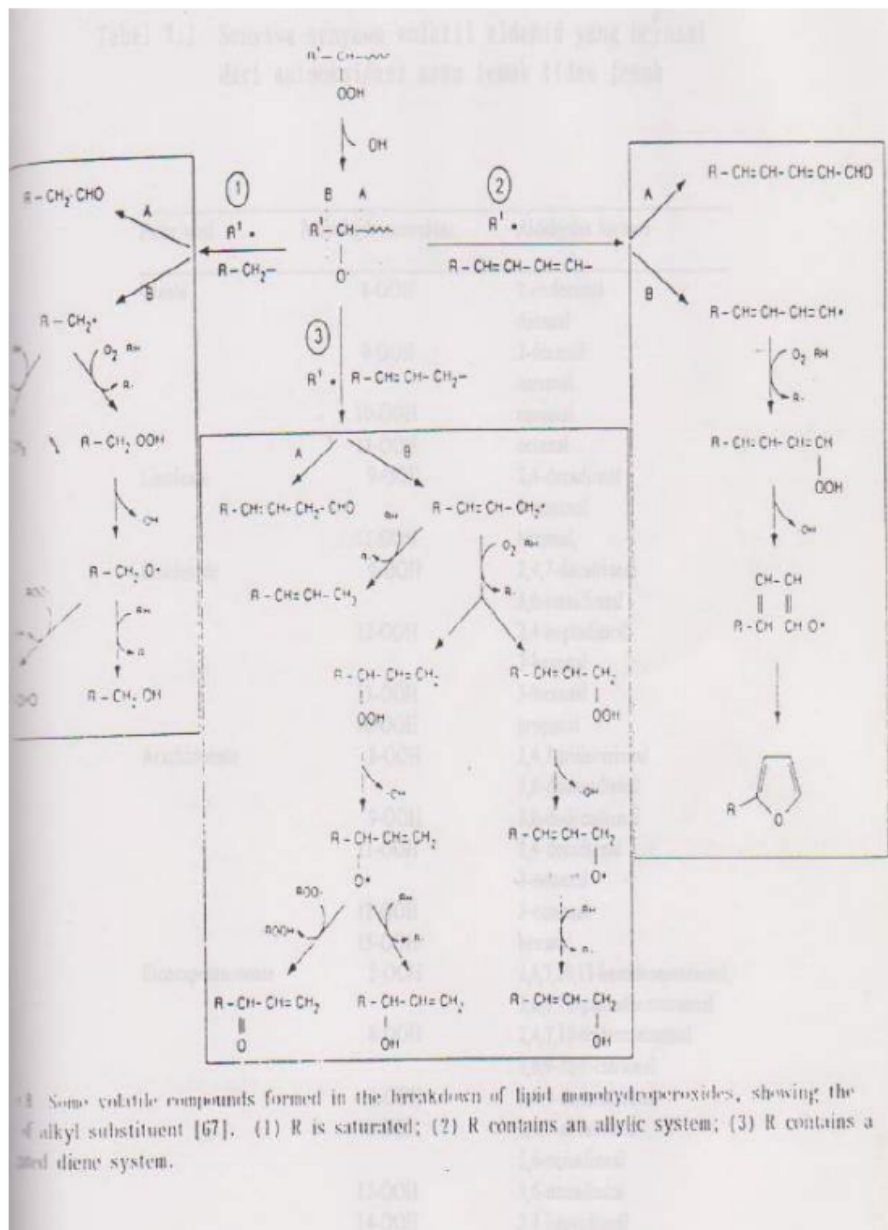
Selain terdegradasi dan teroksidasi lanjut, produk volatil lemak dapat bereaksi dengan asam amino atau produk degradasi asam amino maupun produk volatil reaksi Maillard lainnya menghasilkan senyawa-senyawa heterosiklik. Senyawa aldehyd produk degradasi lipid bila bereaksi dengan asam amino sulfur akan menghasilkan senyawa sulfur heterosiklik seperti terlihat pada Gambar 3.15. Demikian pula produk degradasi asam amino sulfur yang bereaksi dengan degradasi

lipid akan menghasilkan senyawa N dan S heterosiklik seperti terlihat pada Gambar 3.16; 3.17; 3.18 dan pada Gambar 3.19.

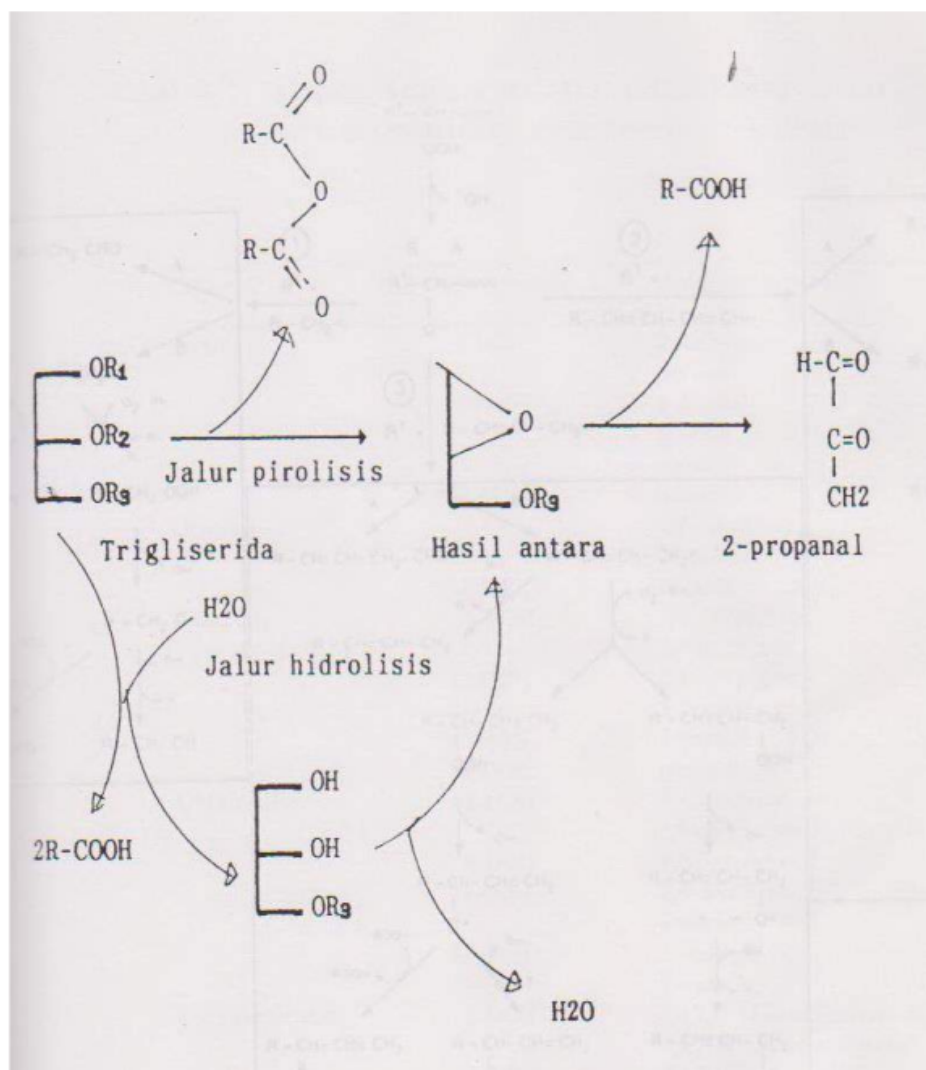
Selain senyawa heterosiklik, reaksi antara produk degradasi lipid dengan produk degradasi asam amino dapat menghasilkan senyawa non heterosiklik. Reaksi antara 2,4-dekadienal dengan asetaldehid (produk degradasi asam amino alanin) menghasilkan 2-pentilbenzaldehyd dengan mekanisme reaksi mengikuti jalur seperti terlihat pada Gambar 3.20



Gambar 3.5 Dugaan mekanisme reaksi pembentukan senyawa volatil dari pemanasan lemak hewani



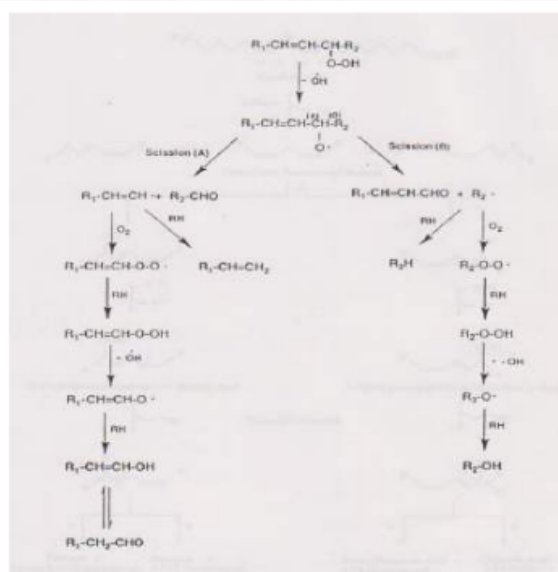
Gambar 3.6 Jalur hidrolisis dan pirolisis pembentukan 2-propanal dari trigliserida



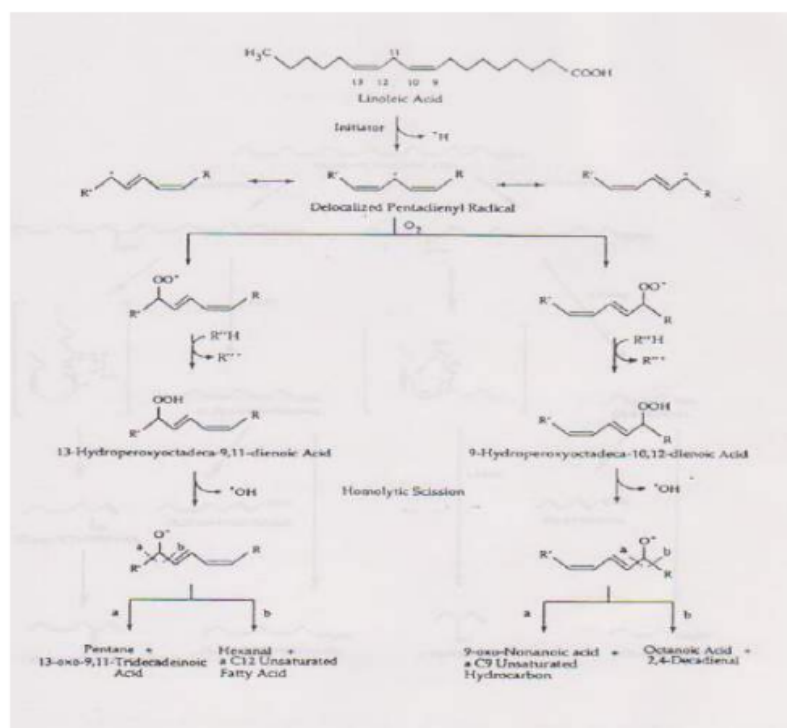
Gambar 3.7 jalur reaksi pembentukan senyawa volatile dari degradasi lipid monohidroperoksida

Tabel 3.3 Senyawa-senyawa volatil aldehyd yang berasal dari autooksidasi asam lemak tidak jenuh

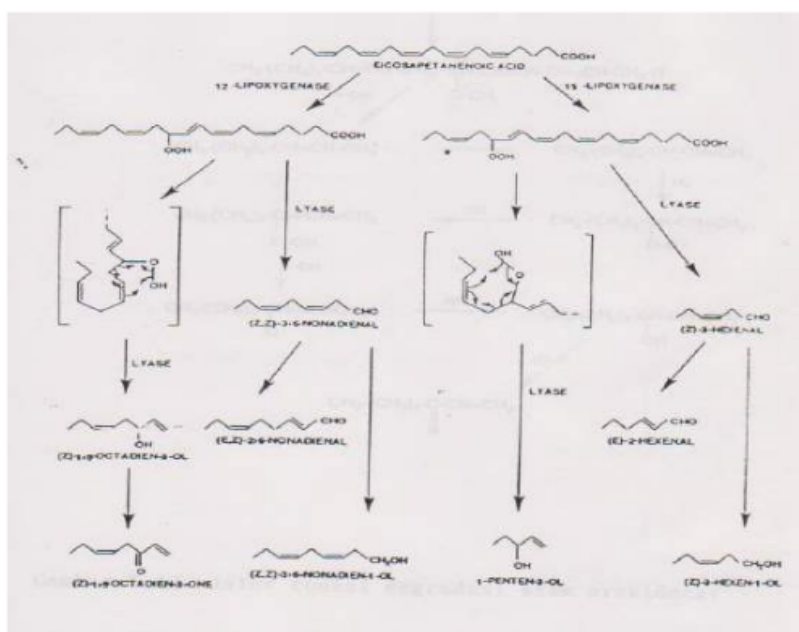
Fatty acid	Monohydroperoxides	Aldehydes formed
Oleate	8-OOH	2-undecenal
		decanal
	9-OOH	2-decenal
Linoleate	10-OOH	nonanal
	11-OOH	octanal
	9-OOH	2,4-decadienal
		3-nonenal
Linolenate	13-OOH	hexanal,
	9-OOH	2,4,7-decatrienal
		3,6-nonadienal
Arachidonate	12-OOH	2,4-heptadienal
		3-hexenal
	13-OOH	3-hexenal
	16-OOH	propanal
	8-OOH	2,4,7-tridecatrienal
		3,6-dodecadienal
Eicosapentaenoate	9-OOH	3,6-dodecadienal
	11-OOH	2,4-decadienal
		3-nonenal
	12-OOH	3-nonenal
	15-OOH	hexanal
	5-OOH	2,4,7,10,13-hexadecapentaenal,
		3,6,9,12-pentadecatetraenal
	8-OOH	2,4,7,10-tridecatetraenal
		3,6,9-dodecatrienal
	9-OOH	3,6,9-dodecatrienal
	11-OOH	2,4,7-decatrienal
		3,6-nonadienal
	12-OOH	3,6-nonadienal
	14-OOH	2,4-heptadienal
		3-hexenal
	15-OOH	3-hexenal
	18-OOH	propanal



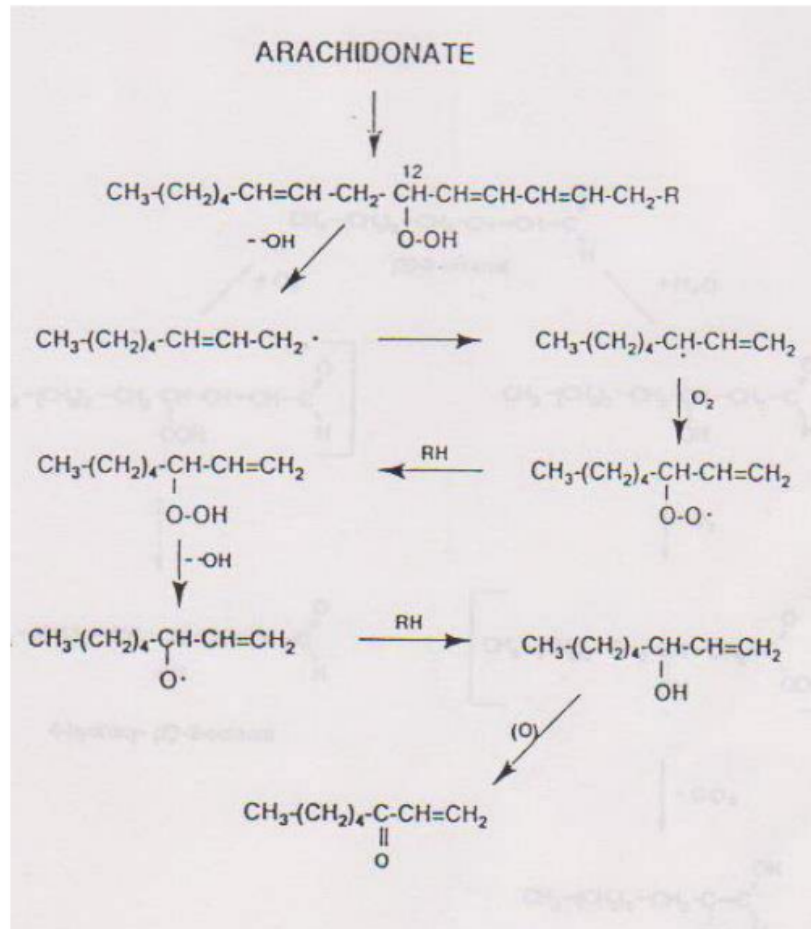
Gambar 3.8 Jalur reaksi umum degradasi hidroperoksida asam lemak tidak jenuh



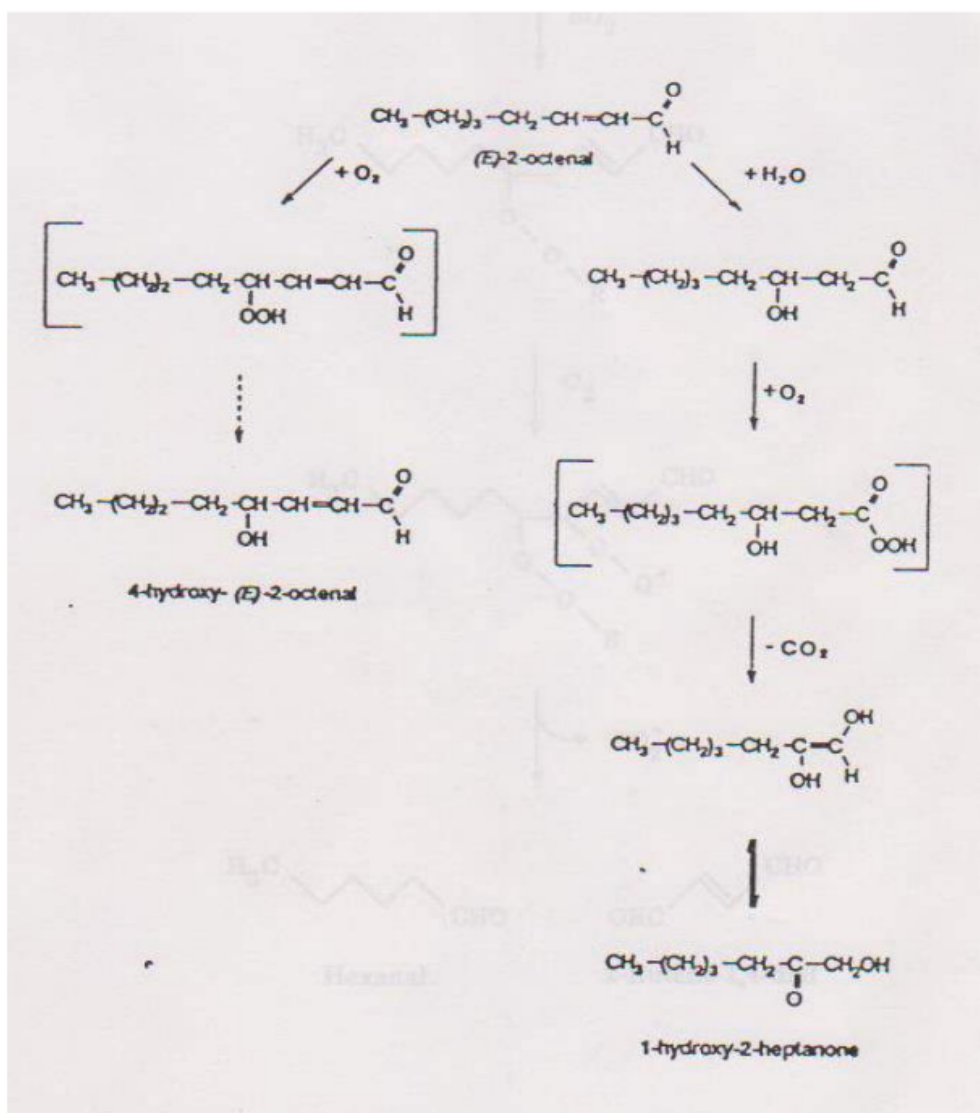
Gambar 3.9 Jalur reaksi autooksidasi asam linoleat



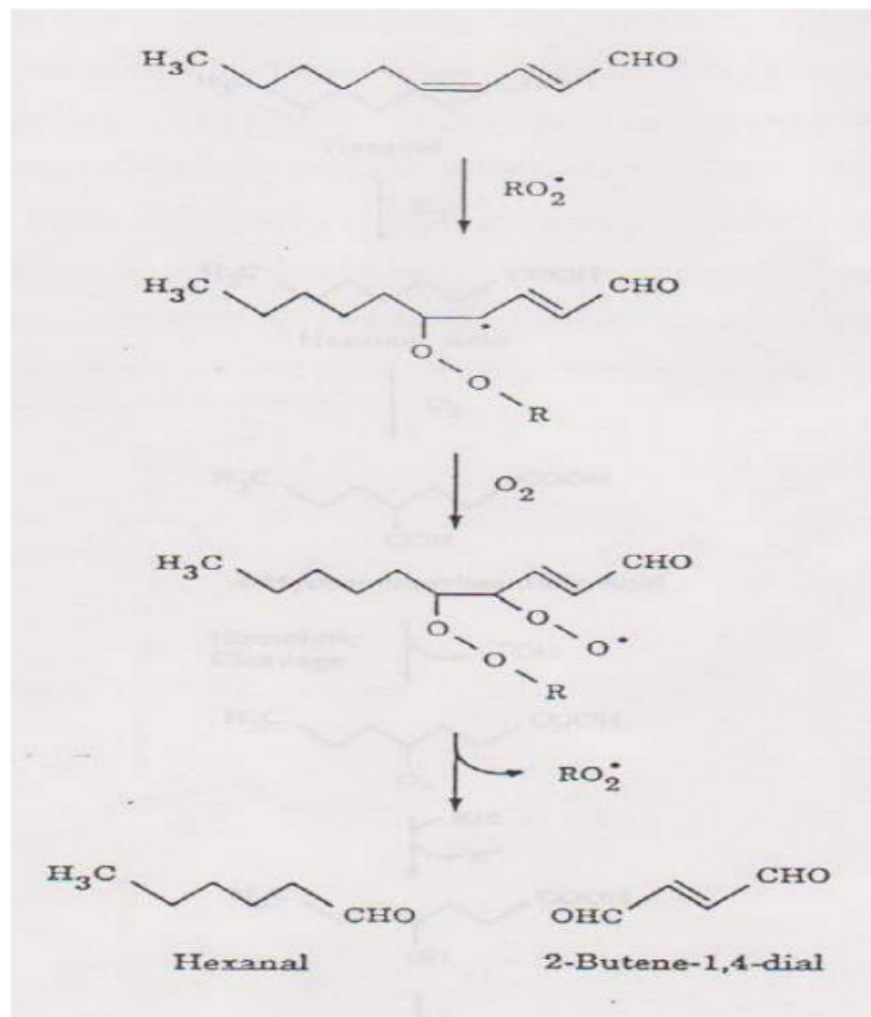
Gambar 3.10 Jalur degradasi asam eikosapentanenoat



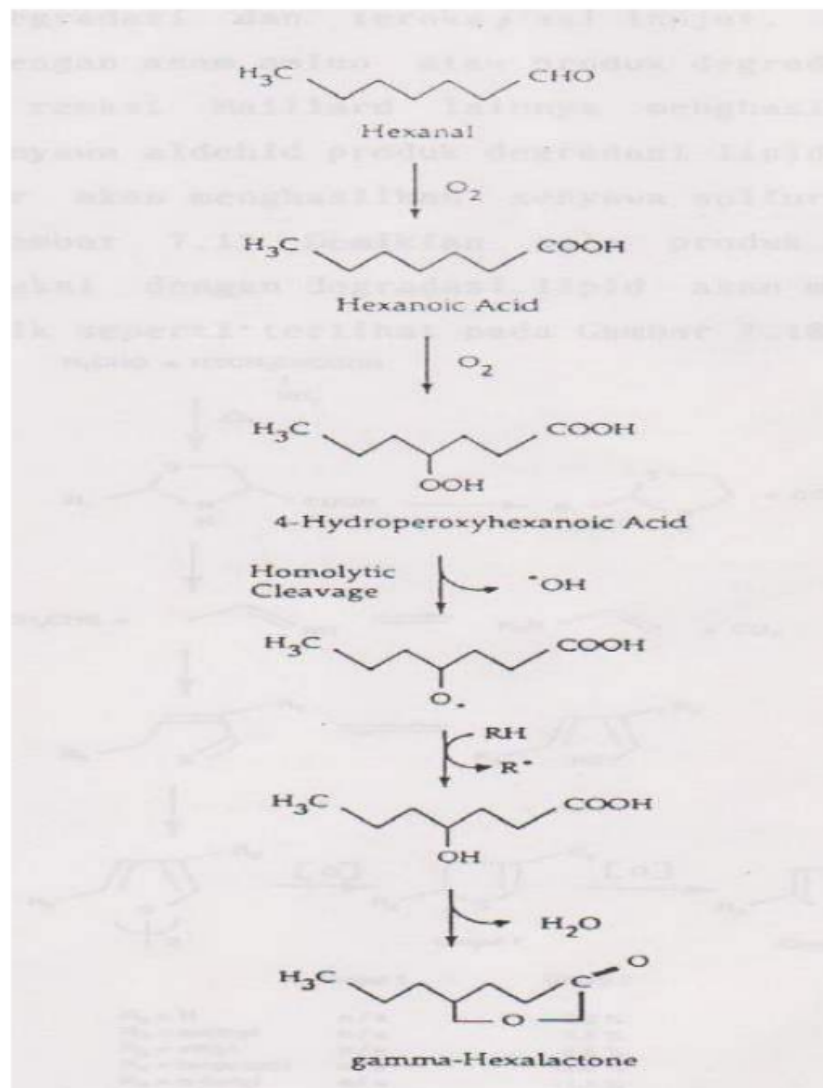
Gambar 3.11 Jalur reaksi degradasi asam arakidonat



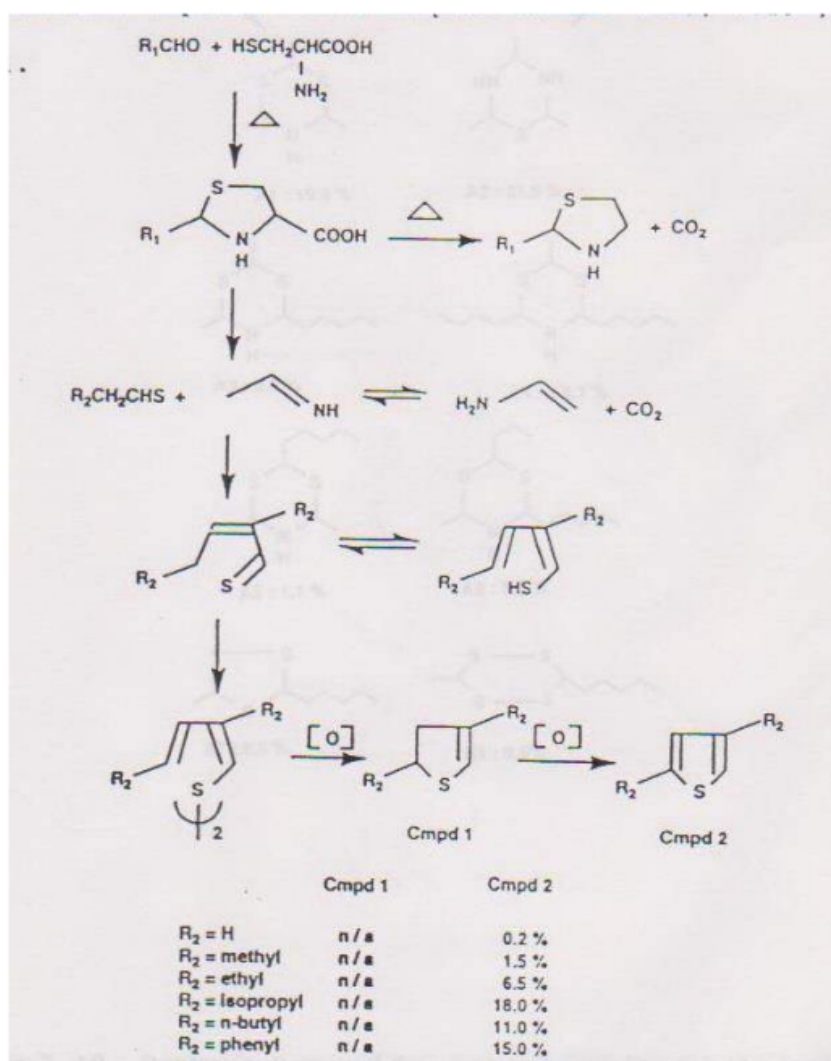
Gambar 3.12. Jalur reaksi degradasi (E) 2-oktenal



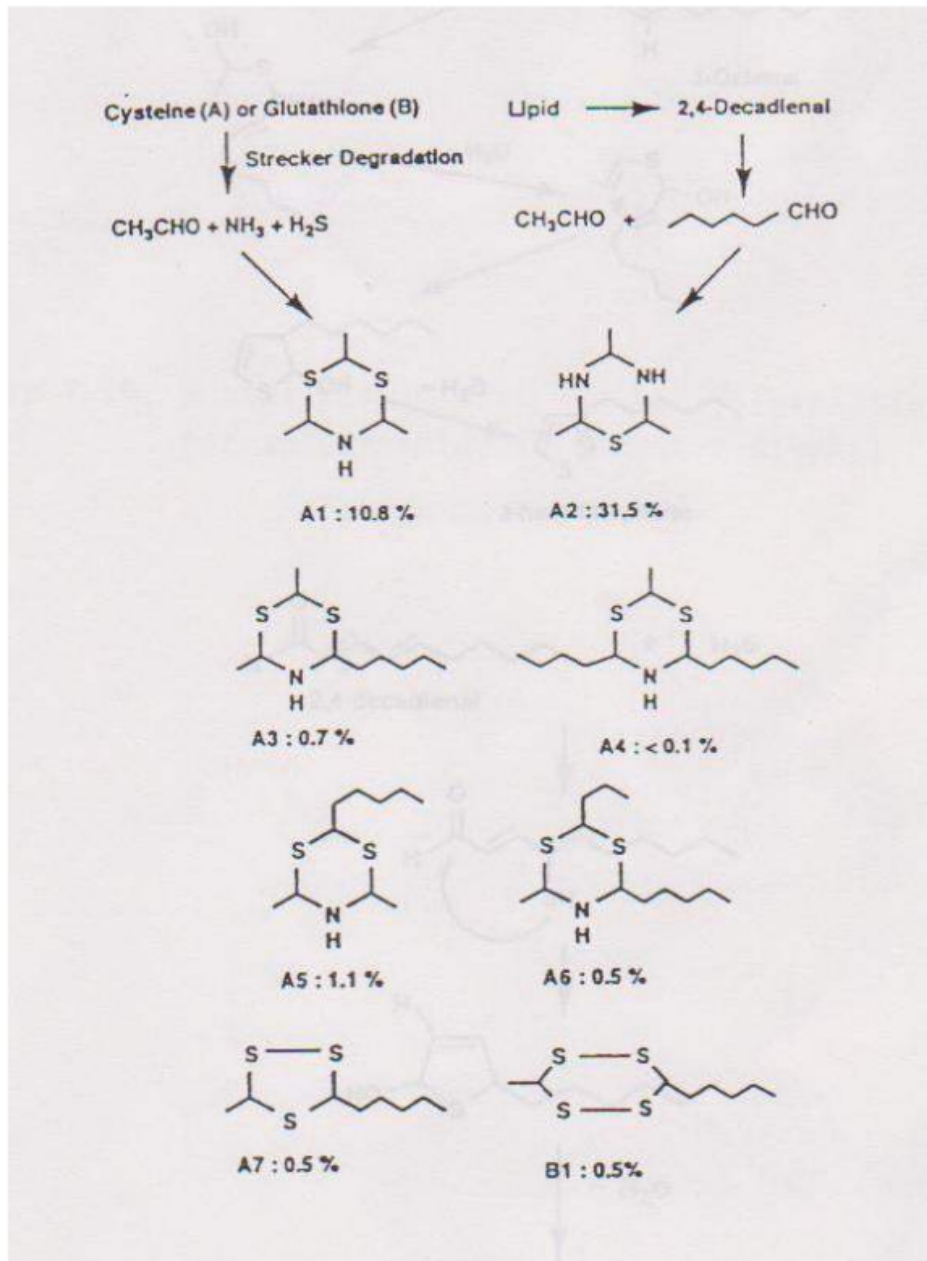
Gambar 3.13 jalur reaksi degradasi 2,4-dekadienal



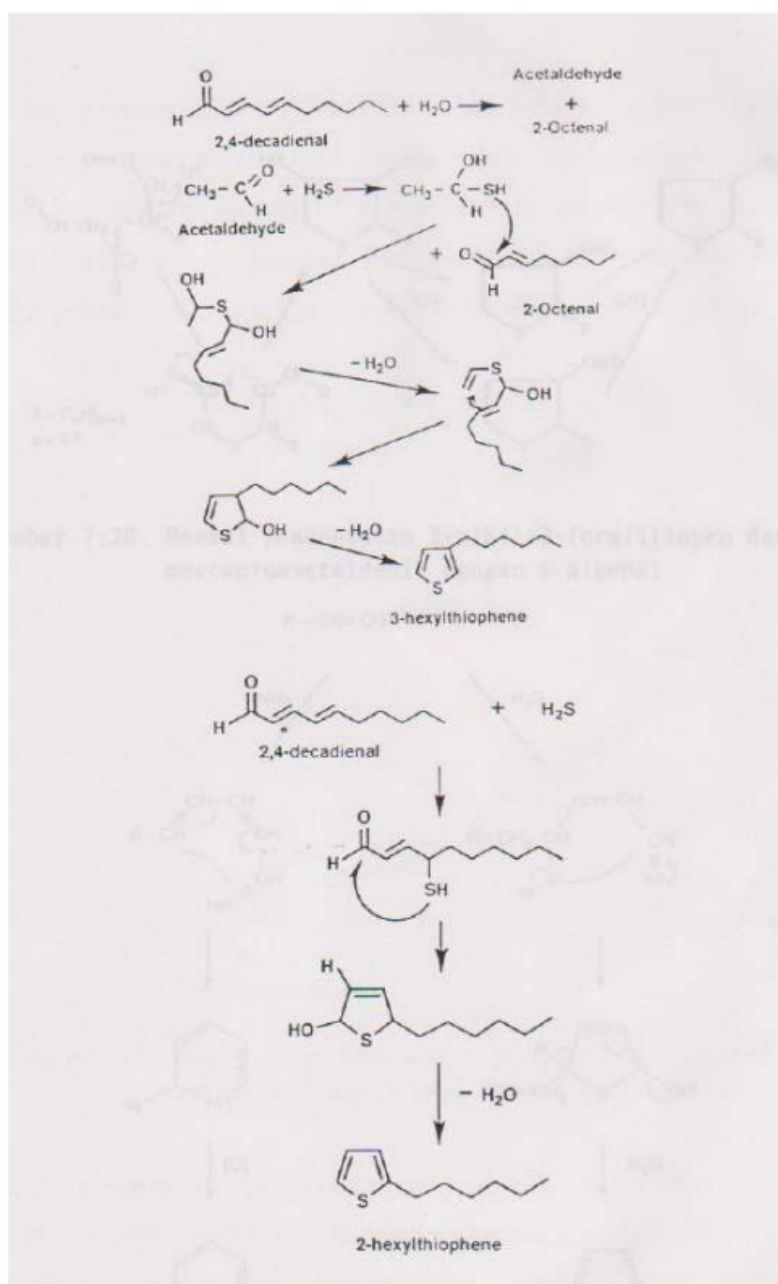
Gambar 3.14 Jalur reaksi pembentukan lakton dari heksanal



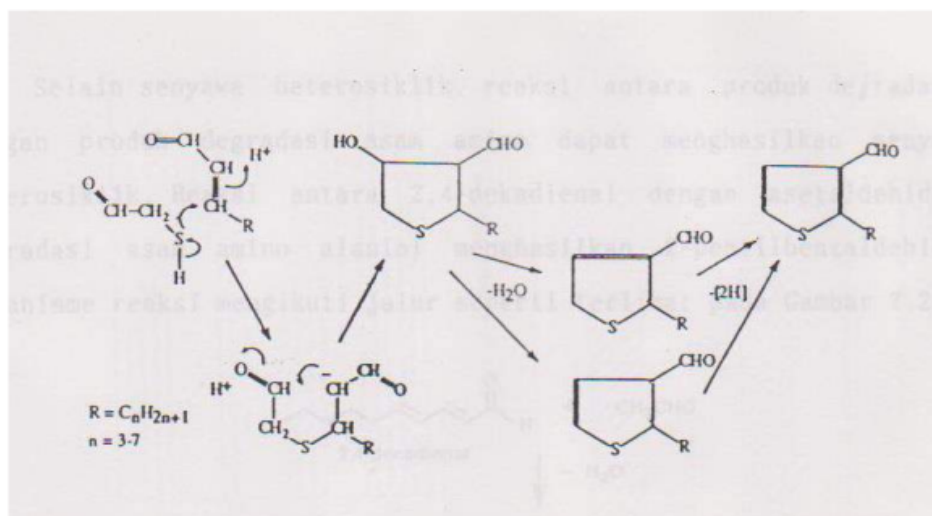
Gambar 3.15 Pembentukan 2,4-dialkiltiopen dari aldehid produk degradasi lipid



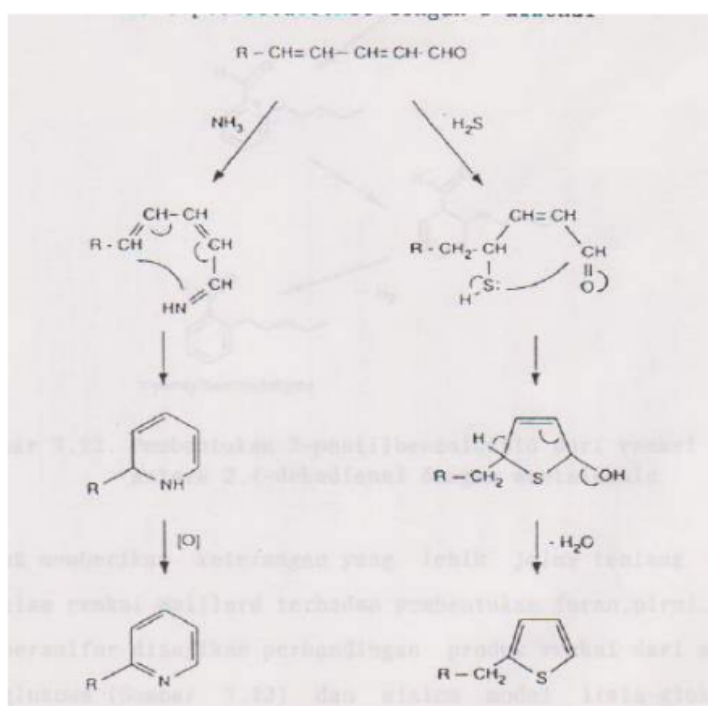
Gambar 3.16 Pembentukan sulfur rantai panjang heterosiklik



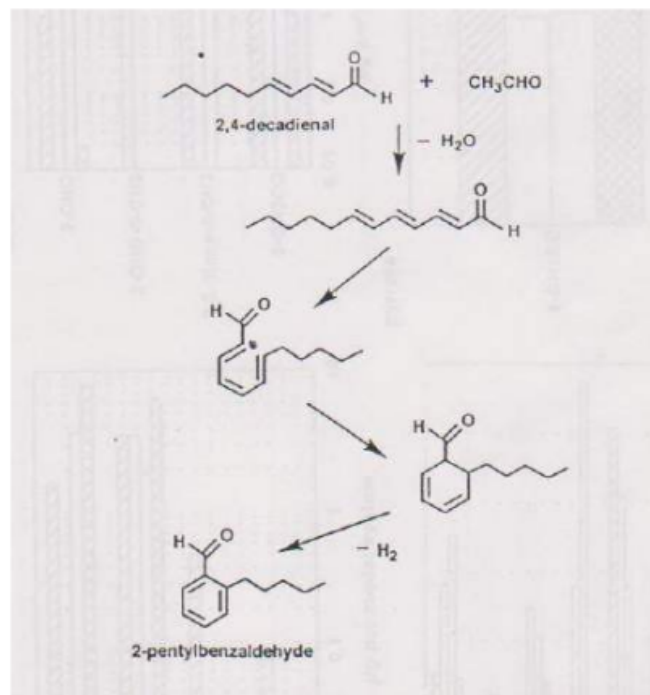
Gambar 3.17 Reaksi pembentukan 3-heksiltiopen dari interaksi 2,4-dekadial dengan H_2S



Gambar 3.18 Reaksi pembentukan 2-alkil-3-formiltiopen dari Mercaptoasetaldehid dengan 2-alkenal



Gambar 3.19 Pembentukan alkilpirazin dan alkiltiopen rantai panjang dari diena



Gambar 3.20 Pembentukan 2-pentilbenzalhid dari reaksi antara 2,4-dekadienal dengan asetaldehid

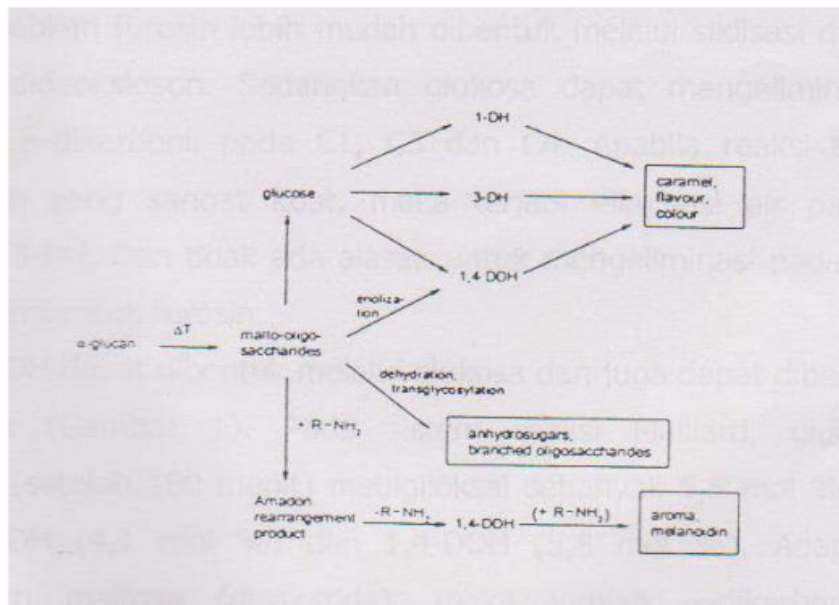
3.4 OLIGOSAKARIDA

Reaksi Maillard biasanya dijelaskan sebagai reaksi antara monosakarida dan asam amino pada larutan aqueous. Akan tetapi pada kenyataannya dalam sistem pangan juga mengandung oligosakarida atau polimer sakarida lainnya. Oleh karena itu perlu diketahui peran karbohidrat pada reaksi Maillard dalam pembentukan flavor dan warna.

Holnagel dan Kroh (2000) melakukan penelitian terhadap pembentukan α -dikarbonil sebagai intermediat kunci bagi karamelisasi dan reaksi Maillard. α -dikarbonil merupakan senyawa yang sangat reaktif dan dapat diperoleh melalui reaksi antara senyawa yang diperoleh dari pemecahan sakarida melalui pemanasan (100°C)

dengan berbagai derajat polimerisasi, dengan glisin yang ditangkap oleh O-pheylenediamine (OPD).

Ada beberapa senyawa intermediat α -dikarbonil diantaranya adalah 1-DH (1-deoksiheksulosa), 3-DH (3-deoksiheksulosa), 1,4DDH (1,4-dideoksiheksulosa), metilgliksal dan gliksal. α -dikarbonil ini dapat dibentuk dari maolto-oligosakarida pada reaksi Maillard dan karamelisasi (Gambar 3.21)



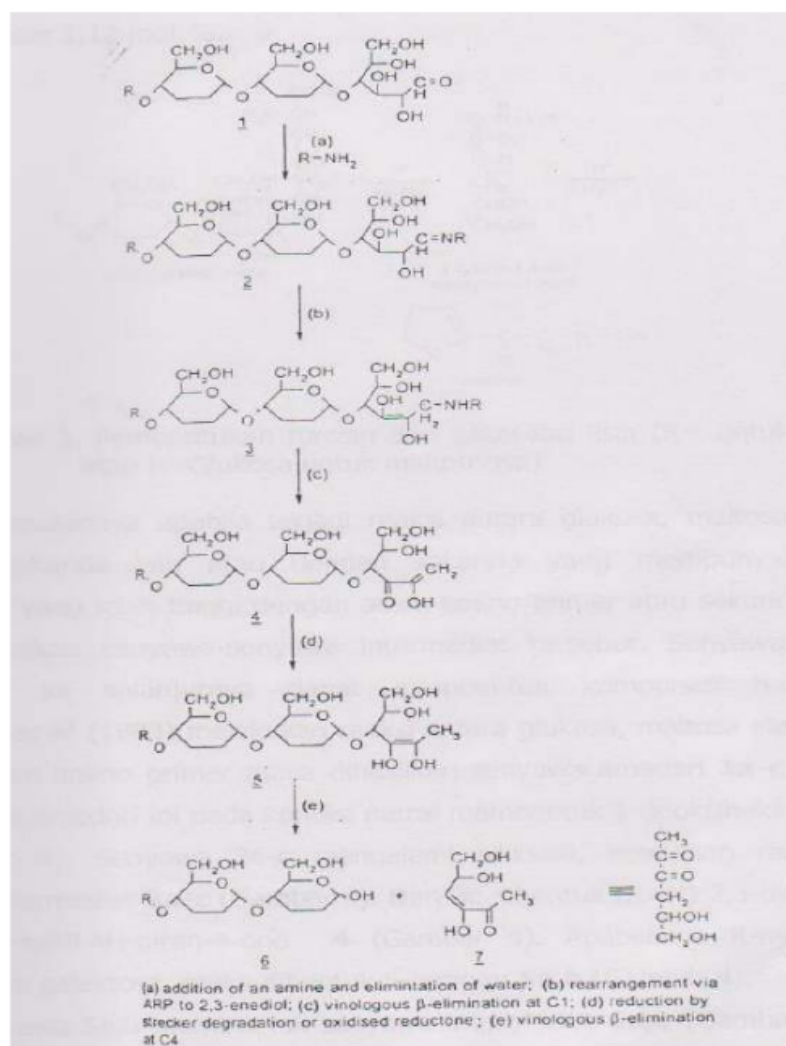
Gambar 3.21. Mekanisme pembentukan α -dikarbonil dari malto-oligosakarida pada reaksi Maillard dan karamelisasi

1,4-DDH adalah intermediat reaktif dan merupakan prekursor berbagai komponen volatil heterosiklik. 1,4-DDH dapat dibentuk melalui mekanisme pelling off (Gambar 3.22). Mekanisme ini merupakan prinsip degradasi bagi oligosakarida atau polisakarida. Katalis yang digunakan adalah glisin untuk mereduksi α -glukan (1) dalam reaksi rearrangement melalui basa Schiff (2) membentuk 2,3-enediol (3). Dari enediol dapat dihilangkan residu glikosidik pada C-4 membentuk 1-amina-1,4-dideoksiheksulosa (4) atau amino pada C-1 dihilangkan pertama kali. Pembentukan kembali struktur enediol (5)

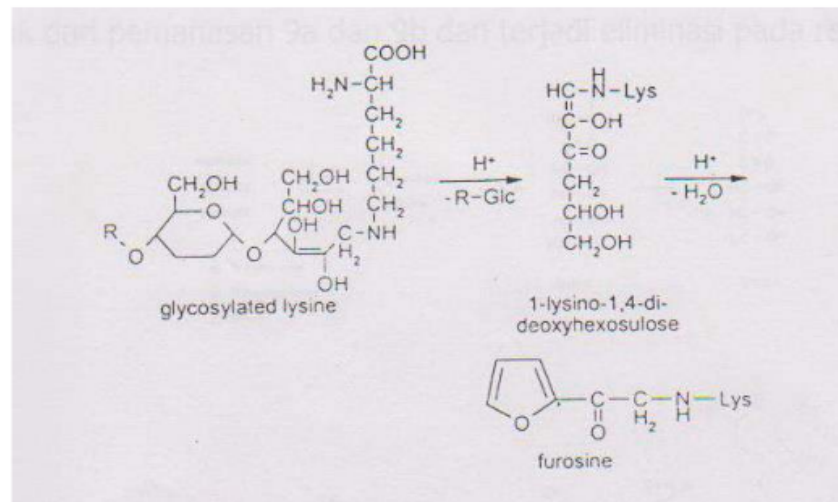
dengan degradasi Strecker atau dengan oksidasi redukton. Selanjutnya terjadi eliminasi pada C-4 sehingga dihasilkan maltooligosakarida (6) dan 1,4-DDH (7).

Salah satu komponen heterosiklik yang dihasilkan melalui mekanisme *pyrrole off* adalah pembentukan furosin (Gambar 3.23). Furosin dibentuk dari reaksi antara asam amino dengan sakarida. Furosin merupakan hasil reaksi eliminasi pada C-4. Apabila pada pembentukan furosin dibedakan reaksi antara glukosa dan maltosa dengan Boc-lisin pada 120°C dalam sistem bebas air, maka reaksi antara maltosa /Boc lisin menghasilkan furosin sebanyak 6 mmol/L selama 15 menit. Hasil ini lebih besar dibandingkan reaksi antara glukosa/Boc-lisin yang hanya menghasilkan furosin sebanyak 0.2 mmol/L selama 30 menit. Hal ini disebabkan furosin lebih mudah dibentuk melalui siklisasi dan dehidrasi 1-lisino-1,4-dideoksioson. Sedangkan glukosa dapat mengeliminasi air dan membentuk α -dikarbonil pada C1, C3 dan C4. Apabila reaksi terjadi pada kondisi asam yang sangat kuat, maka terjadi eliminasi air pada C3 dan membentuk 3-DH. Dan tidak ada alasan untuk mengeliminasi pada C4 sebagai prekursor pembentuk furosin.

1,4-DDH dapat dibentuk melalui glukosa dan juga dapat dibentuk melalui oligosakarida (Gambar 3.21). Pada sistem reaksi Maillard, glukosa dapat membentuk (setelah 180 menit) metilglioksal sebanyak 5,5 mol %, 1-DH (1,3 mol %), 3-DH (4,1 mol %) dan 1,4-DDH (5,8 mol %). Adapun dengan menggunakan maltosa (disakarida), maka jumlah α -dikarbonil semakin meningkat. Setelah 180 menit, jumlah metilglioksal sebesar 2,7 mol %, 1-DH (1,85 mol %), 3-DH (1,44 mol %), dan 1,4-DDH (17,71 mol %). Peningkatan yang sangat dramatik pada pembentukan 1,4-DDH disebabkan terjadinya mekanisme *Pyrrole off* pada maltosa, sehingga terbentuk 1,4-DDH. Selain itu produk-produk intermediat lain jumlahnya cenderung menurun, karena degradasi pada maltosa lebih lambat dibandingkan dengan glukosa.



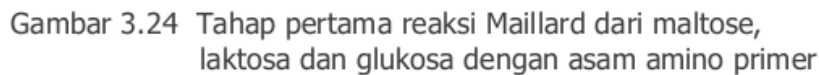
Gambar 3.22 Mekanisme pelling of untuk pembentukan 1,4-DDH dari oligosakarida



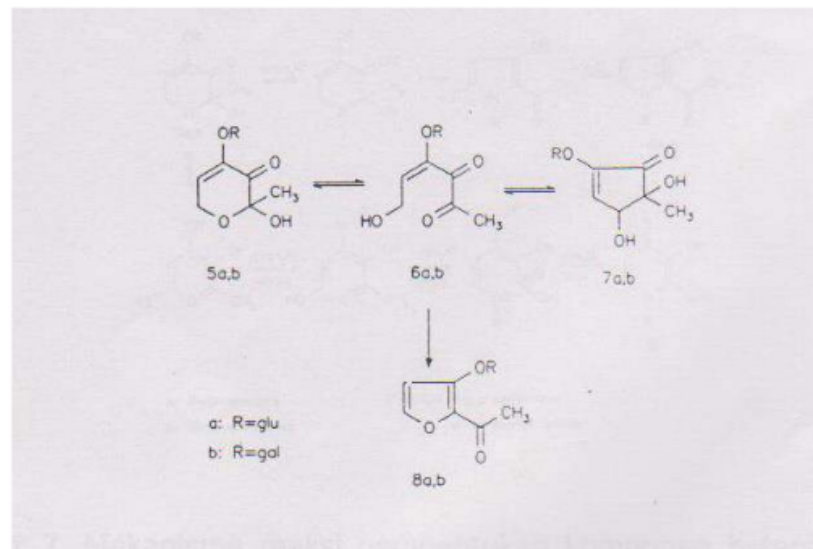
Gambar 3.23 Pembentukan furosine dari glikosilasi lisin (R= untuk maltosa atau R = glukosa untuk maltotriosa)

Pembentukan α -dikarbonil semakin lambat dengan semakin panjangnya derajat polimerisasi. Hal ini dapat dilihat pada maltotriosa, 1,4-DDH dihasilkan sebanyak 3,15 mol % setelah 180 menit, 1-DH (0,46 mol %) dan 3-DH (0,12 mol %). Sedangkan α -dikarbonil yang berasal dari fragmentasi gula dihasilkan cukup signifikan setelah 180 menit, yaitu metilglioksal sebesar 3,87 mol % dan glioksal sebesar 1,12 mol %.

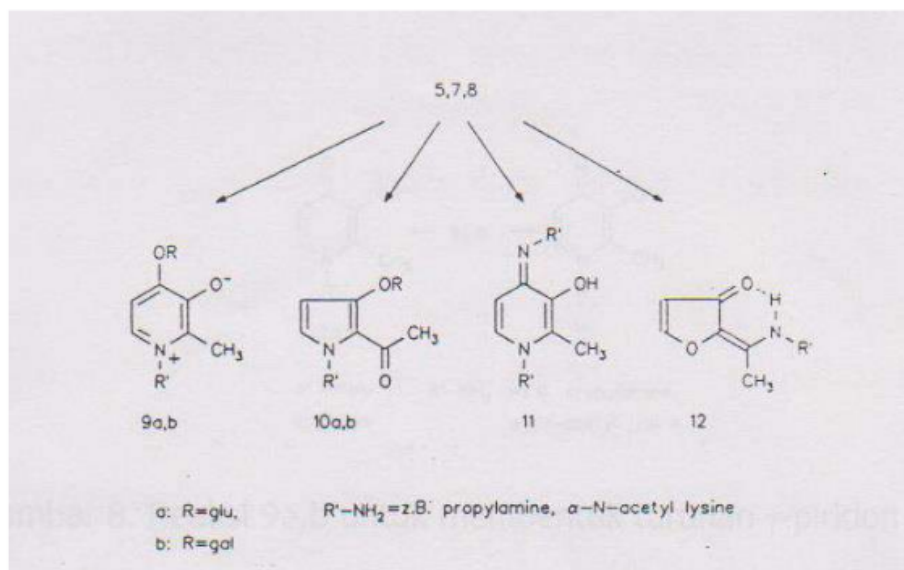
Kesimpulannya apabila terjadi reaksi antara glukosa , maltosa, laktosa atau oligosakarida lain atau dengan sakarida yang mempunyai derajat polimerisasi yang lebih tinggi dengan asam amino primer atau sekunder, maka dapat dihasilkan senyawa-senyawa intermediet tersebut. Senyawa-senyawa intermediet ini selanjutnya dapat membentuk komponen heterosiklik. Kramholler et al. (1993) melakukan reaksi antara glukosa, maltosa atau laktosa dengan asam amino primer maka dapat dihasilkan senyawa amadori 1a-c (gambar 4). Senyawa amadori ini pada kondisinetril membentuk 1-deoksiheksulosa 2a-c (Gambar 4). Senyawa 2a-c mengalami siklisasi, kemudian membentuk senyawa intermediet 3a-c (Gambar 4). Dari 3c dibentuk (R=H)2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-metil-4H-piran-4-one



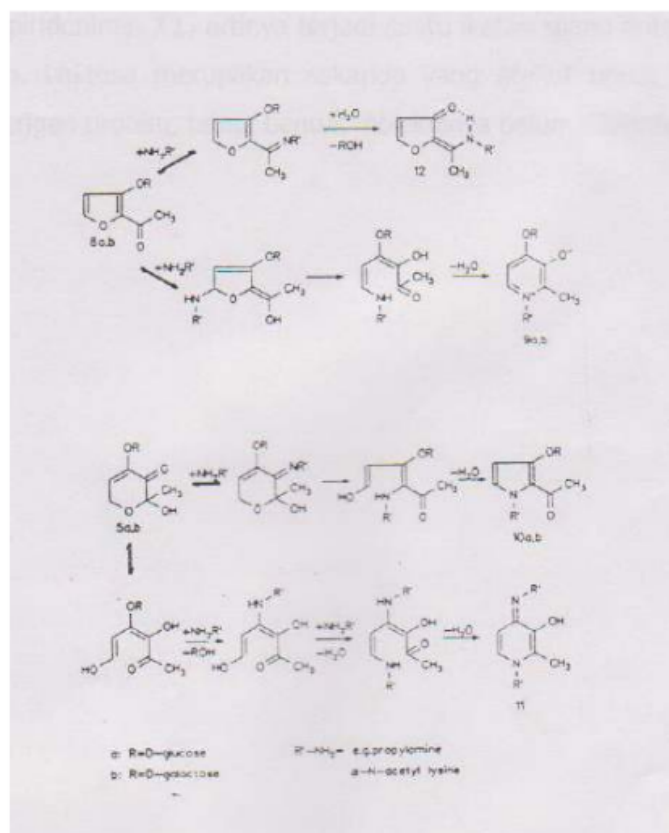
52



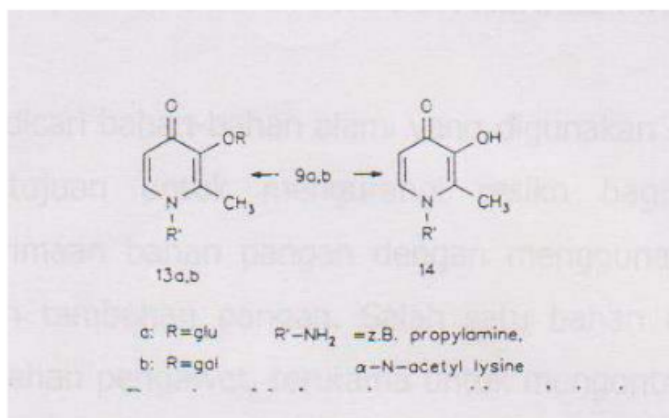
Gambar 3.25 Lanjutan degradasi maltose dan laktosa



Gambar 3.26 Reaksi 5,7 dan 8 dengan asam amino primer



Gambar 3.27 Mekanisme reaksi pembentukan komponen heterosiklik dari maltose, glukosa dengan asam amino primer



Gambar 3.28 Reaksi 9a, b untuk membentuk turunan δ-piridon

Jika diasumsikan dalam susu terjadi reaksi antara laktosa dengan protein dan terbentuk piridonimin 11, artinya suatu ikatan silang antara laktosa dengan protein. Laktosa merupakan sakarida yang efektif untuk terjadinya ikatan silang dengan protein, tetapi bentuk molekulnya belum diketahui.

3.5 RANGKUMAN

Keterlibatan peptida dalam reaksi Maillard dapat melalui asam amino yang dapat menghasilkan amoniak dalam proses pemanasan atau pada hidrolitik deamidasi. Asam amino yang diketahui dapat berperan seperti itu adalah asam asparagin (asp) dan asam glutamin (Gln). Kedua jenis asam amino tersebut dapat mengalami deamidasi non enzimatis baik dalam bentuk bebas maupun dalam bentuk terikat sebagai peptida atau protein. Keterlibatan protein dalam reaksi Maillard telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Laju reaksi pembentukan basa Schiff pada berbagai jenis gula dengan protein bergantung pada tingkat pembentukan karbonil. Reaksi antara glukosa, maltosa, laktosa atau oligosakarida lain atau dengan sakarida yang mempunyai derajat polimerisasi yang lebih tinggi dengan asam amino primer atau sekunder akan dapat dihasilkan senyawa-senyawa intermediet. Senyawa-senyawa intermediet ini selanjutnya dapat membentuk komponen heterosiklik.

Degradasi lipida yang menghasilkan produk volatil reaktif dapat berlangsung melalui reaksi hidrolisis, pirolisis, dan reaksi oksidasi. Selain terdegradasi dan teroksidasi lanjut, produk volatil lemak dapat bereaksi dengan asam amino atau produk degradasi asam amino maupun produk volatil reaksi Maillard lainnya menghasilkan senyawa-senyawa heterosiklik.

3.6 LATIHAN SOAL

1. Jelaskan dua mekanisme dua deamidasi?
2. Jelaskan mekanisme Glikation protein?
3. Bagaimana hubungan α -dikarbonil dengan derajat polimerisasi?
4. Sebutkan komponen heterosiklik yang dihasilkan melalui mekanisme *peeling off*?
5. Apa yang dihasilkan dari reaksi antara produk degradasi lipid dengan produk degradasi asam amino? Berikan contoh senyawanya

3.7 UMPAN BALIK ¹ DAN TINDAK LANJUT

Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan III.

$$\text{Rumus: } \frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$$

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan pada ⁴ab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.



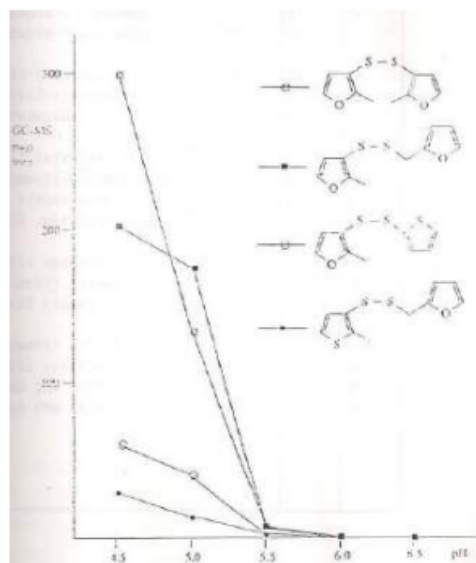
FAKTOR-FAKTOR YANG BERPENGARUH TERHADAP REAKSI MAILLARD

Pengetahuan faktor-faktor yang berpengaruh terhadap reaksi Maillard (kontrol reaksi Maillard) penting dalam pengendalian mutu produk olahan. Terdapat produk olahan yang tidak menghendaki terjadinya reaksi Maillard selama pengolahan (misalnya pembuatan tepung pisang), tidak menghendaki terbentuknya senyawa-senyawa perusak kesehatan. Faktor yang berpengaruh tersebut adalah suhu dan waktu reaksi atau proses, komposisi sistem, aktivitas air, keasaman (pH) dan inhibitor seperti sulfur dioksida.

4.1 PENGARUH pH

Keasaman sistem reaksi berpengaruh terhadap laju pembentukan warna, aroma, jenis dan rasio produk terbentuk. Pada nilai pH rendah (lebih kecil atau sama dengan 7) reaksi mengarah ke pembentukan furfural dari ARPs, di atas pH 7 reaksi menuju pembentukan redukton dan reaksi pembelahan (fisi). Laju pembentukan warna melalui furfural relatif lebih lambat dibandingkan melalui redukton. Dengan demikian laju pembentukan warna meningkat sejalan dengan peningkatan pH. Peningkatan laju pembentukan warna berada pada daerah pH antara 3 dan 11 melalui sistem glukosa-arginin dan glukosa-histidin. Di atas dan di bawah dari daerah pH tersebut laju pembentukan warna menurun. Laju pembentukan warna diukur melalui pengukuran serapan warna menurun pada panjang gelombang di daerah 420-490 nm.

Beberapa senyawa hanya diproduksi pada daerah pH tertentu, salah satu pada pH rendah atau pH tinggi. Pada pH tinggi (diatas pH 7) cenderung terbentuk senyawa N heterosiklik seperti pirazin, piridin, tetapi pada pH rendah cenderung terbentuk senyawa O heterosiklik seperti furan (Tressel *et al.*, 1989; Leahy dan Reineccius, 1989). Pada sistem reaksi sistein dan ribosa, senyawa-senyawa sulfida yang terbentuk menurun dengan meningkatnya pH seperti tersaji pada Gambar 4.1. Reaksi antara HMF dan sistein volatil dominan yang terbentuk pada pH 4.5 adalah senyawa-senyawa flavor daging seperti tersaji pada Tabel 4.1.



Gambar 4.1 Pengaruh pH terhadap jumlah disulfide terbentuk pada reaksi sistein-ribosa

Tressl *et al.*, (1989) menggunakan sistem reaksi glukosa-pirolin dalam mempelajari pengaruh pH terhadap rasio produk terbentuk. Hasil percobaannya menunjukkan pada pH 3 senyawa HMF yang dominan terbentuk dan pada pH 5 senyawa tersebut tidak terdeteksi.

Tabel 4.1 Pengaruh pH terhadap komponen volatile dari reaksi 4-hidroksi-5-metil-3(2H)-furanon dan sistein (ug/10 mg HMF)

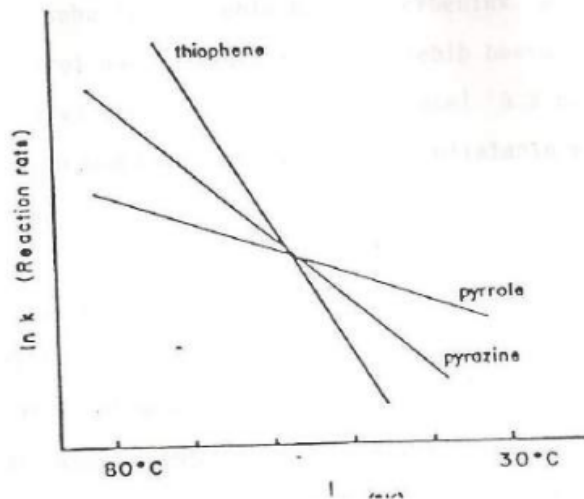
Senyawa	pH 4.5	pH 5.5	pH 6.5
2,3-pentanadion	7	10	8
3-mercapto-2-butanon	70	118	tr
3-mercapto-2-pentanon	57	42	tr
2-mercapto-3-pentanon	62	48	-
2-metil-3-furantiol	12	10	tr
2-metil-3-tiofenetiol	6	6	-
2-tiofenetiol	16	6	-
2-metil tetrahidro tiofenon	65	25	47
3,5-dimetil-1,2-ditiolan-4-on	18	6	tr
metil tienotiofen	8	1	2
2-metil tetrahidro furanon	tr	tr	8
trimetil oksasol			10
2,5-dimetil tiazol			18
trimetil tiazol			12
2,5 dimetil pirazin			14
trimetil pirazin			12
a.piol (MW 137)			29
b.piol (MW 151)			28

4.2 PENGARUH SUHU

Reaksi Maillard mempunyai koefisien suhu tinggi, yakni $Q_{10} = 2 - 8$. Pengamatan tentang pengaruh suhu menggunakan sistem model, menunjukkan peningkatan suhu mempercepat pembentukan warna, akan tetapi informasi sangat terbatas tentang sifat komponen berwarna tersebut. Meskipun demikian telah dapat ditunjukkan bahwa untuk melanoidin dibentuk dari reaksi glukosa atau silosa dengan glisin, rasio karbon-nitrogen, derajat ketidakjenuhan dan ketajaman aroma meningkat dengan peningkatan suhu.

Penyimpanan pangan pada suhu ruang yang menyebabkan terjadinya penyimpangan bau (off-flavour) bukanlah reaksi Maillard.

Pemanasan pada suhu intermediet (100°C) akan menghasilkan karamel, atau flavor yang timbul dari pemanasan. Jika suhu meningkat (misalnya 150°C) timbul aroma nyata "toasted" (Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Pengaruh suhu terhadap konstanta laju pembentukan senyawa volatile

Pemanasan pada suhu 160°C dalam pelarut air/glisierol 1:3 menghasilkan aroma daging dan daging panggang yang sangat jelas. Produk utama yang terbentuk adalah tritolana, tiofenon dan 2,4-heksanadion. Pengaruh suhu juga terjadi pada proses ekstrusi. Pembuatan potato pada suhu $< 130^{\circ}\text{C}$ tidak memberikan aroma yang baik, akan tetapi peningkatan suhu menjadi 160°C memberikan aroma potato, yakni senyawa pirazin. Pirazin juga meningkat pada kenaikan suhu selama proses pengolahan malt, akan tetapi menurun pada suhu 190°C .

Pemanasan serin dengan glukosa atau fruktosa dalam sistem air pada berbagai tingkatan suhu furan lebih banyak terbentuk pada suhu rendah, sedangkan pirazin, pirol dan piridin relatif lebih banyak terbentuk pada suhu yang lebih tinggi seperti tersaji pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Jumlah relative komponen yang terbentuk pada pemanasan serin-glukosa/fruktosa dalam sistem aqueous (%)

Klas	120°C ^a	150°C ^a	180°C ^a	120°C ^b	150°C ^b	180°C ^b
Furan	45	31	3-4	55	29	2
Furanon	6-7	12	2	6	13	1
Piranon	33	2	-	23	1-2	-
Pirazin	<1	14	48	7	22	65
Pirol	5	7-8	7	2	5-6	3
Piridin	<1	3-4	9	<1	1-2	4

a. Campuran reaksi serin-glukosa

b. Campuran reaksi serin-fruktosa

4.3 PENGARUH AKTIVITAS AIR (a_w)

Pengaruh aktivitas air berhubungan dengan konsentrasi. Untuk reaksi Maillard, laju reaksi optimum pada kisaran a_w 0,5 – 0,8. Senyawa-senyawa yang bersifat higroskopis (penyerap air) seperti gliserol, menurunkan a_w maksimum dari 0,5 – 0,7. Semakin banyak gugus hidroksil pada suatu senyawa, semakin mudah menyerap air, sehingga nilai a_w semakin menurun.

Kecepatan reaksi maksimum terhadap nilai a_w atau kandungan air dipengaruhi oleh suhu. Contoh pemanasan wortel kering beku pada suhu 60 atau 70°C, kecepatan pembentukan ARP terjadi pada kandungan air 5 % ($a_w=0,3$). Pemanasan pada suhu 90°C kecepatan reaksi meningkat dengan menurunnya kandungan air menjadi 2,5 – 3,0 %. Keadaan ini menggambarkan tidak terdapat a_w maksimum. Sebaliknya dengan bahan yang tidak mengandung lemak seperti susu bubuk kering tanpa lemak,

pemanasan pada suhu 95°C selama 0,5 sampai 3 jam, menunjukkan pembentukan pirazin dan 2-metil pirazin terjadi pada nilai a_w 0.75.

Pemanasan sistein-DMHF yang mengandung air 0-100% menunjukkan pada kandungan air 75% menghasilkan aroma daging yang seimbang. Hal ini menggambarkan tingginya tritolan dan trioifenon (kelompok senyawa yang berperan dalam aroma daging). Kandungan air irisan kentang mempengaruhi pembentukan aroma selama ekstrusi dan pembentukan pirazin menunjukkan meningkat dua kali lipat pada kandungan air rendah, yakni perubahan dari 48% menjadi 25%.

Reaksi Maillard sangat penting pada bahan pangan kering selama penyimpanan, khususnya jika kandungan air tidak dapat dikontrol. Problem yang timbul adalah pengembangan warna kuning dan terjadinya penyimpangan bau. Suatu contoh perkembangan warna dari tomat serbuk dengan nilai a_w 0,33 atau 0,43 yang disimpan pada suhu 23°C. Waktu simpan tomat pada a_w rendah mendekati 2 kali lipat pada a_w tinggi. Demikian pula pemanasan pendahuluan pada suhu 40°C sebelum penyimpanan mereduksi waktu simpan 2-3 kali dibandingkan tanpa perlakuan pendahuluan. Keadaan ini disebabkan pembentukan ARP selama pemanasan awal.

Kandungan air pada termal degradasi asam amino berpengaruh terhadap terbentuknya jenis produk. Pemanasan asam amino sistein dan glutation pada suhu 180°C menunjukkan 3,5,7-trimetil-1,2,4,6-tetratiopene yang terbentuk terbanyak pada kandungan air 20 dan 50 % seperti tersaji pada Tabel 4.3 berikut.

Tabel 4.3 Senyawa-senyawa sulfur yang teridentifikasi pada degradasi termal sistein-glutation Pada suhu 180°C

Table II. Sulfur-containing Compounds Identified in Thermal Degradation of Cysteine and Glutathione at 180 °C (Quantity* Unit: mg/mol)

Water Content (%)	100		80		50		20		0	
Compounds	Cys	GSH	Cys	GSH	Cys	GSH	Cys	GSH	Cys	GSH
Thiazole	1.3	1.5	4.1	0.4	1.1	0.4		0.3		1.5
2-Methylthiazole	1.4	1.6	7.5	1.0	9.9		29.1	1.7	148.5	2.3
3,5-Dimethyl-1,2,4-trithiolane	267.1	9.0	577.7	25.0	495.4	17.5	643.7	37.1	5.4	2.4
3,5-Dimethyl-1,2,4-trithiolane	320.3	2.7	708.3	26.6	597.7	23.4	780.5	18.9	6.9	1.8
3,6-Dimethyl-1,2,4,5-tetrathiane	9.2		6.6	14.2	5.2	110.7	5.5	86.4		
3,6-Dimethyl-1,2,4,5-tetrathiane	10.9		9.4	20.2	5.6	98.4	6.8	125.1		
4-Methyl-1,2,3,5-tetrathiane	30.3		19.0	1.5	16.5	9.3	30.1	4.0	6.2	
3,5,7-Trimethyl-1,2,4,6-tetrathiepane				1.2	0.7	2.6				10.1
3,5,7-Trimethyl-1,2,4,6-tetrathiepane	5.2		5.6	0.9	3.5		5.0			0.7
4,7-Dimethyl-1,2,3,5,5-pentathiepane	55.9	7.1	101.1	36.0	182.5	496.3	96.6	483.0		3.5
4,7-Dimethyl-1,2,3,5,6-pentathiepane	30.6		64.0		94.3		79.1			

4.4 PENGARUH WAKTU

Secara umum, intensitas warna coklat yang dihasilkan selama reaksi Maillard meningkat dengan meningkatnya waktu. Contoh pembentukan warna coklat pada pemanasan D-glukosa dengan DL-alanin pada pH 5,7 atau 8 meningkat dengan meningkatnya waktu sampai 12 jam. Hal-hal yang berkontribusi relatif terhadap waktu reaksi meliputi:

1. Jumlah total senyawa yang terbentuk meningkat terhadap waktu
2. Jenis senyawa volatil yang terbentuk meningkat relatif terhadap waktu reaksi. Contoh: total pirazin (pirazin, 2-metil pirazin dan 2,6-dimetil pirazin) yang dihasilkan dari sistem reaksi glukosa-arginin meningkat secara linier terhadap waktu
3. Jumlah dan jenis senyawa volatil yang terbentuk mempunyai waktu pemanasan maksimum, dimana pemanasan di atas waktu tersebut produksi volatil menurun. Contoh: reaksi glukosa

dengan amoniak menghasilkan pirazin maksimum setelah 4 jam pemanasan pada suhu 100°C. Demikian juga pembentukan HMF-on, 1-asetonilpirol dan 2-(1-pirolil)-2-siklopenten-1-on dari sistem hidroksi prolin-arabinosa, maksimum yeild antara 2-4 jam pemanasan.

4.5 PENGARUH PROPORSI DAN SIFAT REAKTAN

Laju reaksi pembentukan aroma maupun warna ditentukan oleh jenis zat dan proporsinya. Gula pentosa misalnya, lebih cepat terjadi reaksi pembentukan warna dan aroma dibandingkan dengan heksosa (contoh glukosa). Demikian pula heksosa lebih cepat membentuk warna dan aroma dari pada disakarida. Nampaknya, berat molekul senyawa sejenis mempengaruhi tingkat laju reaksi. Makin tinggi berat molekul makin lambat terjadinya pembentukan warna dan aroma.

Selain berat molekul, gugus fungsi juga ikut berpengaruh terhadap laju reaksi, glukosa berbeda laju reaksinya dengan fruktosa. Untuk semua asam amino, lisin yang paling cepat menghasilkan warna, yang disebabkan oleh adanya gugus ϵ amino yang reaktif. Sistein paling lambat menghasilkan warna. Oleh karena itu bahan pangan yang mengandung lisin sangat mudah menjadi coklat (misalnya susu).

Rasio gula terhadap terhadap asam amino sangat berpengaruh terhadap laju reaksi pembentukan warna. Makin meningkat jumlah asam aminonya, makin cepat membentuk warna pada sistem model glukosa-glisin dalam pelarut aqueous. Penyimpangan sistem glukosa-glisin-air pada suhu 65°C akan menghasilkan warna yang semakin cepat bila glisinnya dinaikan, gulanya diturunkan (gula/glisin= 10 : 1 menjadi 2 : 1, 1 : 1 dan 1 : 5).

Karakteristik aroma hampir tidak dipengaruhi oleh jenis gula, akan tetapi asam amino sangat berpengaruh terhadap karakteristik aroma yang dihasilkan. Beberapa jenis asam amino menghasilkan aroma karamel pada pemanasan sistem air. Asam amino sulfur (misalnya sistein) menghasilkan aroma daging, prolin dan hidroksi prolin menghasilkan aroma: "bread" dan "Cracker". Beberapa jenis aroma

terbentuk dari sistem asam amino dengan gula disajikan pada Tabel 4.4 berikut:

Tabel 4.4 Aroma yang terbentuk oleh Asam Amino dengan Gula

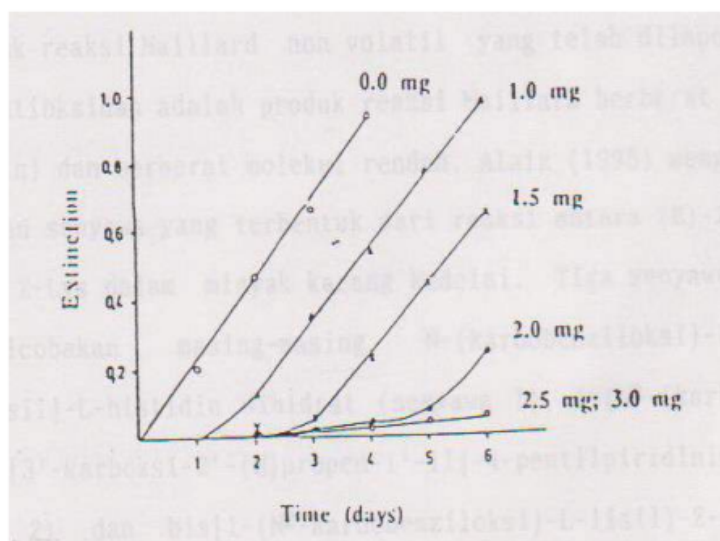
	Glycine	Glutamic Acid	Lysine	Methionine	Phenylalanine
Glucose	Burnt candy	Chicken tray	Burnt fried potatoes	Cabbage	Caramel
Fructose	Beef broth	Chicken	Fried potato	Bean soup	Dirty dog
Maltose	Beef broth	Baked ham	Stale potato	Harsh, horseradish	Sweet
Sucrose	Beef broth	Charred meat	Boiled meat	Overcooked cabbage	Chocolate

* From El'Ode et al. (1966).

4.6 PENGHAMBATAN REAKSI MAILLARD

Kontrol reaksi Maillard dapat digunakan untuk memodifikasi kondisi proses dan komposisi produk. Suatu cara kontrol reaksi adalah penggunaan inhibitor reaksi seperti sulfur dioksida yang secara normal ditambahkan dalam bentuk larutan natrium bisulfit (Na_2HSO_3) atau natrium metabisulfit. Sulfur dioksida juga menghambat enzim penyebab pencoklatan (pencoklatan enzimatis) dan pertumbuhan mikroorganisme.

Penambahan sulfur dioksida ke dalam sistem glukosa-glisin sebelum terjadi pencoklatan, waktu pencoklatan menjadi lebih lama (Gambar 4.3). Selama periode inhibisi, beberapa sulfur terikat secara irreversibel pada komponen pangan, yakni bereaksi dengan gula pereduksi dan senyawa intermediat produk reaksi Maillard (senyawa karbonil dan dikarbonil). Pada tahap awal reaksi, laju pengikatan SO_2 irreversibel sebanding dengan SO_2 bebas yang ada dalam larutan. Sulfida hanya menekan pembentukan warna, penambahan SO_2 mengubah warna merah gelap menjadi warna merah terang dan warna kuning dibandingkan tanpa penambahan SO_2 .



Gambar 4.3 Pengaruh penambahan SO₂ terhadap pengembangan warna pada system glukosa-glisin pada suhu 50 °C

4.7 RANGKUMAN

Faktor yang berpengaruh tersebut adalah suhu dan waktu reaksi atau proses, komposisi sistem, aktivitas air, keasaman (pH) dan inhibitor seperti sulfur dioksida. Pada nilai pH rendah (lebih kecil atau sama dengan 7) reaksi mengarah ke pembentukan furfural dari ARPs, di atas pH 7 reaksi menuju pembentukan redukton dan reaksi pembelahan (fisi). Laju pembentukan warna melalui furfural relatif lebih lambat dibandingkan melalui redukton. Dengan demikian laju pembentukan warna meningkat sejalan dengan peningkatan pH dan peningkatan suhu mempercepat pembentukan warna, sedangkan Pengaruh aktivitas air berhubungan dengan konsentrasi. Untuk reaksi Maillard, laju reaksi optimum pada kisaran a_w 0,5 – 0,8. Senyawa-senyawa yang bersifat higroskopis (penyerap air) seperti gliserol, menurunkan a_w maksimum dari 0,5 – 0,7. Semakin banyak gugus hidroksil pada suatu senyawa, semakin mudah menyerap air, sehingga nilai a_w semakin menurun.

4.8 LATIHAN SOAL

1. Apa dampak pH rendah dan pH > 7 masing-masing pada pembentukan senyawa produk reaksi Maillard?
2. Pada kisaran suhu berapa terbentuknya masing-masing senyawa karamel, roasted dan pirazin?
3. Reaksi Maillard sangat penting pada bahan pangan kering selama penyimpanan, khususnya jika kandungan air tidak dapat dikontrol. Penyimpangan apa yang dapat terjadi?
4. Hal-hal apa saja yang berkontribusi relatif terhadap waktu reaksi Maillard?
5. Berikan contoh Laju reaksi pembentukan aroma maupun warna ditentukan oleh jenis zat dan proporsi reaktan.

4.9 UMPAN BALIK ¹ DAN TINDAK LANJUT

Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan IV.

$$\text{Rumus: } \frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$$

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan ⁴ pada bab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.



KOMPONEN VOLATIL, NON VOLATIL PRODUK REAKSI MAILLARD

5.1 KOMPONEN VOLATIL

Komponen flavor yang terbentuk melalui reaksi Maillard termasuk komponen volatil produk reaksi Maillard. Komponen ini dapat diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok atas dasar reaktan awalnya:

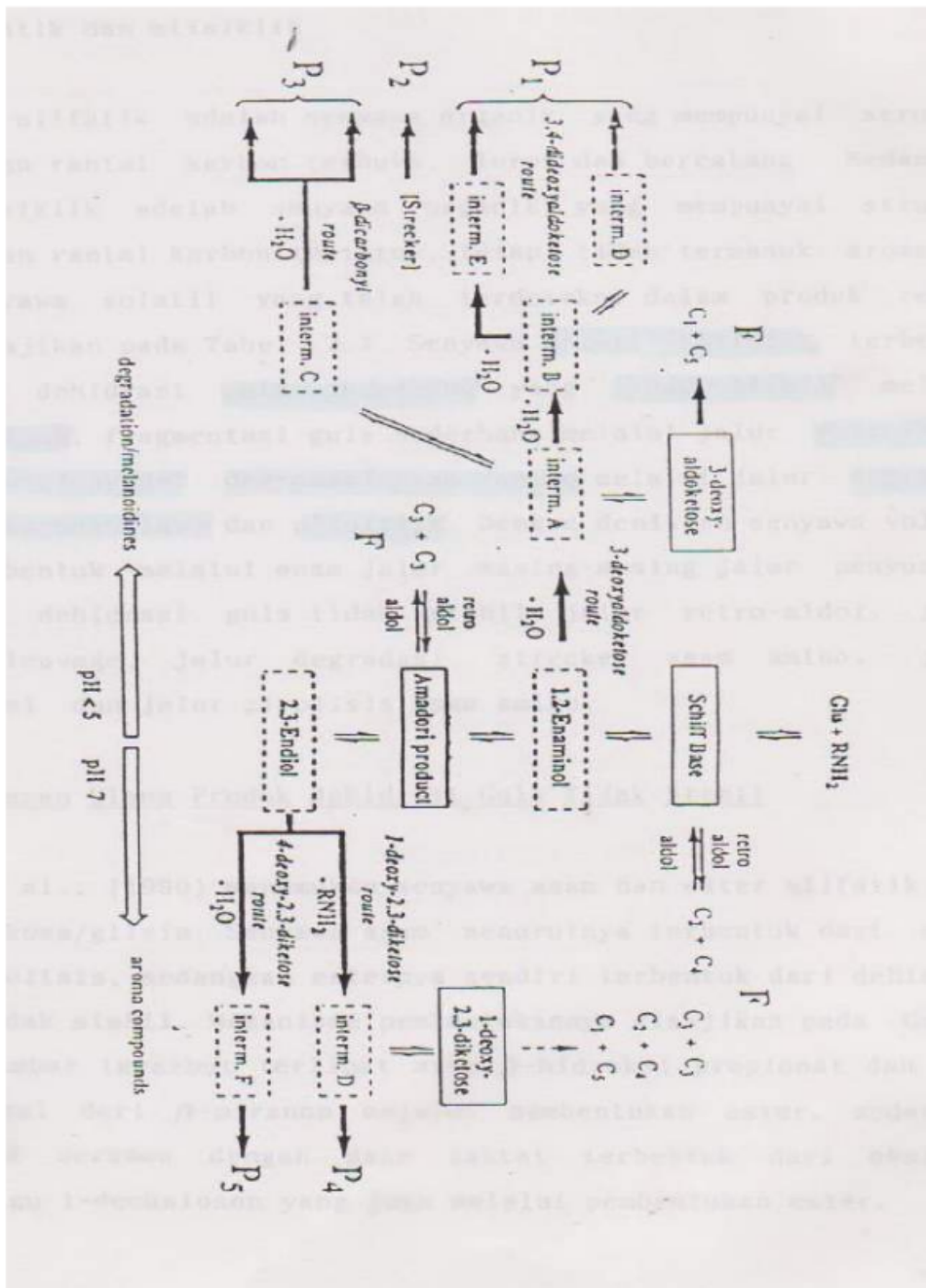
- 1) Produk dehidrasi/fragmentasi gula sederhana, seperti furan, piranon, siklopentenon, senyawa karbonil dan asam
- 2) Produk degradasi asam amino sederhana, seperti aldehid Stecker dan senyawa bersulfur
- 3) Produk senyawa volatil hasil interaksi lanjut seperti pirol, piridin, imidazol, pirazin, oksazol, tiazol dan senyawa yang terbentuk melalui kondensasi aldol.

Ketiga jalur pembentukan senyawa-senyawa volatil tersebut secara skema disajikan pada Gambar 5.1 secara lengkap digambarkan terutama terutama jalur dan prekursor fragmentasi gula sederhana (Tressl *et al.* 1995).

Senyawa-senyawa volatil yang terbentuk melalui reaksi Maillard secara kimia dapat dikelompokkan ke dalam tiga golongan masing-masing golongan senyawa alifatik, alisiklik dan golongan senyawa heterosiklik.

a. Senyawa Alifatik dan Alisiklik

Senyawa alifatik adalah senyawa organik yang mempunyai struktur molekul dengan rantai karbon terbuka, lurus dan bercabang. Sedangkan senyawa alisiklik adalah senyawa organik yang mempunyai struktur molekul dengan rantai karbon tertutup, tetapi tidak termasuk aromatik. Beberapa senyawa volatil yang telah terdeteksi dalam produk reaksi Maillard disajikan pada Tabel 5.1. Senyawa volatil alifatik terbentuk dari proses dehidrasi gula sederhana yang tidak stabil melalui penyusunan ulang, fragmentasi gula sederhana melalui jalur degradasi Strecker, dekarboksilasi dan pirolisis. Dengan demikian senyawa volatil alifatik terbentuk melalui enam jalur masing-masing jalur penyusunan ulang produk dehidrasi gula tidak stabil, jalur retro-aldol, jalur dekarboksilasi dan jalur pirolisis asam amino.



Gambar 5.1 Jalur pembentukan senyawa-senyawa volatile dari glukosa bertanda (^{13}C)

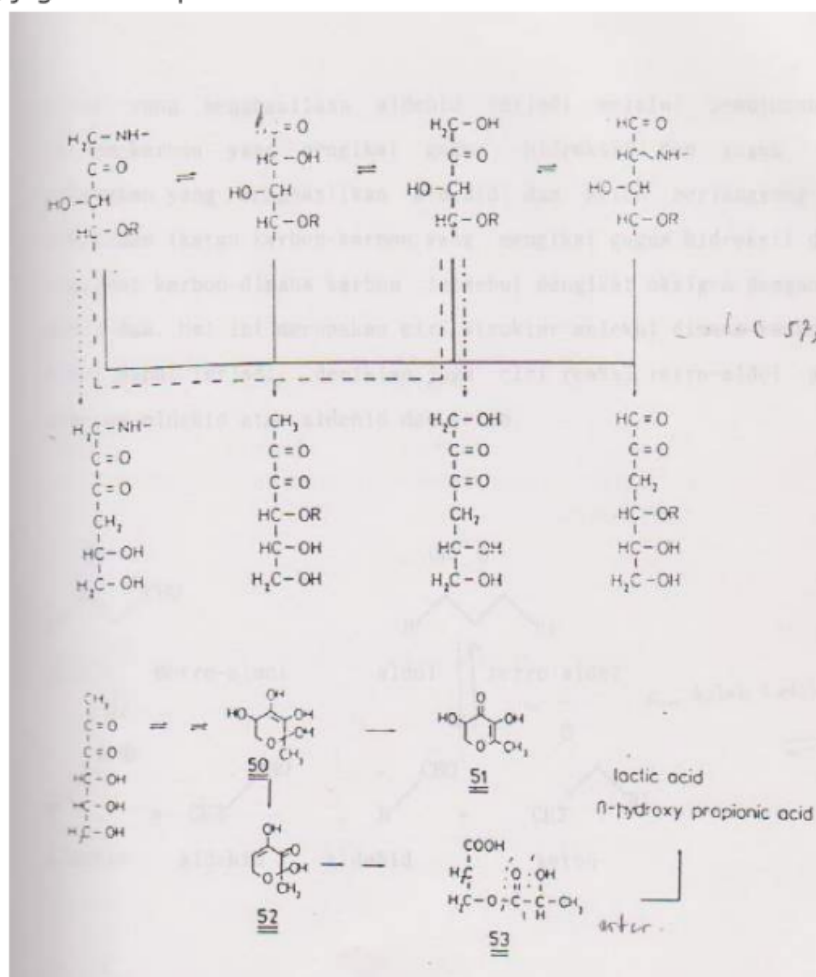
Tabel 5.1 Beberapa senyawa volatile alifatik produk reaksi Maillard

Nama Senyawa	Struktur Molekul
Formaldehid	H-CHO
Glioksal	CHO-CHO
2-hidroksi asetat	H ₂ COH-COOH
Pirruvaldehid	CH ₃ -CO-CHO
3-hidroksi pirruvaldehid	CH ₂ OH-CO-CHO
Gliseraldehid	CH ₂ OH-CHOH-CHO
Dihidroksi aseton	CH ₂ OH-CO-CH ₂ OH
3-hidroksi piruvat	CH ₂ OH-CH ₂ -COOH
Diasetil	CH ₃ -CO-CO-CH ₃
1-hidroksi diasetil	CH ₃ -CO-CO-CH ₂ OH
1-amino-1-ena-2-hidroksi butanon	CH ₃ -CO-COH=CH-NH ₂
Sisteamin	HS-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂
Metiamin	CH ₃ -S-(CH ₂) ₃ -NH ₂
2-propenal	CH ₂ =CH-COH
Metional	CH ₃ -S-(CH ₂) ₂ -COH
Sistional	HS-CH ₂ -COH

Jalur Penyusunan Ulang Produk dehidrasi Gula tidak stabil

Sistem model glukosa/glisin dihasilkan senyawa asam dan ester alifatik. Senyawa asam terbentuk dari ester melalui hidrolisis, sedangkan esternya sendiri terbentuk dari dehidrasi gula yang tidak stabil. Mekanisme pembentukannya disajikan pada Gambar 5.2. Pada gambar tersebut terlihat asam β -hidroksi propinat dan asam laktat berasal dari β -

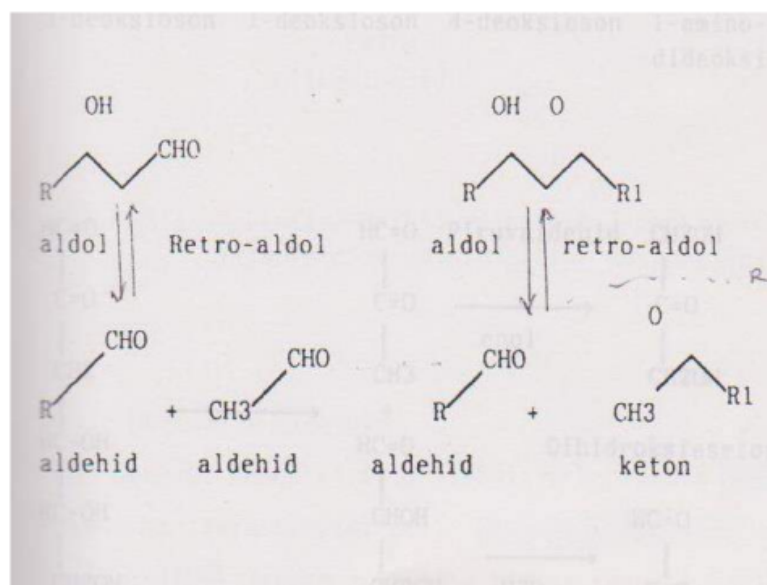
piranon melalui pembentukan ester, sedangkan gliseraldehid bersama dengan asam laktat terbentuk dari oksidasi γ -piranon atau 1-deoksioson yang juga melalui pembentukan ester.



Gambar 5.2 Mekanisme Pembentukan asam dan ester alifatik

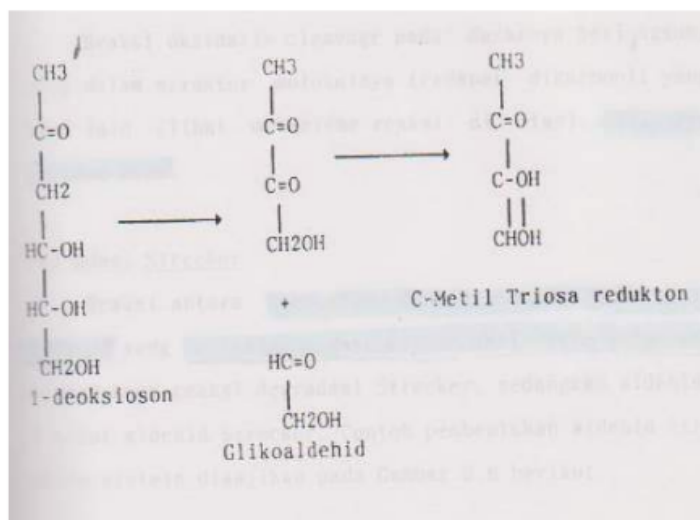
Jalur Retro-Aldol

Reaksi retro-aldol kebalikan dari reaksi kondensasi aldol. Reaksi kondensasi aldol berlangsung antara aldehid dengan aldehid dan aldehid dengan keton, sehingga produk reaksi retro-aldol adalah senyawa aldehid atau aldehid dan keton (Gambar 5.3.). Pada Gambar 5.3 terlihat retro-aldol yang menghasilkan aldehid terjadi melalui pemutusan ikatan karbon-karbon yang mengikat gugus hidroksil dan gugus aldehid, sedangkan yang menghasilkan aldehid dan keton berlangsung melalui pemutusan ikatan karbon-karbon yang mengikat oksigen dengan ikatan ganda dua. Hal ini merupakan ciri struktur molekul dimana reaksi retro-aldol dapat terjadi, demikian juga ciri reaksi retro-aldol produknya senyawa aldehid atau aldehid keton.



Gambar 5.3.Reaksi Aldol dan Retro-aldol

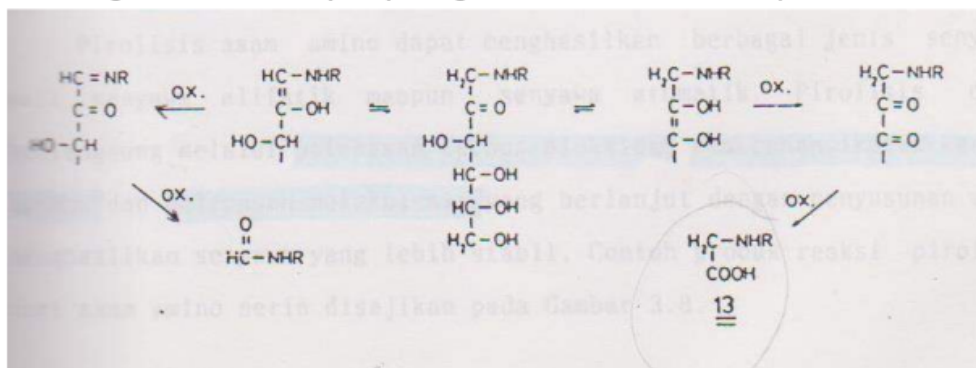
Beberapa contoh senyawa yang dapat mengalami retro-aldol adalah: 3-deoksioson, 1-deoksioson; 4-deoksioson, 1-amino-1,4-dideo, sedangkan contoh mekanisme reaksi fragmentasinya disajikan pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4 Mekanisme reaksi pemecahan 3-deksaioson dan 1-deoksioson melalui jalur retro-aldol

Jalur Oksidatif Cleavage

Menurut Ahmed *et al.*, (1986) terbentuknya karboksimetil amin dalam reaksi Maillard berasal dari oksidatif cleavage Amadori Rearrangement Product (ARP) dengan mekanisme reaksi seperti berikut.



Gambar 5.5 Pembentukan karboksimetil

Reaksi oksidatif cleavage pada dasarnya berlangsung pada senyawa yang dalam struktur molekulnya terdapat dikarbonil yang terikat satu sama lain. Ciri produknya adalah senyawa asam.

Degradasi Strecker

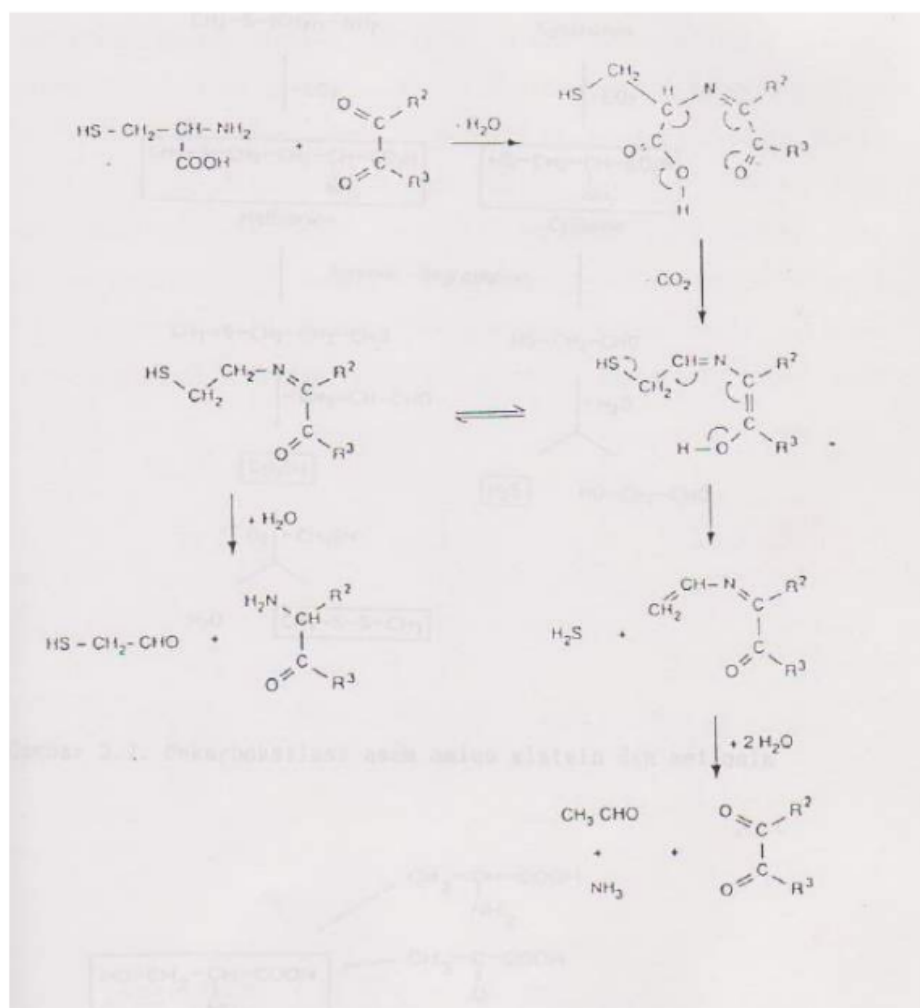
Reaksi antara asam amino dengan senyawa dikarbonil menghasilkan aldehid yang kehilangan satu karbon dari asam amino asalnya, dikenal dengan nama reaksi degradasi Strecker, sedangkan aldehid yang terbentuk disebut aldehid Strecker. Contoh pembentukan aldehid Strecker dari asam amino sistein disajikan pada Gambar 5.6.

Dekarboksilasi Asam Amino

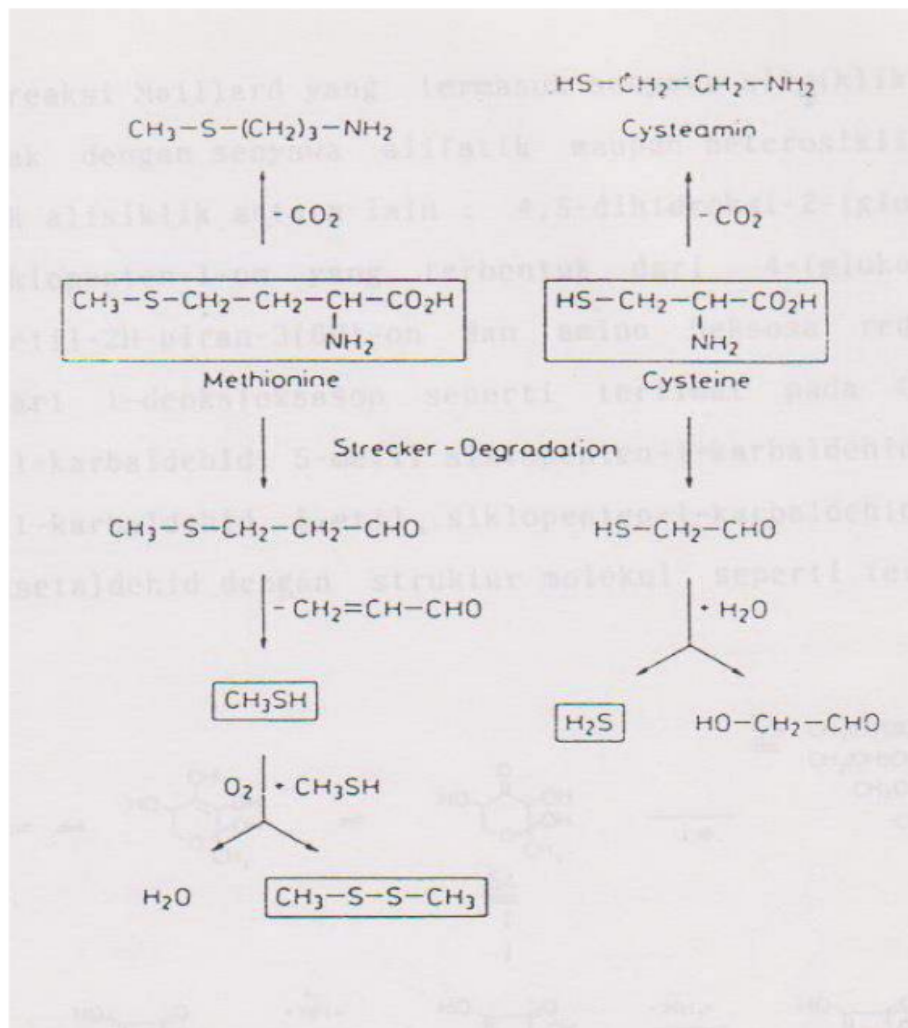
Jalur dekarboksilasi asam amino merupakan reaksi pelepasan karbon dioksida dari asam amino. Senyawa yang terbentuk mengandung gugus amino dengan jumlah atom karbon berkurang satu dari atom karbon asalnya. Contoh proses dekarboksilasi asam amino sistein dan metionin disajikan pada Gambar 5.7.

Pirolisis Asam Amino

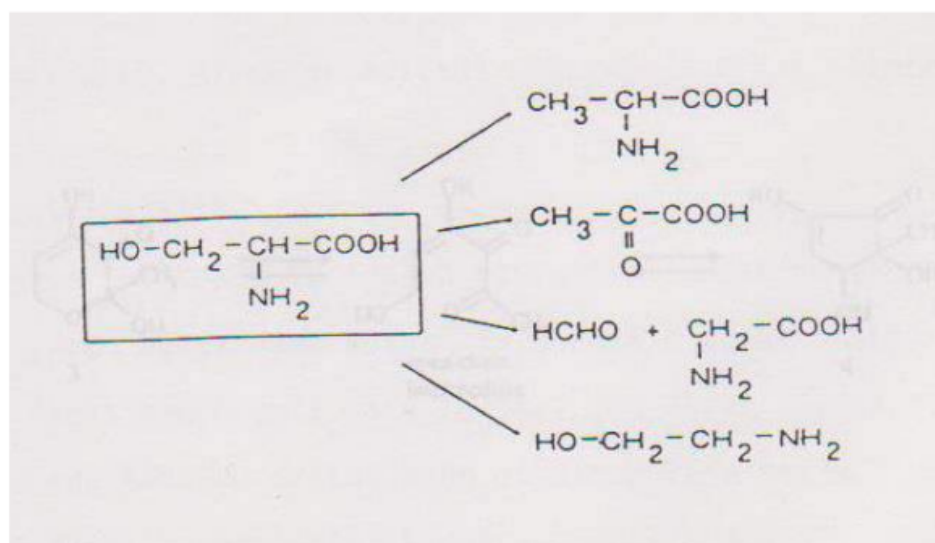
Pirolisis asam amino dapat menghasilkan berbagai jenis senyawa, baik senyawa alifatik maupun senyawa aromatik. Pirolisis dapat berlangsung melalui pelepasan karbon dioksida, pemecahan ikatan karbon-karbon dan pelepasan molekul air yang berlanjut dengan penyusunan ulang menghasilkan senyawa yang lebih stabil. Contoh produk reaksi pirolisis dari asam amino sering disajikan pada Gambar 5.8.



Gambar 5.6 Degradasi Strecker asam amino sisten

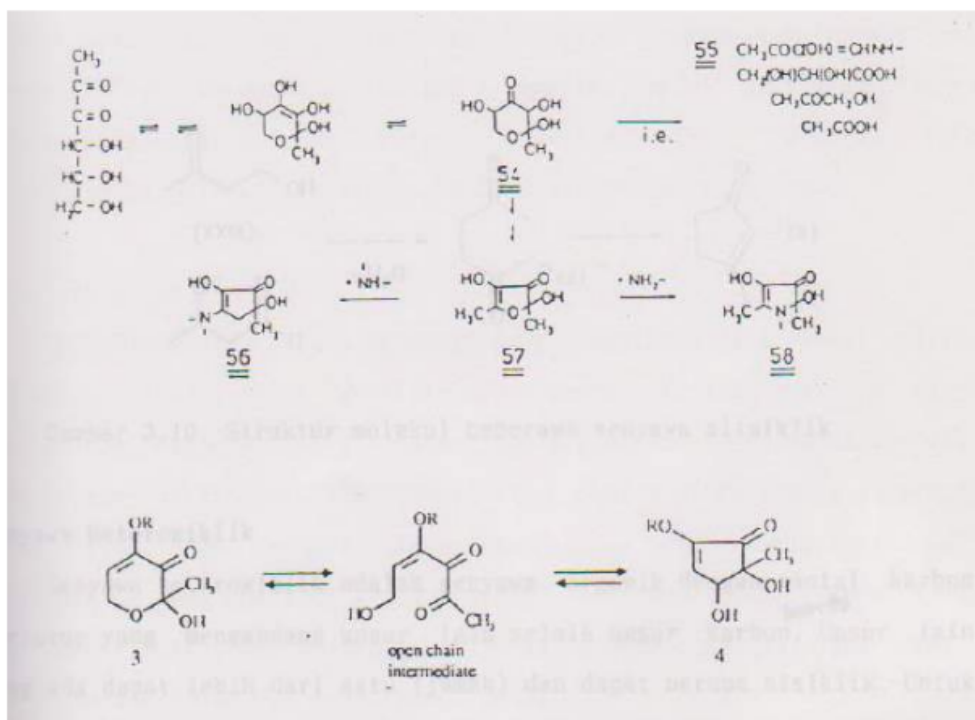


Gambar 5.7 Dekarboksilasi asam amino sistein dan metionin



Gambar 5.8 Pirolisis asam amino serin

Produk reaksi Maillard yang termasuk senyawa alisiklik jumlahnya tidak sebanyak dengan senyawa alifatik maupun heterosiklik. Senyawa yang termasuk alisiklik antara lain: 4,5-dihidroksi-2-(glukosilosil)-5-metil-2-siklopenten-1-on yang terbentuk dari 4-(glukosilosil)-2-hidroksi-2-metil-2H-piran-3(6H)-on dan amino heksosa reduktan yang terbentuk dari 1-deoksioksaon seperti terlihat pada Gambar 5.9.



Gambar 5.9 Pembentukan senyawa alisiklik

b. Senyawa Heterosiklik

Senyawa heterosiklik adalah senyawa organik dengan rantai karbon tertutup yang mengandung unsur lain selain unsur karbon. Unsur lain yang ada dapat lebih dari satu (jamak) dan dapat berupa bisiklik. Untuk lebih menyederhanakan uraian akan dikelompokkan menjadi N heterosiklik, O heterosiklik, S heterosiklik dan gabungan S dan N, S dan O, N dan O heterosiklik.

Senyawa O heterosiklik pada umumnya terbentuk dari dehidrasi/fragmentasi gula sederhana yang terdiri atas dua kelompok masing-masing furan dan piran beserta turunannya. Senyawa N heterosiklik, S heterosiklik serta gabungan N dan S, N dan O heterosiklik pada umumnya terbentuk dari interaksi antara produk dehidrasi/fragmentasi gula sederhana dan lipida dengan asam amino maupun produk degradasi asam amino. Senyawa N heterosiklik terdiri

atas tiga kelompok masing-masing pirazin, piridin dan pirol beserta turunannya; senyawa S heterosiklik terdiri atas tiofen, ditian, tritian beserta turunannya; N dan O heterosiklik terdiri atas oksazol dan turunannya; N dan S heterosiklik terdiri atas tiazol dan turunannya, S dan O heterosiklik terdiri atas furantol dan turunannya. Dengan demikian dapat dikatakan senyawa heterosiklik terdiri atas: pirazin, piridin, pirol, imidazol, furan, piran, tiofen, ditian, tritian, oksazol, tiazol dan furantion.

Furan dan Piran

Furan merupakan produk terbesar yang dihasilkan dari reaksi Maillard (Shibamoto, 1989). Furan memiliki aroma manis, kacang, buah dan karamel . Furan yang berperan penting dalam flavour bahan pangan diantaranya 2,5-dimetil-4-hidroksi-3(H)-furanon yang memiliki aroma fragan, buah, karamel, hangus (burnt) dan nenas; 4-hidroksi-5-metil-3 (H)-furanon yang memiliki aroma karamel (mekanisme pembentuknya tersaji pada Gambar 5.10); dan 2-asetil-3-hidroksifuran (isomaltol) yang memiliki aroma hangus, pedas dan buah.

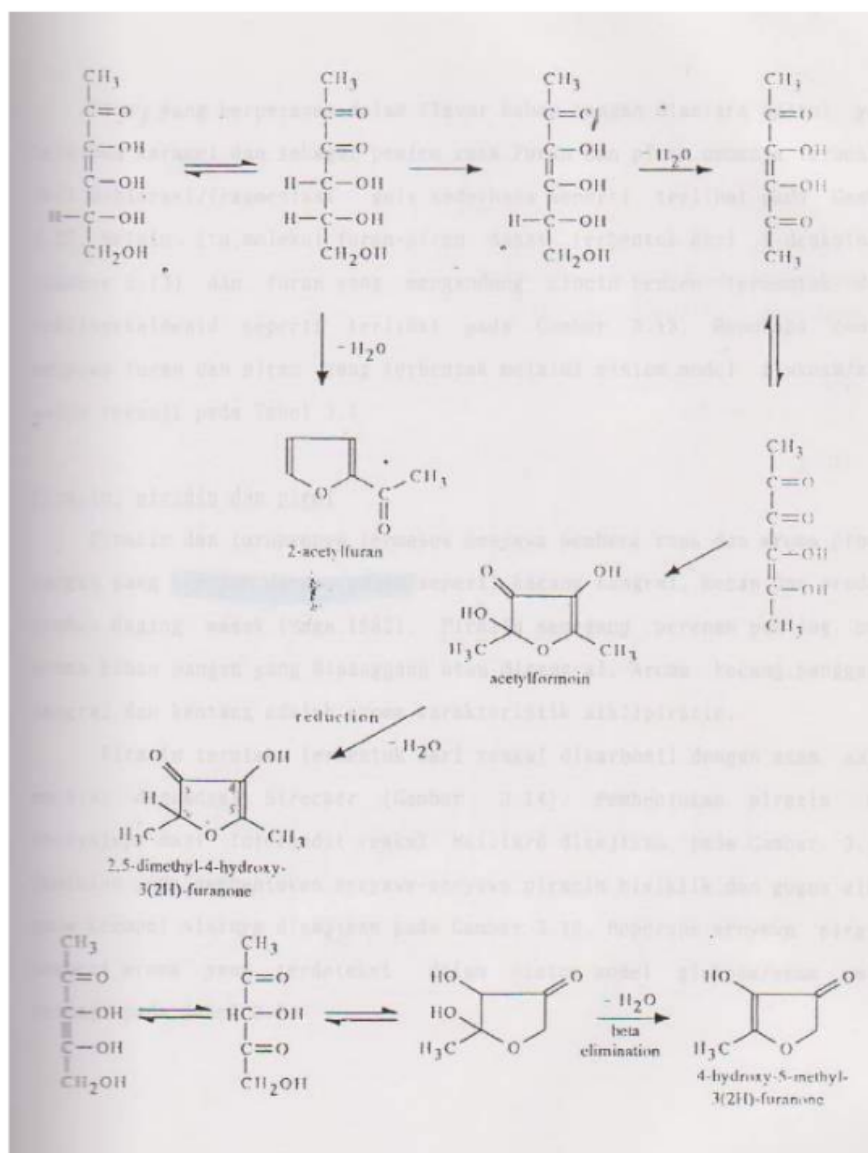
Piran yang berperan dalam flavor bahan pangan diantara maltol yang beraroma karamel dan sebagai pemicu rasa. Furan dan Piran umumnya terbentuk dari dehidrasi/fragmentasi gula sederhana seperti terlihat pada gambar 5.11. Selain itu, molekul furan piran dapat terbentuk dari 3-deoksioson (Gambar 5.12) dan furan yang mengandung cincin benzen terbentuk dari fenilasetaldehid seperti terlihat pada Gambar 5.13.

Pirazin, Piridin, dan pirol

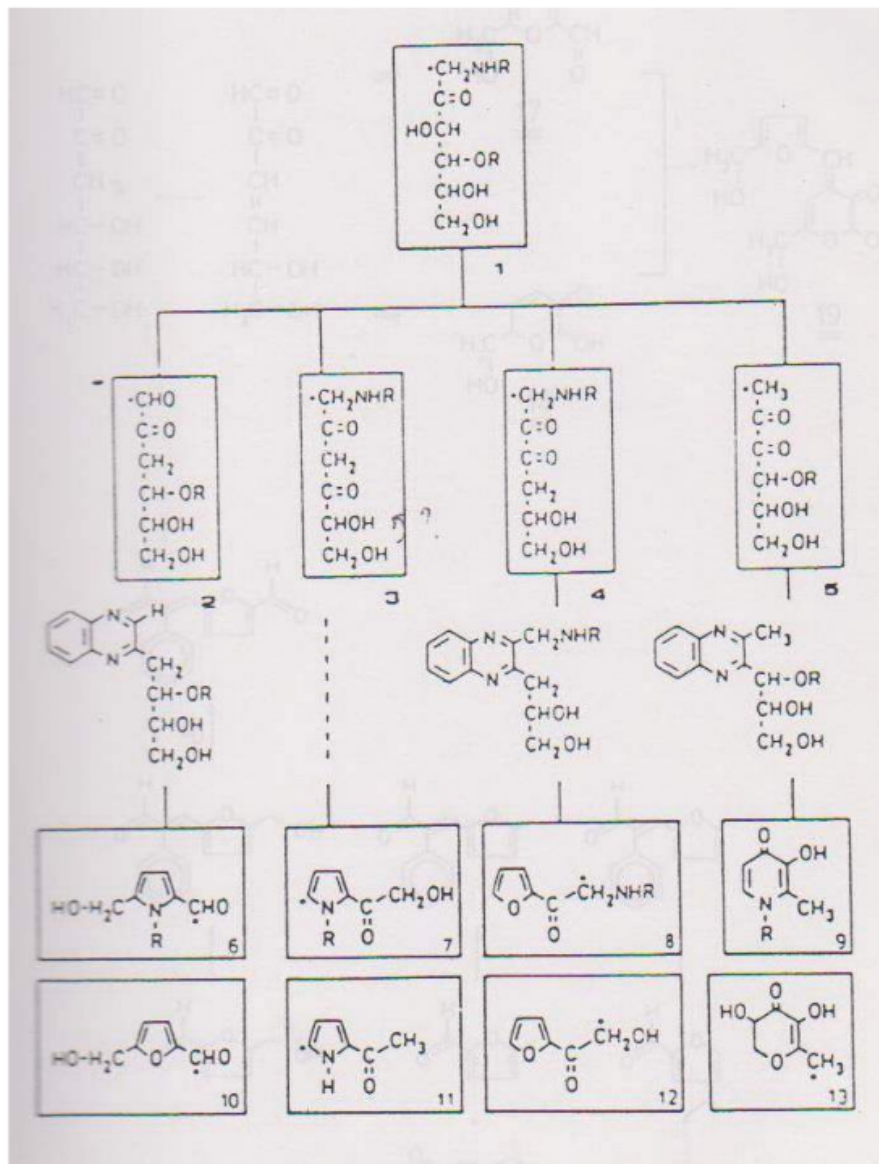
Pirazin dan turunannya termasuk senyawa pemberi rasa dan aroma produk pangan yang terolah dengan panas seperti kacang sangrai, kecap dan produk-produk daging masak. Pirazin memegang peran penting pada aroma bahan pangan yang dipanggang atau disangrai. Aroma kacang, panggang, sangrai dan kentang adalah aroma karakteristik alkilpirazin.

Pirazin terutama terbentuk dari reaksi dikarbonil dengan asam amino melalui degradasi Strecker (Gambar 3.14). Pembentukan pirazin dan derivatnya dari intermedit reaksi Maillard disajikan pada Gambar

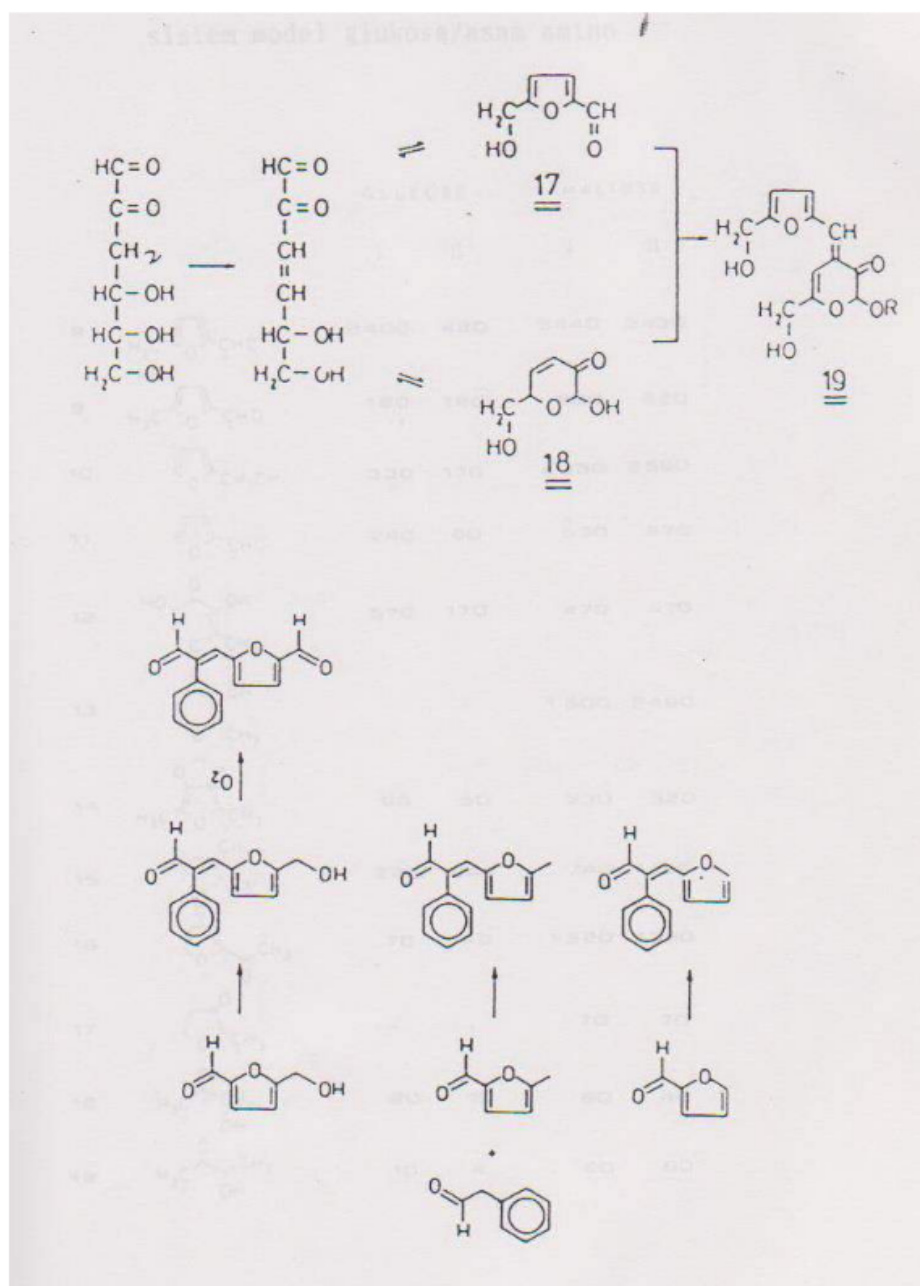
3.15. Demikian juga pembentukan senyawa-senyawa pirazin bisiklik dan gugus alkil pada keempat sisinya disajikan pada Gambar 3.16.



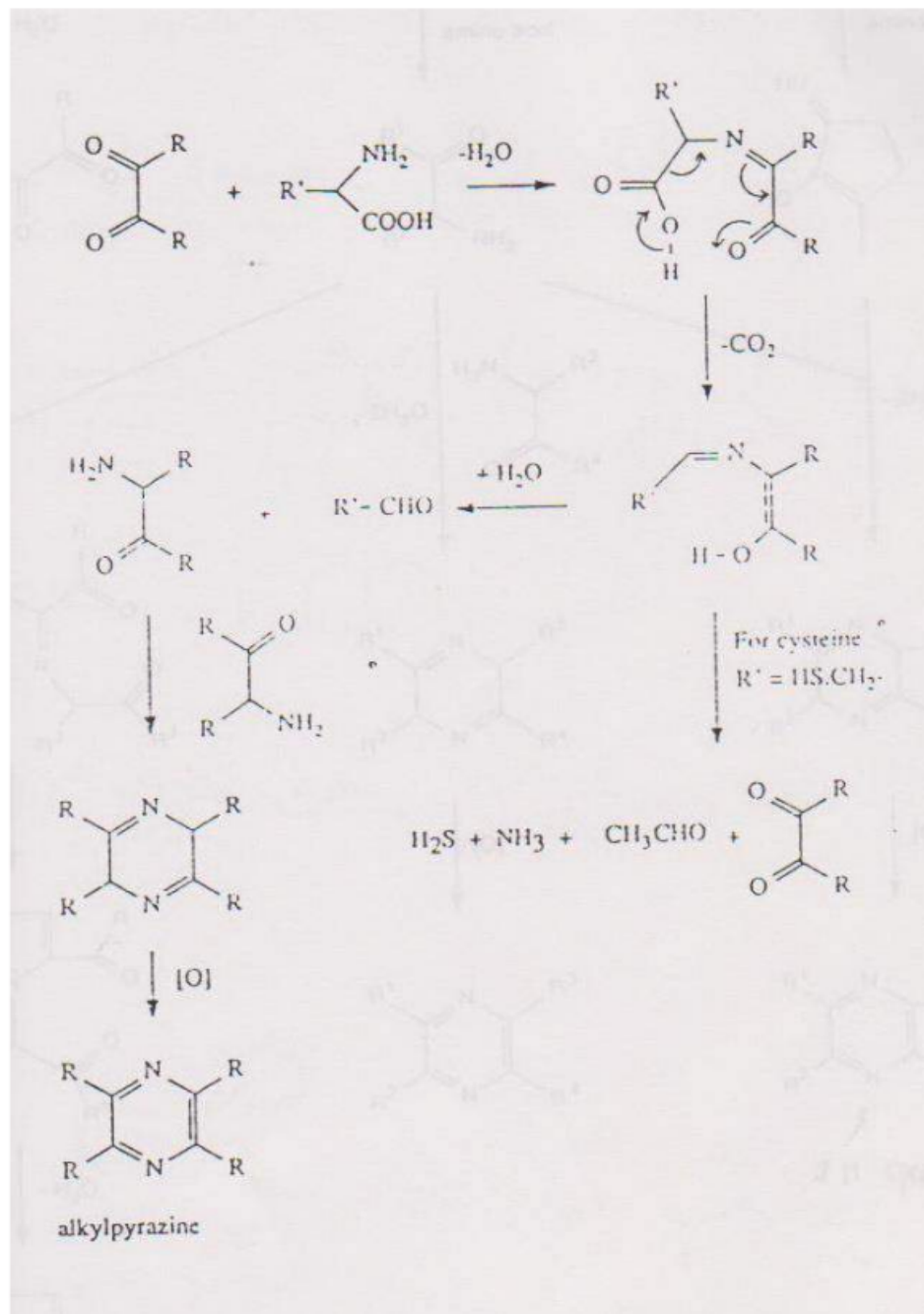
Gambar 5.10 Mekanisme pembentukan 2,5-dimetil-4-hidroksi-3(H)-furanon dan 4-hidroksi-5-metil-3(H)-furanon



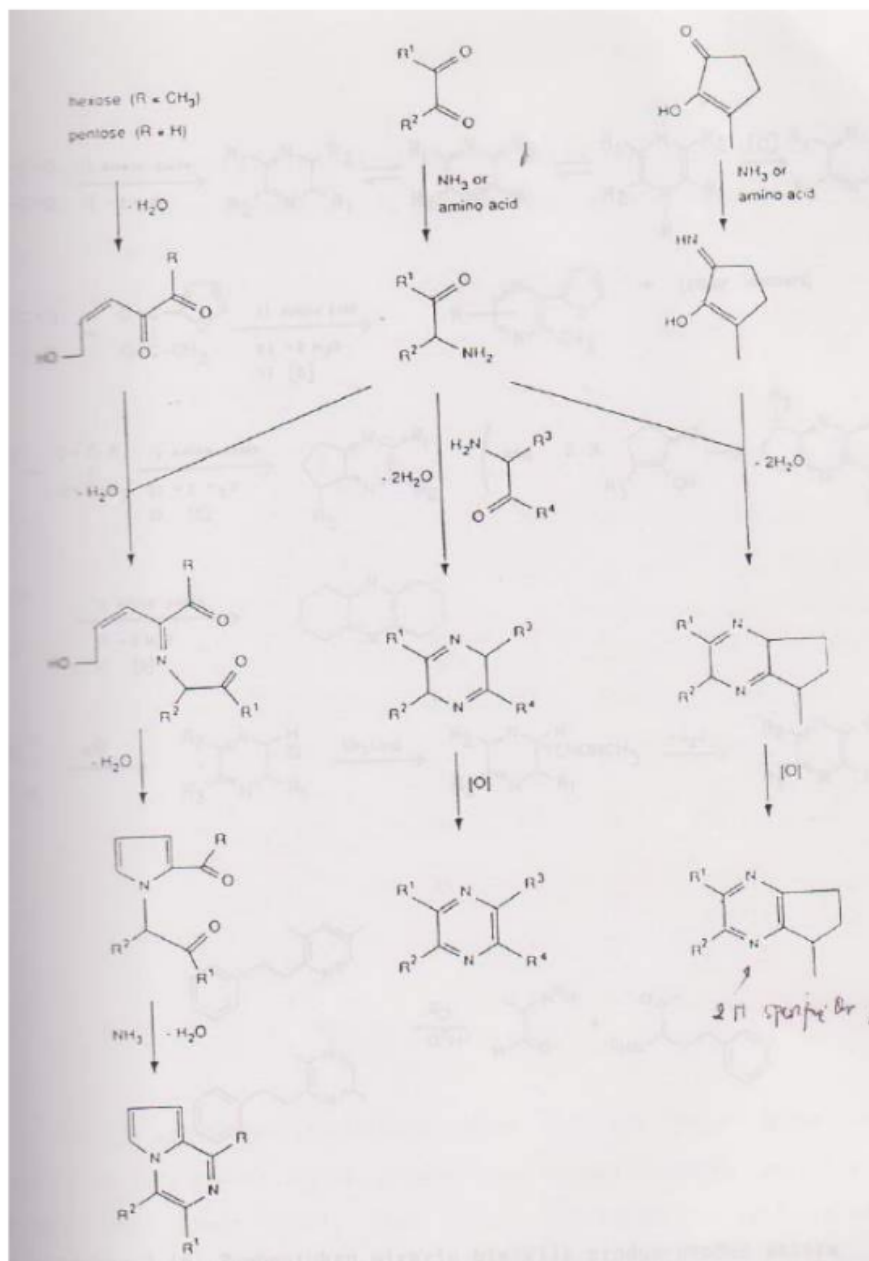
Gambar 5.11 jalur pembentukan furan dan piran dari senyawa Amadori



Gambar 5.12 Pembentukan furan, piran dan furan-piran



Gambar 5.13 Pembentukan senyawa pirazin melalui degradasi Strecker



Gambar 5.14 Pembentukan pirazin dari intermediet reaksi Maillard

Piridin telah teridentifikasi dalam beberapa jenis bahan pangan terolah seperti produk daging, produk susu, kacang-kacangan, serelia dan sayur-sayuran. Akan tetapi peranannya sebagai komponen pemberi aroma belum jelas, yang telah terdeteksi adalah derivatnya seperti alkilpiridin pemberi aroma lemak kambing yang tidak disenangi, 2-metiltetrahidropiridin memberi aroma menyenangkan pada biskuit atau

roti (Tress et al., 1983). Secara umum piridin memiliki aroma hijau, pahit, sepat dan panggang. Piridin dapat terbentuk dari senyawa aldehid berantai panjang jenuh maupun tidak jenuh dengan produk degradasi asam amino seperti asam sulfida dan amoniak.

Pirol dan derivatnya banyak terbentuk dari reaksi Maillard dan telah banyak teridentifikasi dalam bahan pangan terolah dengan panas seperti almon sangrai, roti, barley sangrai, kopi dan daging sapi olahan. Pirol dan derivatnya terbentuk pada hampir seluruh sistem model yang mengandung gula atau produk degradasi gula dan asam amino). Asam amino prolin dan hidroksi prolin merupakan bahan utama pembentukan senyawa pirol dan turunannya. Selain dari prolin, pirol dan derivatnya juga dapat terbentuk dari 3-deoksiosulosa dan heksulosa-3-ena.

Tiofen, Ditian dan Tritian

Tiofen, ditian dan tritian banyak berperan dalam pemberi aroma bahan pangan terutama sebagai pemberi aroma daging. Terdapat 65 komponen senyawa S heterosiklik yang teridentifikasi sebagai pemberi aroma daging. Senyawa S heterosiklik (termasuk tiofen, ditian dan tritian) terbentuk dari asam amino bersulfur. Tritian umumnya terbentuk dari aldehid rantai pendek dengan asam sulfida. Selain dapat terbentuk dari glukosa, tiofen juga dapat terbentuk dari furan dengan asam sulfida.

Oksazol dan Oksazolin

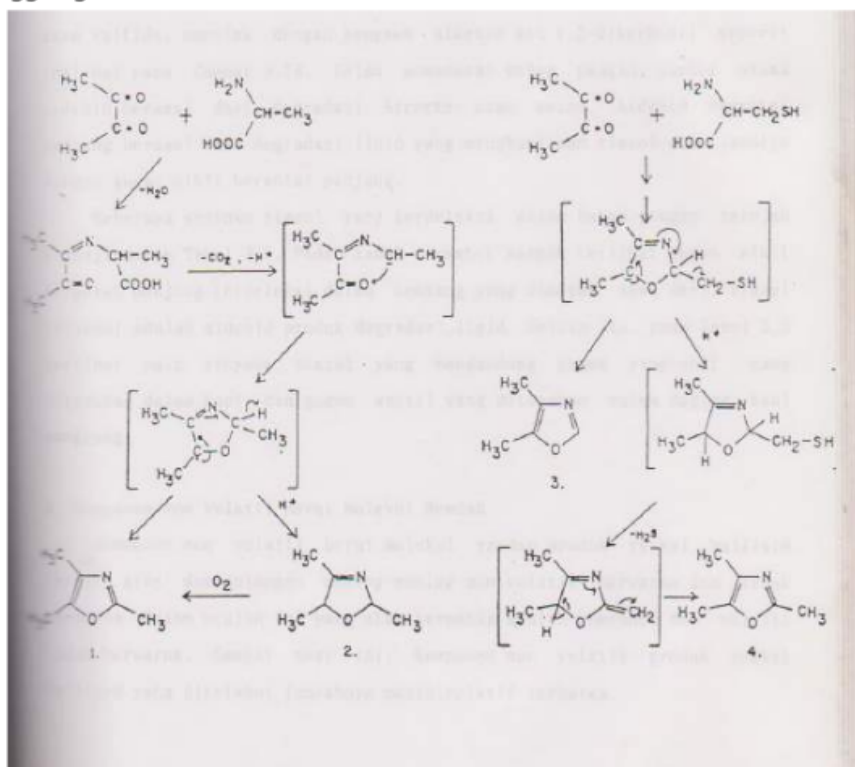
Oksazol relatif baru teridentifikasi dalam bahan pangan yang diolah dengan panas, telah dilaporkan sekitar 30 jenis oksazol ditemukan dalam kopi dan cacao sangrai, dan 9 jenis ditemukan dalam daging yang dimasak (Cooked meat). Oksazolin teridentifikasi dalam daging yang dimasak dan kacang yang disangrai, akan tetapi dalam bahan pangan lain belum teridentifikasi. Senyawa 2,4,5,- trimetil-3-oksazolin teridentifikasi dalam daging yang dimasak. Oksazol dan oksazolin memberikan aroma kayu, musty, hijauan, kacang, manis dan aroma sayuran.

Oksazol dan oksazolin terbentuk dari interaksi antara senyawa karbonil dengan produk degradasi asam amino seperti terlihat pada gambar 3.25. Senyawa 2,4,5-trimetil oksazol, 2,4,5-trimetil-3-oksazolin

dan 4,5-dimetil oksazol terbentuk dari interaksi antara dikarbonil dengan asam amino alanin dan asam amino sistein seperti terlihat pada Gambar 5.16.

Tiazol dan Tiazolin

Struktur tiazol dan tiazolin berhubungan erat dengan oksazol dan oksazolin. Tiazol pertama kali terisolasi dari senyawa volatil bahan pangan pada tahun 1966, dan senyawa ini dinyatakan sebagai komponen penting aroma bahan pangan khususnya dalam bahan pangan yang dipanggang (roasted) atau produk fried seperti kopi dan daging fried. Senyawa 2-alkiltiazol memberikan aroma hijauan, sayuran, kacang, 2,4-dimetil-5-etiltiazol memberikan aroma karakteristik kacang, daging dan panggang.

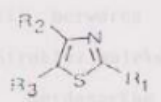


Gambar 5.16 Pembentukan oksazol dan oksazolin dari dikarbonil dengan asam amino (1) dan 2,4,5-trimetil-3-oksazolin (2), 4,5-dimetil oksazol (3) dan 2,3,5-trimetil oksazol (4).

Tiamin (vitamin B1) merupakan sumber utama tiazol dan tiazolin dalam bahan pangan yang terolah dengan panas. Pada reaksi Maillard, tiazol dan tiazolin terbentuk dari interaksi antara asam sulfida, amoniak dengan senyawa aldehid dan 1,2-dikarbonil. Dalam pemanasan bahan pangan, sumber utama aldehid berasal dari degradasi Strecker asam amino. Aldehid berantai panjang berasal dari degradasi lipid yang menghasilkan tiazol dan tiazolin dengan gugus alkil berantai panjang.

Beberapa senyawa tiazol yang terdeteksi dalam bahan pangan terolah tersaji dalam Tabel 5.2. Pada Tabel tersebut nampak terlihat gugus alkil berantai panjang terdeteksi dalam kentang yang dimasak. Asal dari tiazol tersebut adalah aldehid produk degradasi lipid. Selain itu, pada Tabel 5.2 terlihat pula senyawa tiazol yang mengandung gugus propionil yang ditemukan dalam kopi dan gugus asetil yang ditemukan dalam daging babi panggang.

Tabel 5.2 Beberapa jenis senyawa tiazol yang terdeteksi dalam beberapa jenis bahan pangan



R ₁	R ₂	R ₃	Name	Occurrence
H	H	H	thiazole	popcorn, fried chicken, coffee
CH ₃	H	H	2-methylthiazole	roasted peanuts, roasted beef, fried chicken
COCH ₃	H	H	2-acetylthiazole	roasted beef, baked potatoes, canned beef stew
H	CH ₃	H	4-methylthiazole	roasted peanuts, coffee, roasted beef
CH ₃	CH ₃	H	2,4-dimethylthiazole	ground beef, coffee
COC ₂ H ₅	CH ₃	H	2-propionyl-4-methylthiazole	coffee
H	H	CH ₃	5-methylthiazole	roasted peanuts
i-C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃	4,5-dimethyl-2-isobutylthiazole	boiled potatoes, dry red been, fried bacon
i-C ₃ H ₇	CH ₃	CH ₃	4,5-dimethyl-2-isopropylthiazole	boiled potatoes, dry red been
i-C ₃ H ₇	CH ₃	C ₂ H ₅	2-isopropyl-4-methyl-5-ethylthiazole	boiled potatoes, dry red been
H	H	C ₄ H ₉	5-butylthiazole	roasted peanuts
CH ₃	C ₃ H ₉	CH ₃	4-butyl-2,5-dimethylthiazole	roasted peanuts

5.2 Komponen Non Volatil Berat Molekul Rendah

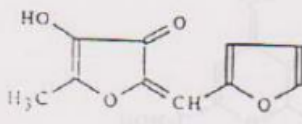
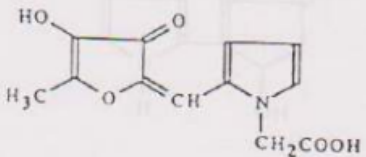
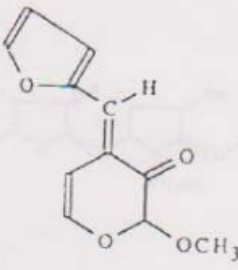
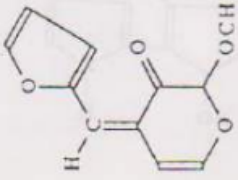
Komponen non volatil berat molekul rendah produk reaksi Maillard terdiri atas dua golongan masing-masing non volatil berwarna dan tidak berwarna. Dalam uraian ini yang akan dibahas adalah komponen non volatil tidak berwarna. Sampai saat ini, komponen non volatil produk reaksi Maillard yang diketahui jumlahnya masih relatif terbatas.

Senyawa-senyawa non volatil berwarna yang telah terisolasi dan teridentifikasi dalam sistem model gula dan asam amino disajikan pada Tabel 5.3. Pada Tabel tersebut nampak terlihat lima dari delapan komponen non volatil berwarna yang teridentifikasi berlangsung dalam sistem aqueous. Struktur molekul senyawa non volatil yang tersaji dalam Tabel 5.3 dideduksi berdasarkan hasil interpretasi data spektra, tidak dikompormasikan melalui sintetik.

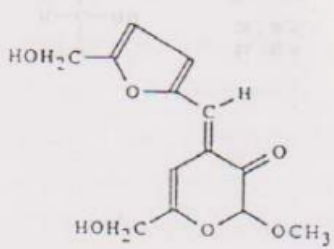
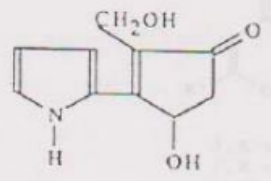
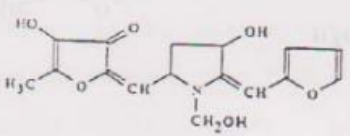
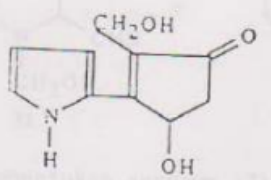
Senyawa berwarna berberat molekul rendah yang dihasilkan reaksi Maillard, dan teridentifikasi 2-furfurilidena-4-hidroksi-5-metil-3(2H)-furanon (senyawa 1). Senyawa tersebut dihasilkan dari reaksi antara silosa dengan isopropilamonium asetat dalam larutan air melalui refluks selama 3 jam.

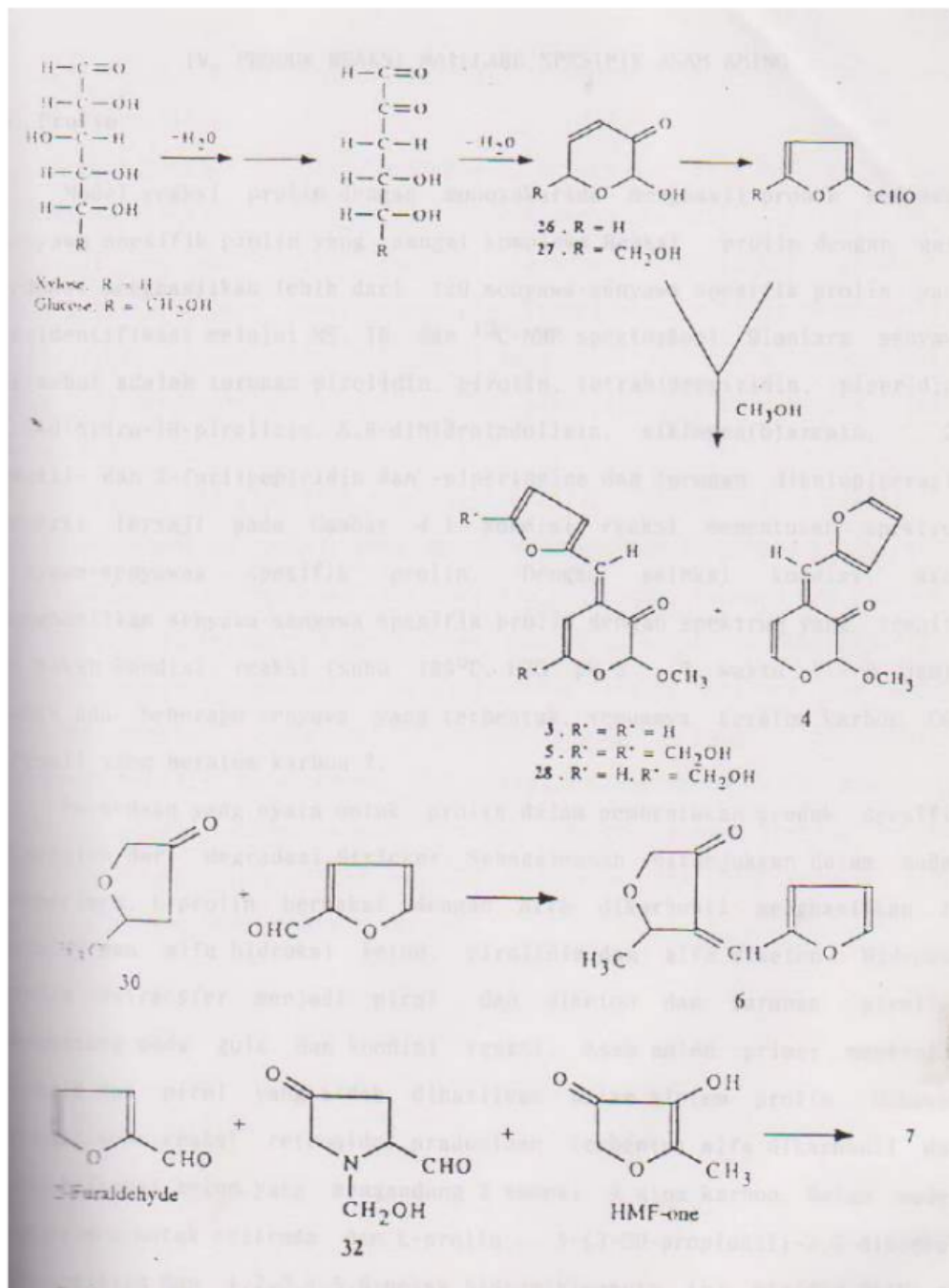
Senyawa (3), (4) dan senyawa (5) terbentuk dari silosa, glukosa dengan jalur reaksi seperti terlihat pada Gambar 5.17. Ketiga senyawa tersebut diproduksi dalam larutan metanol, khusus senyawa (5) terbentuk dari campuran glukosa-glisin dalam larutan metanol. Senyawa (6) dan (7) terbentuk dari campuran silosa-glisin dalam larutan air melalui refluks selama 2 jam. Suatu praduga senyawa (6) terbentuk melalui jalur reaksi seperti terlihat pada Gambar 5.17, sedangkan senyawa (7) terbentuk melalui jalur seperti terlihat pada Gambar 5.17. Senyawa (8) terbentuk dari silosa dan lisin monohidroklorida dalam larutan air pH awal 4.6 melalui refluks selama 2 jam.

Tabel 5.3 Komponen non volatile berwarna yang terisolasi dari system model

Nomor	Warna	Struktur Molekul	Sistem model
1.	Kuning		a. Ksilosa atau arabinosa-glisin atau lisin dalam air b. Ksilosa-glisin dalam air
2.	Orange		Ksilosa-glisin dalam air
3.	Kuning		Ksilosa-glisin dalam metanol
4.	Kuning		Ksilosa-glisin dalam metanol

Lanjutan Tabel 5.3

Nomor	Warna	Struktur Molekul	Sistem model
5.	Kuning		Glukosa-glisin dalam metanol
6.	Kuning kemerahan		Ksilosa-glisin dalam air
7.	Kuning		Ksilosa-glisin dalam air
8.	Kuning		Ksilosa-glisin dalam air



Gambar 5.17 Jalur pembentukan senyawa (3), (4), (5), (6) dan (7)

5.3 RANGKUMAN

Komponen flavor yang terbentuk melalui reaksi Maillard termasuk komponen volatil produk reaksi Maillard. Komponen ini dapat diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok atas dasar reaktan awalnya: 1) Produk dehidrasi/fragmentasi gula sederhana, 2) Produk degradasi asam amino sederhana, 3) Produk senyawa volatil hasil interaksi lanjut.

Produk senyawa volatil hasil interaksi lanjut seperti pirol, piridin, imidazol, pirazin, Senyawa-senyawa volatil yang terbentuk melalui reaksi Maillard secara kimia dapat dikelompokkan ke dalam tiga golongan masing-masing golongan senyawa alifatik, alisiklik dan golongan senyawa heterosiklik. Komponen non volatil berat molekul rendah produk reaksi Maillard terdiri atas dua golongan masing-masing non volatil berwarna dan tidak berwarna.

5.4 LATIHAN SOAL

1. Sebutkan tiga kelompok Komponen flavor produk reaksi Maillard yang diklasifikasikan berdasarkan? reaktan awalnya
2. Komponen bahan pangan apa sebagai sumber utama pembentukan senyawa tiazol dan tiazolin.
3. Oksazol dan oksazolin terbentuk dari interaksi antara senyawa apa?
4. Sebutkan tiga senyawa yang banyak berperan dalam pemberi aroma bahan pangan terutama sebagai pemberi aroma daging
5. Sebutkan senyawa yang termasuk golongan furan dan piran sebagai komponen pemberi flavor pada bahan pangan

1

5.5 UMPAN BALIK DAN TINDAK LANJUT

Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan V.

$$\text{Rumus: } \frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$$

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan⁴ pada bab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.



PRODUK REAKSI MAILLARD DARI ASAM AMINO SPESIFIK

6.1 PROLIN

Sistem model prolin dengan monosakarida menghasilkan produk senyawa-senyawa spesifik prolin yang sangat kompleks . Reaksi prolin dengan gula reduksi menghasilkan lebih dari 120 senyawa-senyawa spesifik prolin yang teridentifikasi melalui MS, IR dan 13 C-NMR spektroskopi. Di antara senyawa tersebut adalah turunan pirolidin, pirolin, tetrahidropiridin, piperidin, 2,3-dihidro-1H-pirolizin, 5,6-dihidroindolizin, siklopen (b)azepin, 2-asetil dan 2-furilpepiridin dan – piperideina dan turunan diketopiperazin. Kondisi reaksi menentukan spektrum senyawa-senyawa spesifik prolin. Dengan seleksi kondisi, akan menghasilkan senyawa-senyawa spesifik prolin dengan spektrum yang sempit. Pada kondisi reaksi (suhu 100°C, H₂O, pH 3-7, waktu 1-2 jam), hanya ada beberapa senyawa yang terbentuk, semuanya beratom karbon C₆, kecuali yang beratom karbon 7.

Perbedaan yang nyata untuk prolin dalam pembentukan produk spesifik diperoleh dari degradasi Strecker. Sebagaimana ditunjukkan dalam model eksperimen, L-prolin bereaksi dengan alfa dikarbonil menghasilkan 1-pirolin dan alfa hidroksi keton, pirolidin dan alfa diketon. Hidroksi prolin ditransfer menjadi pirol dan diketon dan turunan pirolil, bergantung pada gula dan kondisi reaksi. Asam amino primer membentuk pirazin dan pirol yang tidak dihasilkan dalam sistem prolin.

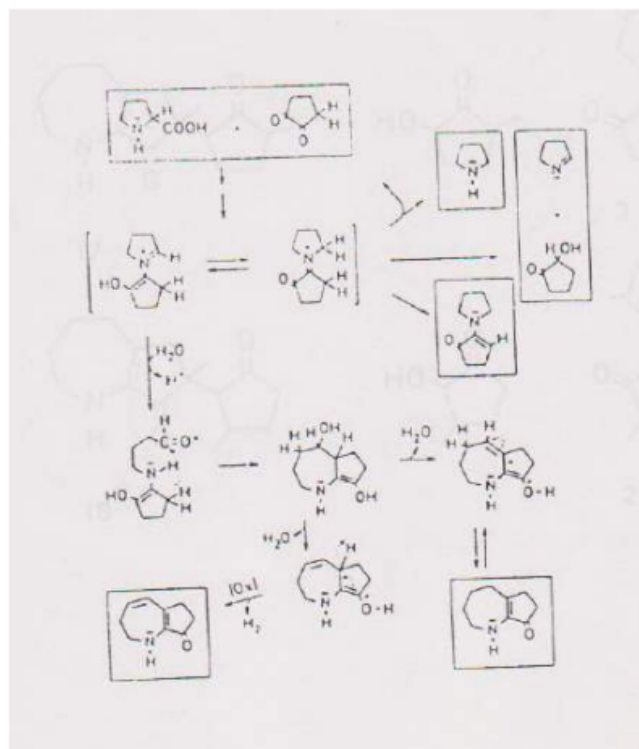
Pada suhu elevasi suhu reaksi retroaldol pradominan terbentuk alfa dikarbonil dan alfa hidroksi keton yang mengandung 2 sampai 4 atom karbon. Dalam model eksperimen untuk eritrosa dan L-prolin, 5-(3-OH-propionil)-2,3-dihidro-1H-pirolizin dan 1,2,3,4,5,6-heksa hidrosiklopenta (b) piridin-7 (1H)-on dapat teridentifikasi. Kedua senyawa tersebut terbentuk dari 3-deoksioson dan produk retro aldol.

Selama reaksi Maillard berlangsung prolin dan gula reduksi diubah menjadi senyawa reaktif tersebut selanjutnya mengalami perubahan menjadi furan, furanon, gama piranon atau terdegradasi melalui retro aldol menghasilkan senyawa alfa dikarbonil yang rekatif. Prolin dengan alfa dikarbonil menghasilkan 1-pirolin dan pirolidin.

Senyawa-senyawa yang terbentuk dari prolin dengan beberapa monosakarida termasuk turunan 2,3-dihidro-1H-pirolizin. Terdapat 20 jenis senyawa terbentuk dalam jumlah yang berbeda yang tergantung pada jenis monosakaridanya. Pembentukan 2,3-dihidro-1H-pirolizin melalui degradasi Stricker prolin. Alfa dikarbonil dan alfa hidroksi karbonil merupakan bentuk intermediat yang ditransformasikan melalui adisi Michael atau kondensasi aldol dan dehidrasi menjadi senyawa karakteristik 2,3-dihidro-1H-pirolizin.

Alfa dikarbonil (dan 3-deoksioson) dan L-prolin berhubungan dengan intermediat ion iminium dengan pemecahan hidrolitik, kondensasi dan dehidrasi dibentuk tautometrik tetrahidropiridin yang kemudian tereduksi menjadi senyawa yang berhubungan dengan piperidin atau terhidrogenasi menjadi piridin. Komponen utama yang terbentuk melalui jalur 3-deoksioson.

Pembentukan senyawa-senyawa turunan pirolidinilsiklo pentenon dan siklopen(b)azepin tersaji pada Gambar 6.1. Siklik enolon dan prolin terbentuk melalui intermediat iminium karboksilat yang dengan dekarboksilasi melalui ion iminium reaktif yang berlanjut melalui degradasi menjadi pirolidin dan siklik enolon atau menjadi 1-pirolin dan siklik alfa hidroksi keton.



Gambar 6.1 Skema pembentukan siklofen (b) azepin

6.2 SISTEIN

Produk reaksi Maillard spesifik sistein yang akan terurai adalah produk reaksi Maillard sistem sistein-monosakarida. Dalam sistem model sistein-xilosa melalui degradasi Strecker, mercaptoasetaldehid bertanda terdekomposisi menjadi asetaldehid dan H_2S , 3,5-dimetil-1,2,4,5-tritolan dan tialdin. Reaksi ini juga menghasilkan 3,6-dimetil-1,2,4,5-tetradian, 1,2,3-tritian-5-sikloheptana. Dekarboksilasi sistein menghasilkan senyawa sisteamin.

Komponen utama terbentuk pada sistem sistein/xilosa pada suhu 180°C ; H_2O / pH 5) adalah 2- dan 3- mercaptopropionat, furan dan tiopen asam karboksilat, yang jumlahnya mencapai 40-80% dari produk volatil reaksi Maillard. Furan dan tiopen asam karboksilat dibentuk melalui 3-deoksioson. Dengan dehidrasi, adisi H_2O (atau melalui degradasi

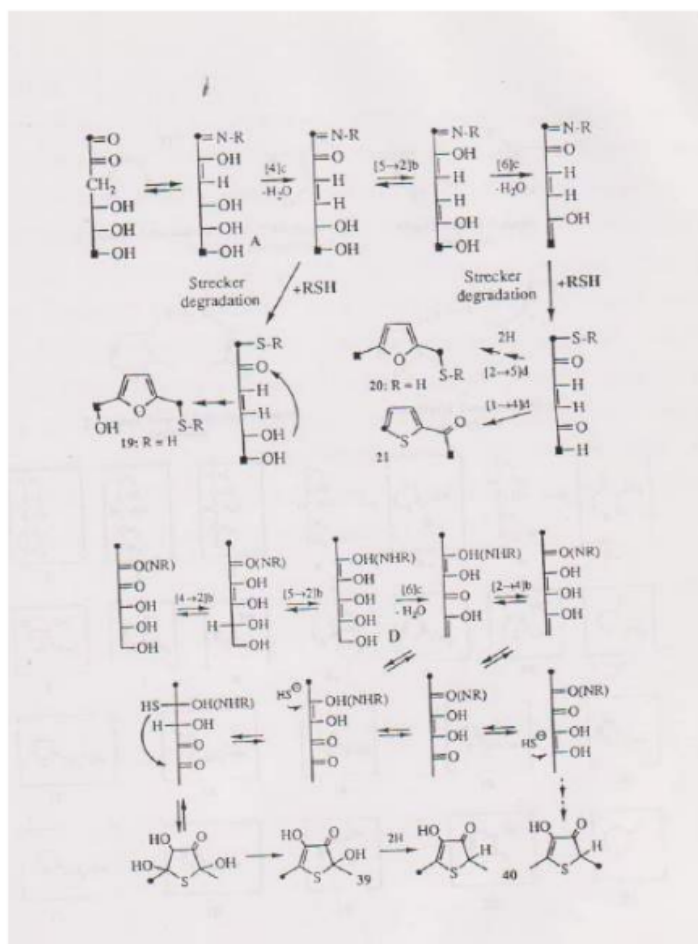
Strecker Sistein) dan reduksi gugus karbonil menghasilkan furfuralmercaptan; 2-hidroksimetil-4-tiolanon yang dapat terbentuk melalui rute yang sama. Senyawa terakhir tersebut merupakan senyawa pertama terdeteksi sebagai produk reaksi Maillard spesifik sistein. Hal yang sama juga teridentifikasi dalam sistem sistein/ramnosa.

Produk sistem model sistein/pentosa yang melalui 1-deoksipentoson dipengaruhi oleh pH. Senyawa 2-metil-3-tiolanon merupakan komponen senyawa yang berkontribusi dalam roasted (penyangraian) kopi dan 2-metil-3-mercaptotiopen merupakan komponen penyangraian///pemasakan (cooked) beef. Dua senyawa tianon teridentifikasi untuk pertama kali sebagai produk reaksi Maillard spesifik sistein, masing-masing 2-metil-4-tianon dan 4-tianon. Senyawa-senyawa ini juga terdeteksi dalam sistem sistein glukosa, eritrosa dan asam askorbat.

Pada kondisi reaksi terpilih (suhu 180°C; H₂O), norfuraneol mengalami transformasi menjadi 2-metil-3-mercaptotiopen dan 2-metil tiopen melalui 4-hidroksi-5-metil-(2H)-tiopenon dan 2-metil-3-(2H)-tiopenon. Norfuraneol merupakan senyawa aktif metilen yang dibawah kondensasi aldol dengan karbonil membentuk produk non volatil berwarna, 2-mercaptopropinat dapat terbentuk dari mercaptoketon melalui oksidatif cleavage.

Pada sistem model sistein/heksosa, glukosa redukton, asetilformoin, furaneol dan siklotena terdeteksi sebagai komponen mayor yang mengindikasikan terjadi melalui jalur 1-deoksioson dengan kondisi pH 5-7. Komponen utama yang teridentifikasi melalui MS, IR dan H-NMR-spektroskopi adalah 4 hidroksi-2,5-dimetil-3 (2H) tiopenon. Senyawa ini kurang reaktif dibandingkan dengan turunan norfuraneol. Tiofuraneol juga dibentuk dari glukosa/redukton, asetilformoin dan furaneol. 2-asetil-4-tiolanon dan 5-hidroksimetil-2-metil-3-tiolanon teridentifikasi untuk pertama kali sebagai produk spesifik sistein, 2-asetil-4-tiolanon dibentuk pada pH 3 yang mengindikasikan 3-deoksioson sebagai prekurornya. Pada percobaan menggunakan glukosa dan ramnosa bertanda (1-¹³C) dan (6-¹³C) menunjukan glukosa C-1 dalam gugus metil yang menggambarkan mayor senyawa sulfur terbentuk. Jalur pembentukan 2-

metil-3-mercaptotiopen dalam sistem glukosa dan arabinosa/sistein tersaji pada Gambar 6.2.

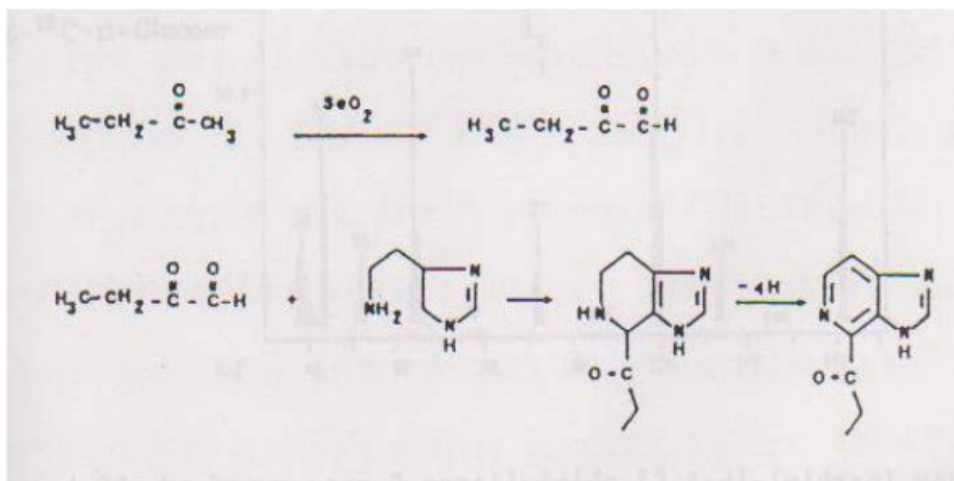


Gambar 6.2 Pembentukan furfural mercaptan dan tiofuraneol dalam sistem glukosa/sistein (d-siklisasi)

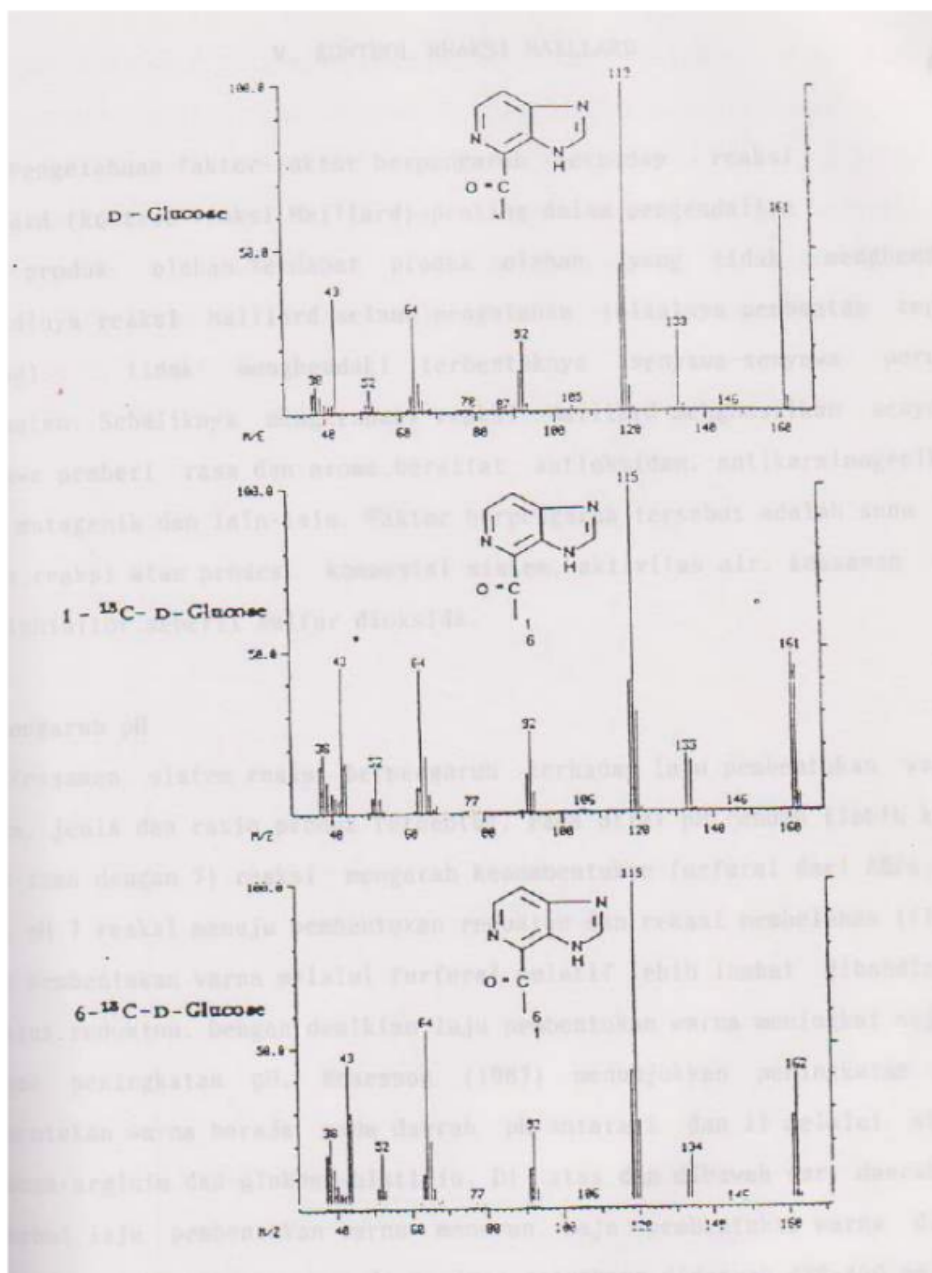
6.3 HISTIDIN

Asam amino histidin mengandung cincin imidazol. Cincin imidazol tersebut merupakan produk spesifik reaksi Maillard dari asam amino histidin melalui reaksi degradasi Strecker, oksidasi dan siklisasi. Senyawa akhir yang terbentuk adalah 2-asetilpirido-[3,4-d]-imidazol. Senyawa-senyawa pirodo-[3,4-d]-imidazol yang terbentuk melalui reaksi antara glukosa dengan histidin. Senyawa 2-propionilpirido-[3,4-d]-imidazol

diduga senyawa ini terbentuk dari reaksi 2-butanon-1-al dengan histidin seperti terlihat pada Gambar 6.3. Dengan menggunakan glukosa bertanda pada atom karbon 1- ^{13}C dan atom karbon 6- ^{13}C memberi petunjuk gugus asetil berasal dari glukosa seperti terlihat pada gambar 4.23.



Gambar 6.3 Pembentukan 2-propionilpirido dari reaksi antara 2-butanon-1-al dengan histidin



Gambar 6.4 Spektrum masa 2-asetilpirido-[3, 4-d]-imidazol yang terbentuk melalui reaksi histidin dengan D-glukosa bertanda ($1\text{-}^{13}\text{C}$ dan $6\text{-}^{13}\text{C}$).

6.4 SERIN DAN TREONIN

Aroma sangrai sangat cocok untuk meningkatkan produk aroma konvensional. Aroma sangrai dapat dihasilkan dengan mudah melalui reaksi antara protein dengan gula atau asam lemak pada kondisi penyangraian. Aroma sangrai ini dapat diperoleh dengan mereaksikan antara serin dan treonin dengan sukrosa pada kondisi penyangraian kopi. Aroma ini juga terjadi pada waktu penyangraian kopi hijau. Komponen-komponen yang teridentifikasi pada aroma sangrai dapat digolongkan menjadi beberapa golongan, yaitu (a) furan dan furanon, (b) pirol, (c) pirazin, (d) piridin, dan (e) oxazol.

a. Furan dan Furanon

Furan dan furanon merupakan produk degradasi gula pada reaksi Maillard dan pada pirolisis. Baltes dan Bochman (1987a) melakukan penelitian dengan mereaksikan antara treonin, serin dan sukrosa yang dipanaskan pada suhu sampai 220°C.

Furan adalah komponen yang sangat penting pada aroma kopi sangrai. Lebih dari 110 furan dan 13 furanon yang sudah teridentifikasi. Diantara komponen volatil yang teridentifikasi, maka terdapat 10 turunan furan yang mengandung gugus vinil atau propenil pada posisi dua. Sebab terjadinya konjugasi ikatan rangkap pada cincin furan adalah karena sistem ini adalah sistem aromatik. Fragmentasinya sangat mirip dengan isometrik fenol. Pada Tabel 6.1 ditunjukkan beberapa komponen alkil- dan alkenil furan.

Tabel 6.1. Alkil-dan Alkenilfuran

Komponen	Komponen
2-Metylfuran	Methyl-2n-propylfuran
3-Metylfuran	2n-Pentylfuran
2,5-Dimetylfuran	2-Vinylfuran
2,4-Dimetylfuran	5-Methyl-2-vinylfuran
2,3-Dimetylfuran	3-Vinylfuran
2-Ethylfuran	3-Methyl-2-vinylfuran
2-Ethyl-5-methylfuran	2-Propenylfuran
2-Ethyl-methylfuran	4-Methyl-2-vinylfuran
2,3,5-Trimetylfuran	Dinethyl-2-vinylfuran
2-Ethyl-methylfuran	5-Methyl-2-propenylfuran (Cis)
2,3,4-Trimetylfuran	5-Methyl-2-propenylfuran (trans)
5-Methyl-2n-propylfuran	2-(2-Methyl-1-propenyl)furan (2-Isobutenylfuran)
2n-Butylfuran	

Selain itu ada furanilalkanon, furanaldehida, furanilalkenon, dan furanilakenal (Tabel 6.2). Turunan furfurilalkohol, furfurilalkonoat dan alkil furoat (Tabel 6.3) dan 13 furanon (Tabel 6.4). Furanon adalah produk reaksi Maillard. Salah satu yang penting dari furanon adalah 4-hidroksi-2,5-dimetil-3[2H]furanon yang berperan sebagai pineapple furanon. Selain itu ada 2-furanon yang merupakan lakton yang diidentifikasi sebagai γ -butirolakton. Ada juga termasuk kelompok furanil atau furfurilfuran (Tabel 6.5)

Tabel 6.2. Furanilalkanon, furanaldehida, furanilalkenon dan furanilakenal

Komponen	Komponen
2-Acetylfuran	1-(5-Methyl-2-Furanyl)1,2-propadion
1-(2-Furanyl)2-propanon	1-(5-Methyl-2-furanyl)1,2-butadion
1-(2-Furanyl)1-propanon	1-(Methyl-2-Furanyl)1,2-propadion
1-(5-Methyl-2-furanyl)2-propanon	2-Furfural
1-(2-Furanyl)2-butanon	3-Methyl-2-Furfural
2-(Acetyl-5-methylfuran	4-Methyl-2-Furfural
1-(2-furanyl)3-butanon	5-Methyl-2-Furfural
1-(2-Furanyl)1-butanon	Dimethyl-2-Furfural
1-(5-Methyl-2-Furanyl)2-butanon	5-Ethyl-2-Furfural
1-(5-Methyl-2-furanyl)1-Propanon	1-(2-Furanyl)1-propen-3-al
1-(2-Furanyl)-3-pentanon	1-(5-Methyl-2-Furanyl)1-propen-3-al
1-(5-Methyl-2-Furanyl)3-butanon	1-(2-Furanyl)1-buten-3-on (trans)
1-(2-Furanyl)-1,2-propadion	1-(2-Furanyl)1-buten-3-on (cis)
1-(5-Methyl-2-furanyl)4-pentanon	1-(5-Methyl-2-Furanyl)1-buten-3-on

Tabel 6.3. Furfuril alkohol, furfuril alkanoat dan alkil furoat

Komponen	Komponen
4(3)-Methyl-2-Furfurylalkohol	Furfurylethanoat
2-Furfurylalkohol	Furfurylpropanoat
5-Methyl-2-furfurylalkohol	Methylfuroat
Hydroxymethylfurfural	Ethylfuroat
Furfurylmethanoat	(5-Methyl)-methylfuroat

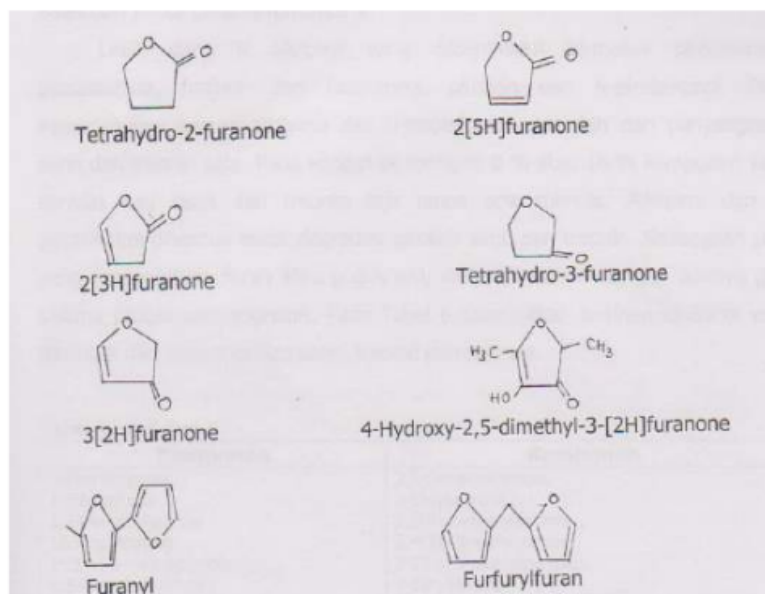
Tabel 6.4. Furanon

Komponen	Komponen
2-Methyltetrahydro-3-furanon	3,5-Dimethyl-2[5H]-furanon
2-Ethyltetrahydro-3-furanon	5-Methyl-2[5H]-furanon
2-Methyl-3[2H]-furanon	2[5H]-furanon
5-Methyl-2[3H]-furanon	3,4,5-Trimethyl-2[5H]-furanon
2,5-Dimethyl-3[2H]-furanon	3,4-Dimethyl-2[5H]-furanon
3-Methyltetrahydro-2-furanon	4-Hidroxy-2,5-dimethyl-3[2H]-furanon
Tetrahydro-2-furanon	

Tabel 6.5. 3-(2-Furanyl)Furan dan 2-(2-Furfuril)furan

Komponen	Komponen
2-(2-Furanyl)furan	2(3 or 4-Methyl-2-furfuryl)furan
2-(2-Furfuryl)furan	5-Methyl-2-(5-methyl-2-furfuryl)furan
2-(5-Methyl-2-furanyl)furan	2-(2-Furfuryl)-5-furfural
2-(5-Methyl-2-furfuryl)furan	2-95-Methyl-2-furfuryl)5-furfural

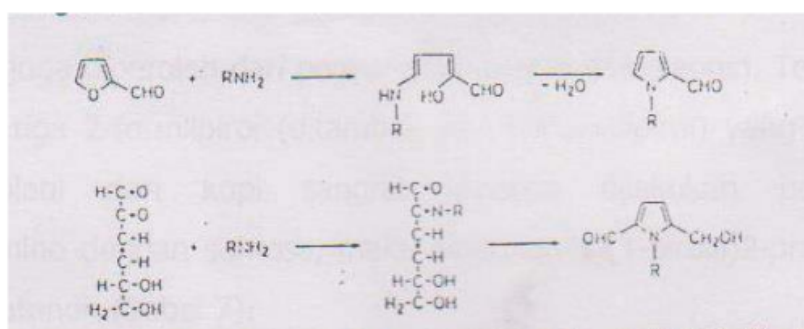
Di bawah ini ada beberapa contoh produk reaksi Maillard yang khas dari serin dan treonin yang termasuk turunan furan dan furanon (Gambar 6.5)



Gambar 6.5. Beberapa contoh produk reaksi Maillard dari serin dan treonin yang termasuk furan dan furanon

b. Pirol

Pirol merupakan aroma yang sangat penting di dalam bahan pangan. Ada dua cara kemungkinan pembentukan pirol pada reaksi Maillard (Gambar 6.6), yaitu (1) reaksi antara furan dengan amina atau asam amino, dan (2) reaksi antara 3-deoksiglukoson dengan asam amino (Baltes dan Bochman, 1987b)



Gambar 6.6. Mekanisme pembentukan pirol dengan reaksi Maillard

Pirolisis serin dan treonin berkontribusi untuk pembentukan pirol. Aroma pirol seperti aroma piridin atau *burnt* (alkil- atau asilpirol) dan aroma *pleasant smell* dan jamur pada N-furfurilpirol.

Lebih dari 70 alkilpirol yang diidentifikasi termasuk pirolalkanon, pirolaldehida, furfuryl- dan furanilpirol, pirolizin dan N-pirolakanol. Pada kenyataannya semua alkilpirol dan N-pirolakanol diperoleh dari penyangraian serin dan treonin saja. Pada kondisi ini terdapat 8 % atau 16 % komponen yang berasal dari serin dan treonin saja tanpa ada sukrosa. Alkilpirol dan N-pirolakanol dibentuk lewat degradasi pirolisis serin dan treonin. Sedangkan pirol yang mengandung furan atau gugus asil, maka dihasilkan dengan adanya gula selama proses penyangraian. Pada Pabel 6.6 ditunjukkan turunan alkilpirol yang dibentuk dari penyangraian serin, treonin dan sukrosa.

Tabel 6.6 Alkilpirol

Komponen	Komponen
1-Methylpyrrole	2,5-Dimethylpyrrole
1-Ethylpyrrole	2-Ethylpyrrole
1,2-Dimethylpyrrole	2,3(4)-Dimethylpyrrole
1n-Propylpyrrole	2,4(3)-Dimethylpyrrole
1-ethyl-2-methylpyrrole	2-Ethyl-5-methylpyrrole
1,3-Dimethylpyrrole	3-ethylpyrrole
1-Ethyl-3-methylpyrrole	2,3(4),5-Trimethylpyrrole
Trimethylpyrrole	2-Ethyl-4(3)methylpyrrole
2-Methyl-1n-propylpyrrole	2-Ethyl-3(4)-methylpyrrole
Trimethylpyrrole	2n-propylpyrrole
1-Ethyl-2,5-dimethylpyrrole	2-Ethyl-di-methylpyrrole
1-Ethyl-2,3(4)-dimethylpyrrole	2-Ethyl-di-methylpyrrole
1n-Pentylpyrrole	5-methyl-2n-propylpyrrole
1-isopentylpyrrole	Ethyltrimethyl or Diethylmethylpyrrole
2,5-Dimethyl-1n-propylpyrrole	Ethylmethylpyrrole
2,3(4)-Dimethyl-1n-propylpyrrole	4(3)-methyl-2n-propylpyrrole
Pyrrole	3-Ethylmethylpyrrole
2-Methylpyrrole	3-Ethyl-di-methylpyrrole
3-Methylpyrrole	3n-propylpyrrole

Asilpirol juga diperoleh dari penyangraian serin dan treonin. Terdapat lima 2-asilpirol dan tiga 2-formilpirol (ditambah dua propionilpirol) yang merupakan komponen volatil dari kopi sangrai.

Apabila dilakukan penyangraian hidroksiasamamino dengan sukrosa, maka diperoleh 1-(1-pirolil)2-propanon dan 1-(1-pirolil)2-butanon (Tabel 6.7).

Pada Tabel 6. 7 terdapat dua 5-asil-2,3-dihidro [2H]-pirozin, yaitu satu dari turunan asetil dan yang lainnya merupakan turunan formil. Pembentukan arosa dari reaksi sukrosa dengan treonin, sedangkan pembentukan formil dari reaksi sukrosa dengan serin pada kondisi penyangraian. Pembentukan komponen-komponen ini melalui degradasi pirolitik hidroksi asam amino dengan 6 fragmen karbon dari gula.

Tabel 6.7. Pirolalkanon, piroladehida, dan 2,3-dihidro[1H]-pirolizin

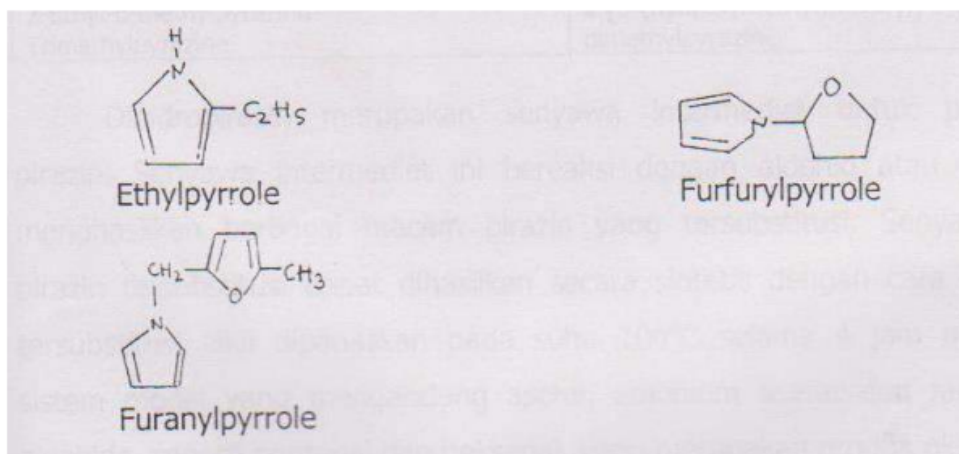
Komponen	Komponen
2-Acetyl-1-methylpyrrole	2-Acetyl-5-methylpyrrole
1-(1-Pyrrolyl)-2-propanone	5-Methyl-2-pyrrolaldehyde
1-(1-pyrrolyl)-2-butanone	4(3)-Methyl-2-pyrrolaldehyde
2-Acetylpyrrole	2-Acetyl-2,3-dihydro[1H]-pyrrolizine
2-Pyrrolaldehyde	5-Acetyl-2,3-dihydro[1H]-pyrrolizine
1-(2-Pyrrolyl)1-propanone	5-Formyl-2,3-dihydro[1H]-pyrrolizine
2-Acetyl-4(3)-methylpyrrole	

Pada Tabel 6.8 diidentifikasi senyawa pirol yang mengandung furan. Ada dua senyawa penting yang merupakan aroma kopi, yaitu furfurylpirol dan furanilpirol. Senyawa-senyawa ini tidak dapat dibentuk hanya dengan penyangraian serin dan treonin tanpa adanya sukrosa.

Tabel 6.8. 1-(2-Furfuryl)pirol dan 1-(2-furanil)pirol

Komponen	Komponen
1-(3-or 4-Methyl-2-furfuryl)pyrrole	1-(2-Furfuryl)2-acetylpyrrole
1-(2-Furfuryl)pyrrole	1-(Methyl-2-furfuryl)2-acetylpyrrole
1-(5-Methyl-2-furfuryl)pyrrole	Methyl-1-(2-furfuryl)2-pyrroaldehyde
1-(2-Furfuryl)2-pyrroaldehyde	1-(2-Furanyl)pyrrole

Di bawah ini ada beberapa contoh yang merupakan turunan dari pirol dari reaksi antara serin, treonin dan sukrosa (Gambar 6.7)



Gambar 6.7. Beberapa contoh produk reaksi Maillard dari serin dan treonin yang termasuk turunan pirol

Selama reaksi antara treonin, serin dan sukrosa pada kondisi penyangraian juga terdapat sembilan 1-(pirolil)alkanol yang menyebabkan aroma *unpleasant burnt smell*. Selain itu Chen dan Ho (1998) mengidentifikasi (2-furfuril)-1H-pirol dan 1-(2-furfuril)pirol-2-karboksaldehida dari penyangraian serin dan ribosa yang menghasilkan aroma popcorn.

c. Pirazin

Pirazin adalah komponen yang berkontribusi untuk menghasilkan aroma ketika suatu bahan pangan dipanaskan pada suhu tinggi dan kering atau dengan disangrai. A-aminokarbonil yang dihasilkan dari reaksi antara senyawa dikarbonil dengan asam amino atau amina selama degradasi Strecker---merupakan prekursor pirazin. Selain itu, pirazin juga dapat dihasilkan dari proses pirolisis β -hidroksi asam amino, seperti serin dan treonin. Pirazin dapat terbentuk tanpa ada gula pereduksi. Ada beberapa senyawa turunan pirazin yang dapat dihasilkan dari reaksi antara serin-ribosa dan serin-glukosa (Tabel 6.9).

Tabel 6.9. Beberapa senyawa turunan pirazin yang dihasilkan dari reaksi serin-ribosa dan serin-glukosa

Komponen	Komponen
11-azine	2-Acetylpyrazine
Methylpyrazine	38-2-Furfuryl)pyrazine
2,5-Dimethylpyrazine	2-(2-Furfuryl)5-methylpyrazine
Ethylpyrazine	2-(2-Furfuryl)6-methylpyrazine
2,3-Dimethylpyrazine	2-(2-Furfuryl)-3,5-dimethylpyrazine
2-Ethyl-6-methylpyrazine	2-[5-(hydroxymethyl)furfuryl]-3,5-dimethylpyrazine
Trimethylpyrazine	

Dihidropirazin merupakan senyawa intermediet untuk pembentukan pirazin. Senyawa intermediet ini bereaksi dengan aldehyd atau keton untuk menghasilkan berbagai macam pirazin yang tersubstitusi. Senyawa-senyawa pirazin tersubstitusi dapat dihasilkan secara sintetis dengan cara pirazin yang tersubstitusi alkil dipanaskan pada suhu 100°C selama 4 jam menggunakan sistem model yang mengandung asetol, amonium asetat dan rantai panjang aldehyda, seperti pentenal dan heksanal, yang merupakan produk oksidasi lipid.

(Chen dan Ho (1998) menggunakan 2-furfural atau 5-(hidroksimetil)-2-furfural untuk menghasilkan senyawa bisiklik pirazin yang dapat dilihat pada Tabel 6.10

Tabel 6.10. Komponen Bisiklik Pirazin

Komponen
2-(2-Furfuryl)-3,5-dimethylpyrazine
2-(2-Furfuryl)-3,6-dimethylpyrazine
2-[5-(hydroxymethyl)furfuryl]-3,5-dimethylpyrazine
2-[5-(hydroxymethyl)furfuryl]-3,6-dimethylpyrazine
2-(2-Thienymethyl)-3,5-dimethylpyrazine
2-(2-Thienymethyl)-3,6-dimethylpyrazine
2-(2-Pyrrylmethyl)-3,5-dimethylpyrazine
2-(2-Pyrrylmethyl)-3,6-dimethylpyrazine

6.5 FENILALANIN

Produk reaksi Maillard dari asam amino fenilalanin dapat dihasilkan pada pemanasan 150 °C, 200 °C dan 250°C. Produk yang dihasilkan dapat berupa turunan furan, pirazin, pirol, aromatik, piridin dan imidazol (Tabel 6.11)(keyhani dan Yaylayan, 1996)

Tabel 6.11. Produk reaksi Maillard dari asam amino fenilalanin

Komponen	Komponen
Furan 2,2'-methylene-bis(5-methyl)furan 2-ethylfuran 2-furancarboxaldehyde 2,5-dimethylfuran 2-furanmethanol 1-(2-furanyl)ethanone 5-methyl-2-furancarboxaldehyde 3-phenylfuran	N-(2-phenethyl)acetamide Benzenepropionic acid Styrene N-(phenethyl)formamide Benzeneethanol Trans, trans 1,4-diphenyl-1,3-butadiene Methylbenzene Ethylbenzene 1,2-diphenylpropene
Pyrazine 3,4-dimethylpyrrolo[1,2-alpha]pyrazine 2,6-dimethylpyrazine Trimethylpyrazine	Pyridine 3-phenylpyridine 4-(phenylmethyl)pyridine 3,5-diphenylpyridine Naphthalene 2'-phenylpyrrolo[4,5-alpha]-3,4-dihydronaphthalene 1(2)-naphthaleneamine N-methylnaphthaleneamine Aminoanthracene N-phenethyl-1(2)-naphthaleneamine N-phenethyl-N-methyl-1(2)-naphthaleneamine
Pyrrole 2-methyl-1H-pyrrole 1-(1H-pyrrol-2-yl)ethanone 1-(2-furanylmethyl)-1H-pyrrole	Miscellaneous compound 1,2-dimethyl-1H-imidazole Lactone Pyranone Acetic acid 1-hydroxy-2-propanone
Aromatic 1,1'-(1,2-ethanedyl)bis(benzene) 1-propynylbenzene Benzenemethanamine Phenethylamine Benzeneacetonitrile Benzenepropanitrile phenylacetaldehyde	

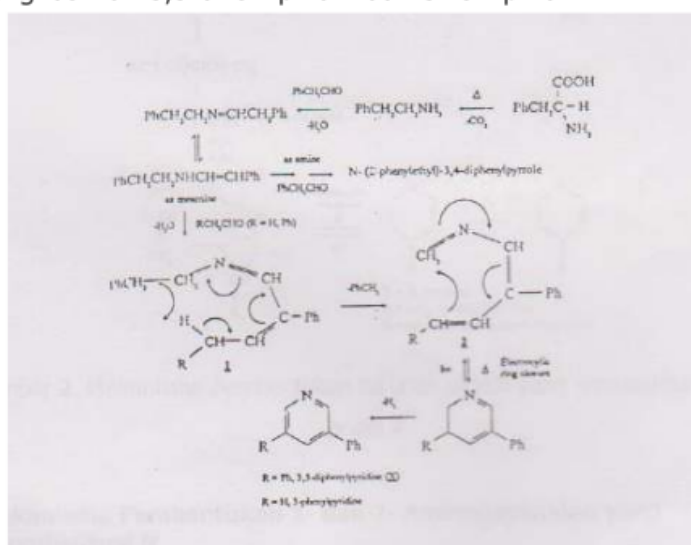
Sebagai contoh mekanisme pembentukan produk reaksi Maillard dari asam amino fenilalanin adalah:

- 1) Pembentukan 3,5-difenilpiridin dan 3-fenilpiridin;

- 2) Pembentukan turunan piridin yang tersubstitusi pada posisi 4;
- 3) Pembentukan 1- dan 2- aminonaphthalen yang tersubstitusi N

a. Mekanisme Pembentukan 3,5-difenilpiridin dan 3-Fenilpiridin

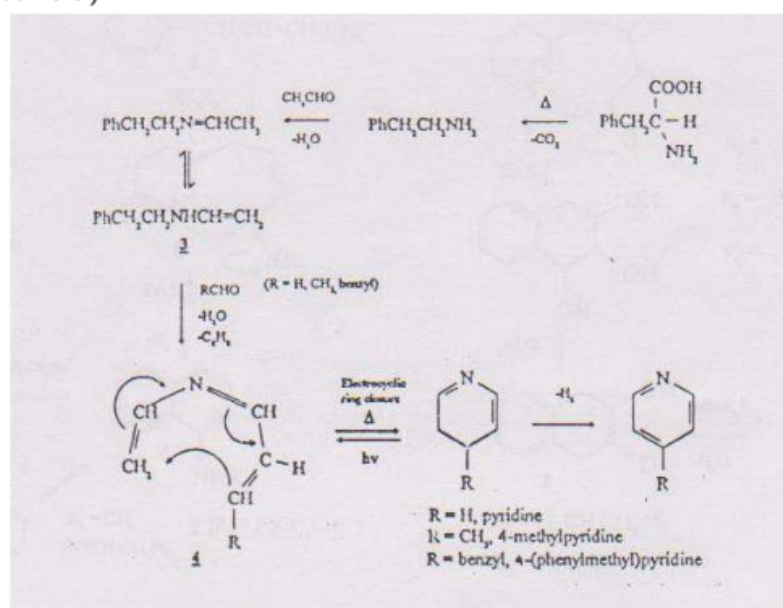
Pembentukan 3,5-difenilpiridin dan 3-fenilpiridin diawali dengan proses dekarboksilasi dari asam amino fenilalanin membentuk fenetilamin. Fenetilamin bereaksi dengan fenilasetaldehida yang dihasilkan melalui degradasi Strecker membentuk senyawa imin. Terjadi penataan ulang atau rearrangement senyawa imin membentuk enammin. Enamin ini selanjutnya berkonjugasi dengan ring benzen. Apabila enamine bereaksi dengan fenilasetaldehida sebagai nukleofilik membentuk N-(2-fenetil)-2,4-difenilpirol. Sedangkan apabila enamin bereaksi dengan senyawa yang bertindak sebagai nukleofilik, seperti fenilasetaldehida atau asetaldehida maka dapat menghasilkan senyawa (1) (Gambar 6.8). Intermediet 1 ini kehilangan satu molekul stirena membentuk triena (2). Triena yang masih merupakan ring terbuka dapat dilakukan penutupan ring dengan cara elektrosiklik. Penutupan ring triena menghasilkan 3,5-difenilpiridin dan 3-fenilpiridin



Gambar 6.8. Mekanisme pembentukan 3,5-difenilpiridin dan 3-fenilpiridin

b. Mekanisme Pembentukan Turunan yang tersubstitusi pada posisi 4

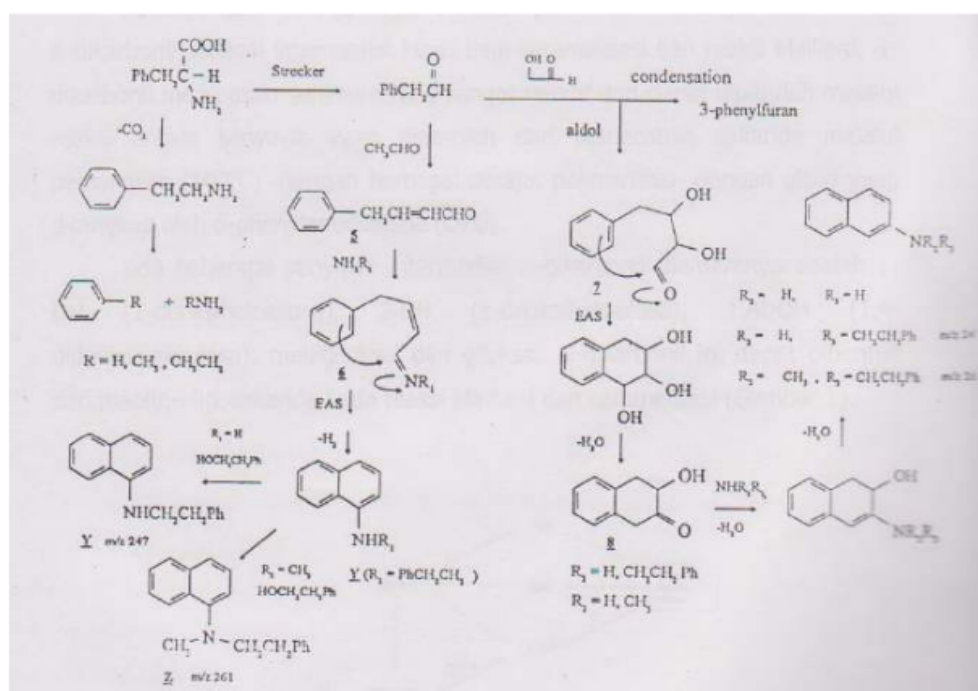
Pembentukan turunan piridin yang tersubstitusi pada posisi 4 hampir sama mekanismenya seperti pembentukan 3,5-difenilpiridin dan 3-fenilpiridin. Mekanismenya dimulai dengan terjadinya dekarboksilasi dari asam amino fenilalanin membentuk fenetilamin. Fenetilamin bereaksi dengan senyawa yang bertindak sebagai nukleofilik, seperti Fenilasetaldehida, asetaldehida atau formaldehida membentuk senyawa imin. Intermediet imin mengalami penataan ulang membentuk enamine (3). Enamine bereaksi dengan senyawa turunan aldehida, seperti fenilasetaldehida, asetaldehida, atau formaldehida membentuk triena (4) setelah kehilangan satu molekul benzene. Trena yang merupakan ring terbuka melakukan penutupan dengan reaksi elektrosiklik dan aromatisasi membentuk piridin, 4-metilpiridin, dan 4-(fenilmetil)piridin (Gambar 6.9)



Gambar 6.9 Mekanisme pembentukan turunan piridin yang tersubstitusi pada posisi 4

c. Mekanisme Pembentukan 1- dan 2- Aminonaphtalen yang tersubstitusi N

Pembentukan 1- dan 2-aminonaphtalen diawali dengan asam amino fenilalanin mengalami dekarboksilasi membentuk fenetilamin. Fenetilamin bereaksi dengan fenilasetaldehid membentuk α,β -aldehida tidak jenuh (5). Senyawa 5 bereaksi dengan asam amino primer membentuk senyawa α,β -imin tidak jenuh (6). Pada senyawa 6 dilakukan reaksi substitusi aromatic elektrofilik membentuk senyawa target. Dari senyawa target ini terbentuk 1(2)-(N-fenetil)naphthaleamin (Y) dan 1(2)-(N-fenetil-N-metil)naphthaleamin (Z) (Gambar 6.10). Alternatif yang lain fenilasetaldehid bereaksi dengan benzenetanol membentuk intermediet α,β -dihidroksilaldehida (7). Senyawa 7 mengalami reaksi substitusi aromatic elektrofilik dan dehidrasi membentuk hidroksi beta-tetralon [3,4-dihidro-3-hidroksi-2(1H)-naphthalenon] (8) (Gambar 6.10).



Gambar 6.10 Mekanisme pembentukan 1- dan 2-aminonaphtalen yang tersubstitusi N.

6.6 RANGKUMAN

Perbedaan yang nyata untuk prolin dalam pembentukan produk spesifik diperoleh dari degradasi Strecker. L-prolin bereaksi dengan alfa dikarbonil menghasilkan 1-pirolin dan alfa hidroksi keton, pirolidin dan alfa diketon. Hidroksi prolin ditransfer menjadi pirol dan diketon dan turunan pirolil, bergantung pada gula dan kondisi reaksi. Selama reaksi Maillard berlangsung prolin dan gula reduksi diubah menjadi senyawa reaktif tersebut selanjutnya mengalami perubahan menjadi furan, furanon, gama piranon atau terdegradasi melalui retro aldol menghasilkan senyawa alfa dikarbonil yang reaktif. Prolin dengan alfa dikarbonil menghasilkan 1-pirolin dan pirolidin.

Senyawa-senyawa yang terbentuk dari prolin dengan beberapa monosakarida termasuk turunan.

Asam amino histidin mengandung cincin imidazol. Cincin imidazol tersebut merupakan produk spesifik reaksi Maillard dari asam amino histidin melalui reaksi degradasi Strecker, oksidasi dan siklisasi. Senyawa akhir yang terbentuk adalah 2-asetilpirido-[3,4-d]-imidazol. Aroma sangrai ini dapat diperoleh dengan mereaksikan antara serin dan treonin dengan sukrosa pada kondisi penyangraian kopi. Aroma ini juga terjadi pada waktu penyangraian kopi hijau. Komponen-komponen yang teridentifikasi pada aroma sangrai dapat digolongkan menjadi beberapa golongan, yaitu (a) furan dan foranon, (b) pirol, (c) pirazin, (d) piridin, dan (e) oxazol

6.7 LATIHAN SOAL

1. Hasil reaksi asam amino prolin dengan gula reduksi menghasilkan banyak senyawa kompleks. Sebutkan.
2. Furan adalah komponen yang sangat penting pada aroma kopi sangrai. Diantara komponen volatil yang teridentifikasi, maka terdapat 10 turunan furan yang mengandung gugus vinil atau propenil pada posisi dua. Mengapa?

3. Jelaskan 3 mekanisme pembentukan produk reaksi Maillard dari asam amino fenilalanin?
4. Pirol merupakan aroma yang sangat penting di dalam bahan pangan. Sebutkan dua cara kemungkinan pembentukan pirol pada reaksi Maillard
5. Cincin imidazol merupakan produk spesifik reaksi Maillard melalui reaksi degradasi Strecker, oksidasi dan siklisasi. Asam amino apa yang menghasilkan cincin imidazol ini?

1

6.8 UMPAN BALIK DAN TINDAK LANJUT

Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan VI.

$$\text{Rumus: } \frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$$

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan⁴ ada bab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.



PENDUGAAN STRUKTUR MELANOIDIN

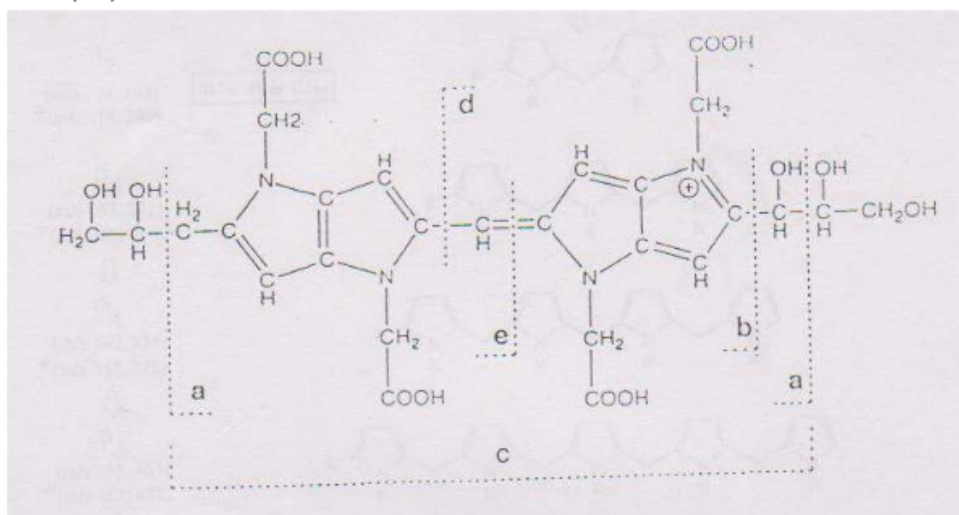
Melanoidin merupakan produk akhir dari reaksi Maillard yang berwarna hitam kecoklatan. Perkembangan warna coklat terjadi selama proses pemanasan pada berbagai bahan pangan, seperti kopi sangrai, daging bakar, dan susu evaporasi. Senyawa melanoidin merupakan senyawa berberat molekul tinggi dan strukturnya belum diketahui dengan jelas. Banyak pendapat yang menyatakan struktur melanoidin, seperti Thomas Hofmann, Bettina Cammerer dan L.W. Kroh, Fumitaka Hayase dan Rolland Tressl.

7.1 Pembentukan Blue Pigment sebagai Penduga Struktur Melanoidin

Blue pigmen yang terbentuk dari xilosa dan glisin digunakan untuk menduga struktur melanoidin. Pembentukan blue pigmen dilakukan dengan mereaksikan xilosa, glisin dan sodium hidrogen karbonat (NaHCO_3) di dalam 60% etanol. Kemudian pada larutan ditambahkan dengan HCL sampai pH 8,1. Larutan ini selanjutnya ditempatkan pada ruangan beratmosfir nitrogen dengan suhu $26,5^{\circ}\text{C}$ selama dua hari dan 2°C selama 4 hari di dalam ruang gelap. Blue pigmen yang terbentuk diisolasi pada ruang dingin dengan suhu 2°C . Etanol dibuang dari larutan dan kemudian larutan diencerkan dengan air sampai pH 6,8. Larutan ini difraksinasi dengan kolom. Fraksi yang terbentuk terdiri dari Blue-M1 (Blue Maillard reaction intermediate-1) dan Blue-M2.

Blue-M1 yang terbentuk diidentifikasi sebagai 5-{{1,4-(dicarboxymethyl)-5-(2,3-dihydroxypropyl)-2-pyrrolo[3,2-b]pyrrolyl}methine}-1,4-(dicarboxymethyl)-2-(1,2,3-trihydroxypropyl)-pyrrolo[3,2-b]pyrrolylium. Blue M1 ini terdiri dari dua cincin pirol yang dihubungkan dengan jembatan methin (Gambar 7.1)

Blue M1 juga dapat dibentuk dari yellow pigmen yang merupakan reaksi pirol-2-karboksaldehida dengan dinitrofenilhidrazin. Apabila dua molekul yellow pigmen diinkubasi pada 26,5⁰C selama 24 jam dan terjadi reaksi dekarboksilasi, maka dapat terbentuk dua senyawa pirolopirol-2-karboksaldehida. Berdasarkan kondisi di atas, maka Blue M2 dapat dibentuk dengan menambahkan yellow pigmen pada blue M. Blue M1 dan Blue M2 diduga dapat membentuk senyawa melanoidin dengan adanya polimerisasi.



Gambar 7.1 Struktur Blue-M1.

7.2 Struktur Melanoidin diduga sebagai Polimerisasi atau Oligomerisasi Pirol

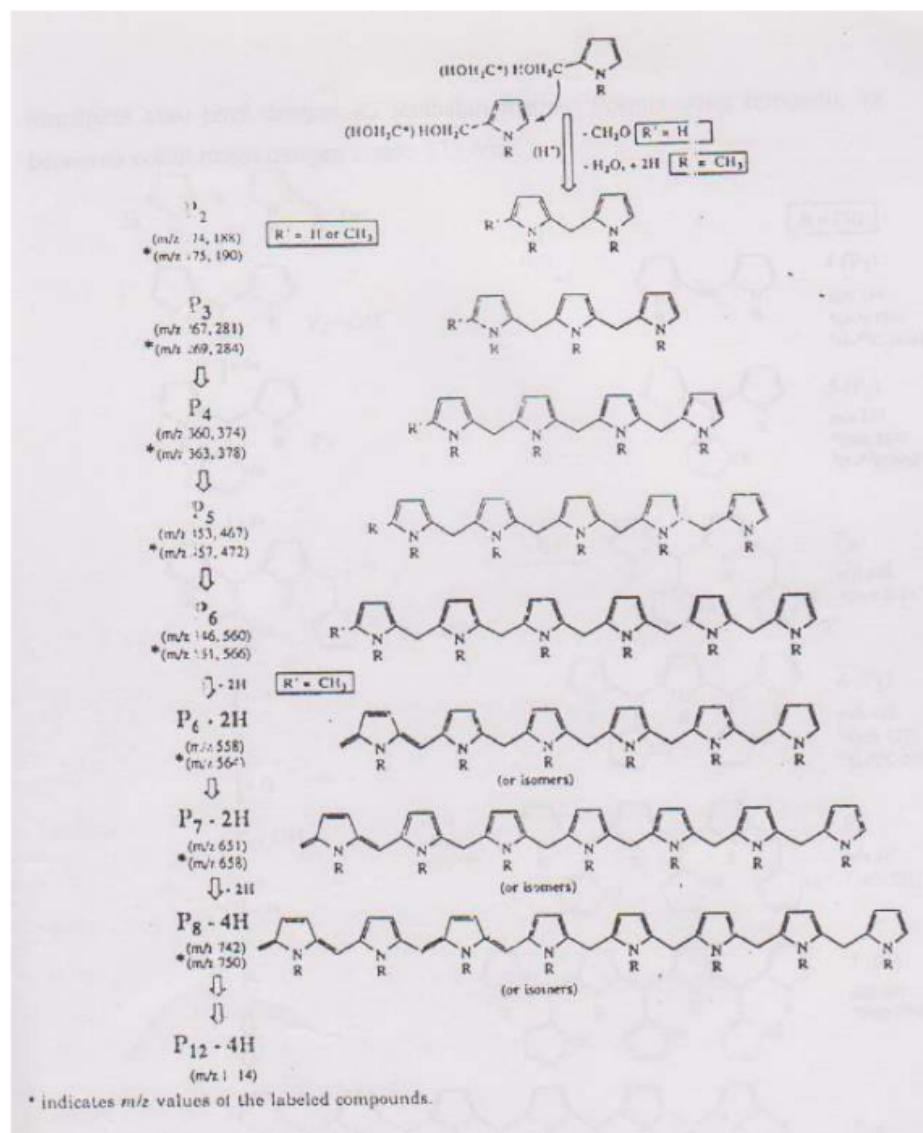
Senyawa pirol dan furan merupakan senyawa yang berperan dalam pembentukan melanoidin dan mudah dibentuk dari heksosa melalui reaksi fragmentasi, walaupun keadaan pirol dan fural merupakan senyawa yang rendah polimerisasinya, tetapi tinggi aktivitas ikatan

silangnya. Contohnya C5- dan C4- pirol yang tersubstitusi N, seperti N-metil-2- (hidroksimetil)pirol atau kombinasinya, paling sedikit ada dua sisi reaktif dan cocok sebagai prekursor pembentukan senyawa makromolekul.

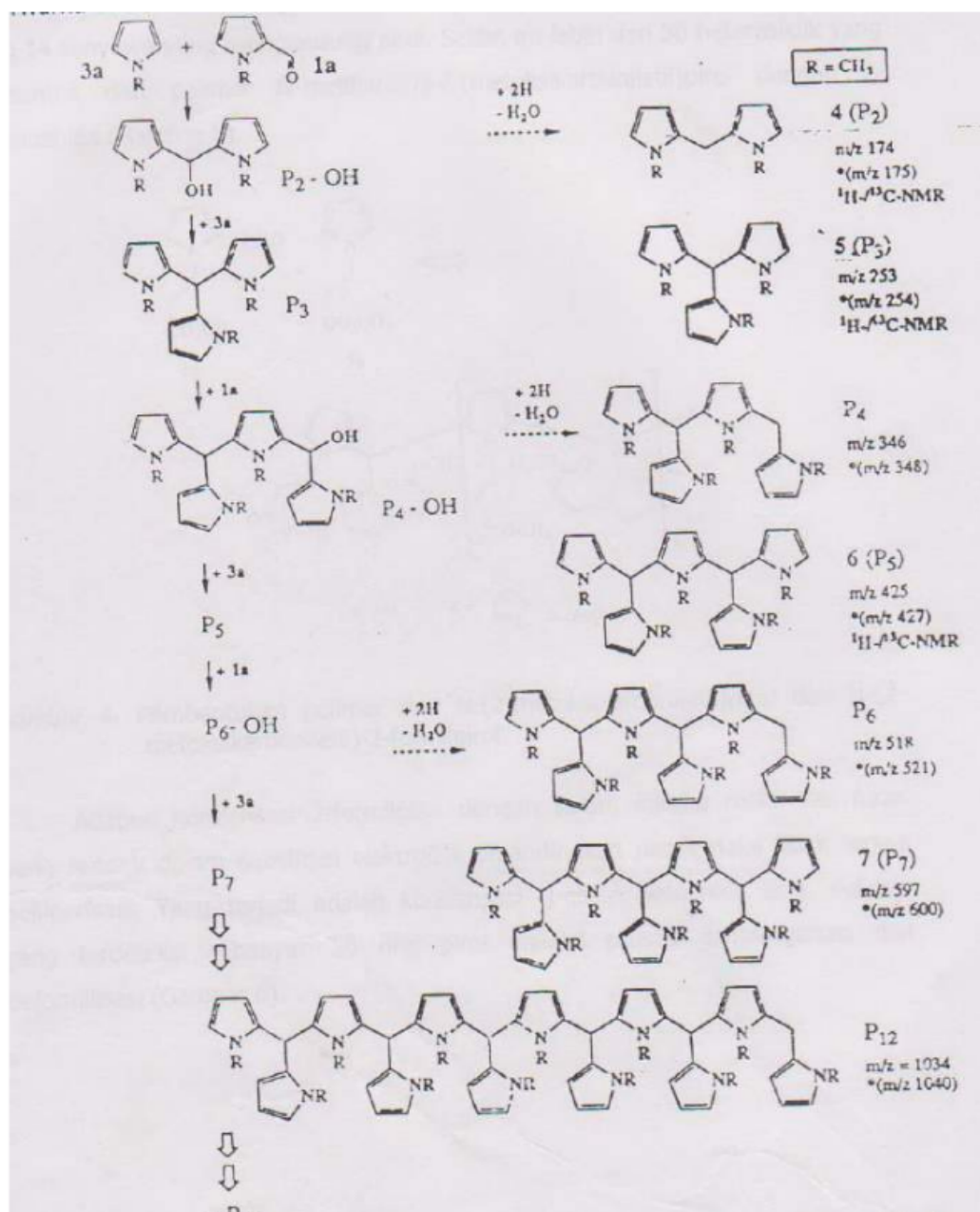
Polimerisasi dibentuk dengan substitusi elektrofilik pada pirol yang kaya elektron, yaitu kation pirolilmetil. Pembentukan polimer dari N-metil-2-(hidroksimetil)pirol (Gambar 7.2) dengan 2 senyawa yang mengandung pirol.

Selain itu dibawah kondisi suhu pemanasan yang sangat rendah (20°C , katalis H^{+}) terbentuk polimer berwarna yang berasal dari kombinasi pirol tersubstitusi N/2-formilpirol tersubstitusi N atau furfural dan 2-formilpirol saja. Pada Gambar 7.3 ditunjukkan hasil polimerisasi 2-formilpirol tersubstitusi N atau pirol tersubstitusi N dengan asam amino. Polimer yang terbentuk sebanyak 26 2-formilpirol atau pirol dengan 25 jembatan methin. Polimer yang terbentuk ini berwarna coklat hitam dengan λ_{maks} 515 nm.

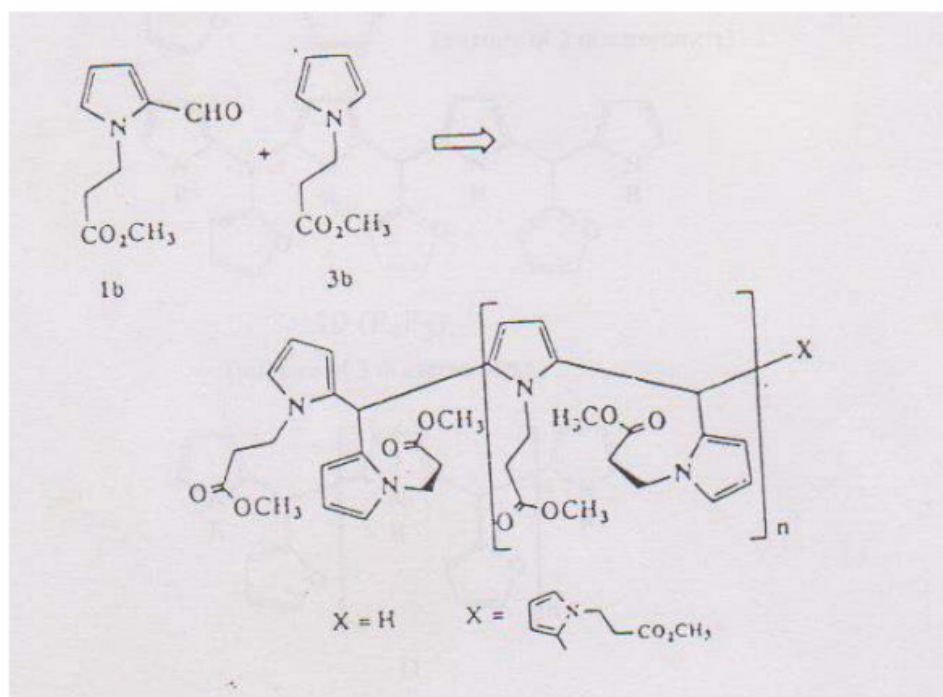
Polimerisasi juga dapat terbentuk dari N-(2-metoksikarboniletill)pirol dengan N-(2-metoksikarboniletill)-2-formilpirol (Gambar 7.4). Polimer yang terbentuk lebih dari 14 senyawa yang mengandung pirol. Selain itu lebih dari 30 heterosiklik yang terbentuk dari polimer N-metilpirol/N-2- (metoksikarboniletill)pirol dengan 2-furadelhida (Gambar 7.5)



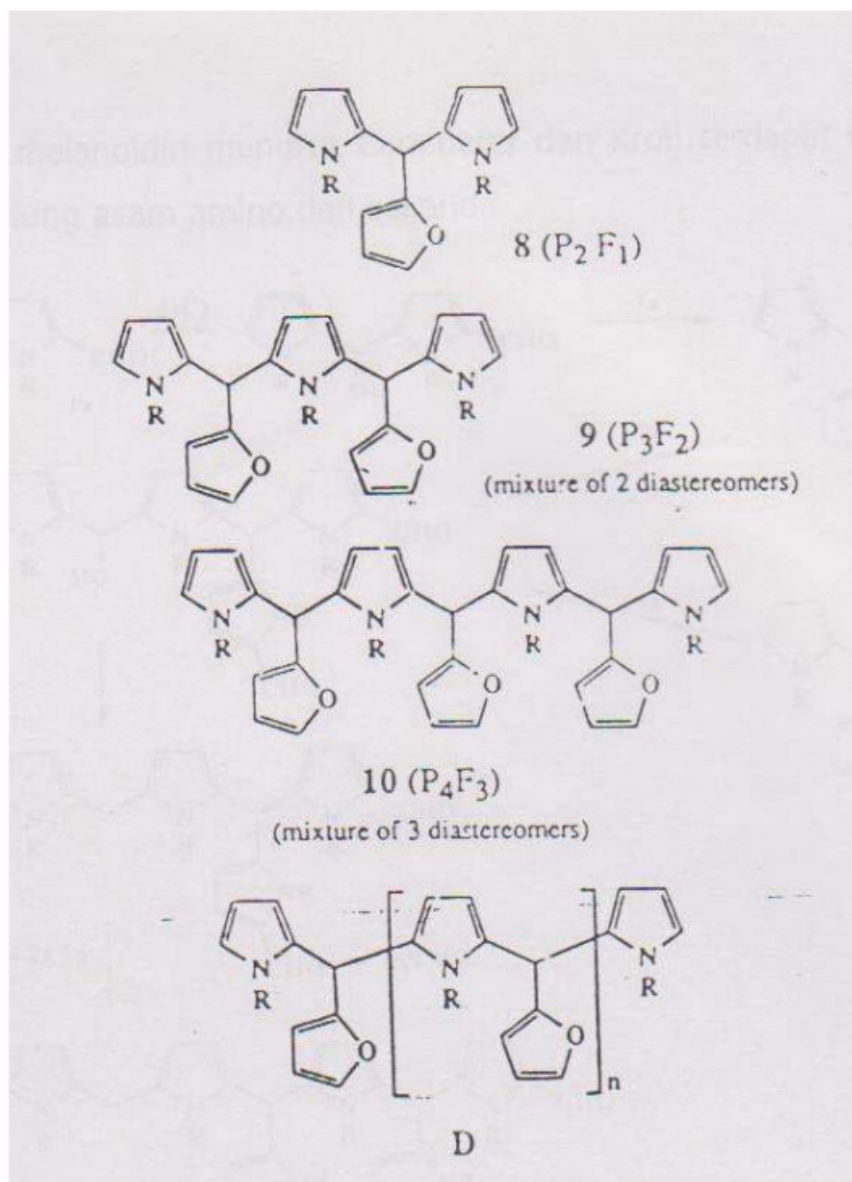
Gambar 7.2 Pembentukan polimer dari N-metil-2-(hidroksimetil)pirol



Gambar 7.3 Pembentukan polimer dari pirol tersubstitusi N dan 2-formilpirol tersubstitusi N

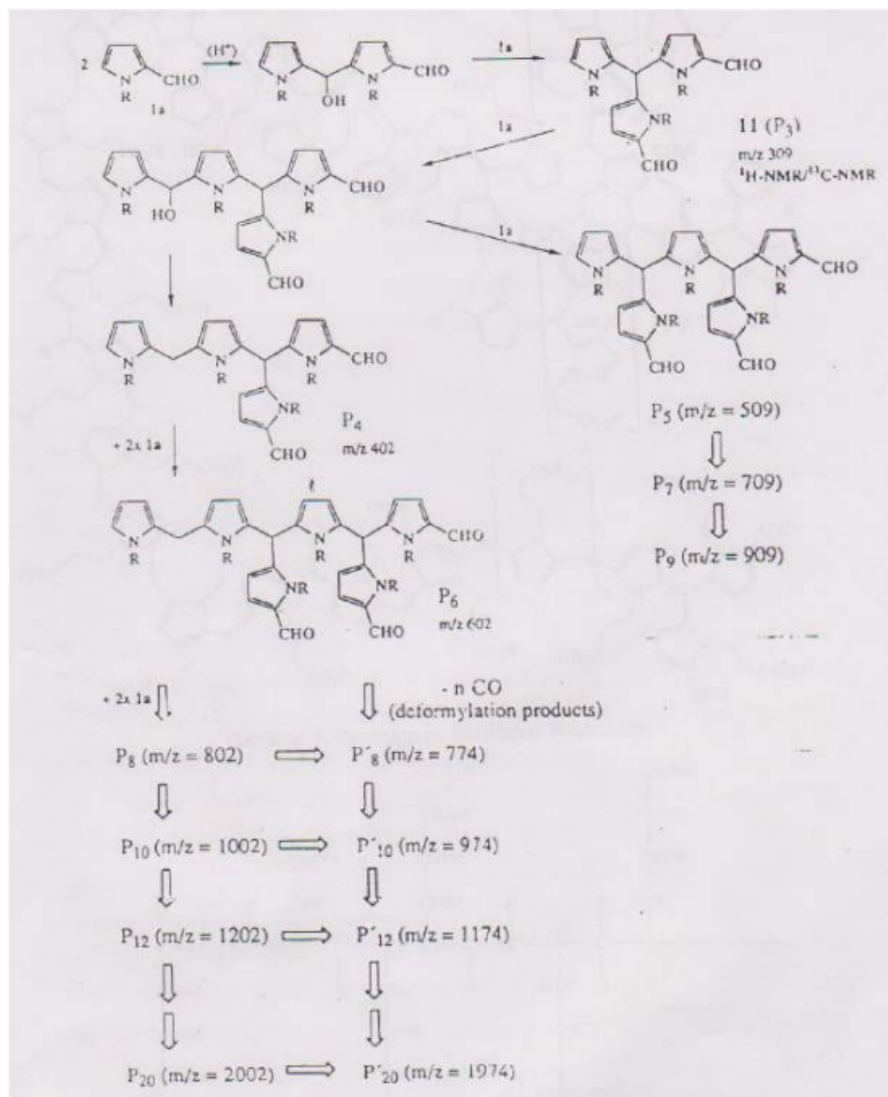


Gambar 7.4 Pembentukan polimer dari N-(2-metoksikarboniletill)pirol dan N-(2-metoksikarboniletill)-2-formilpirol



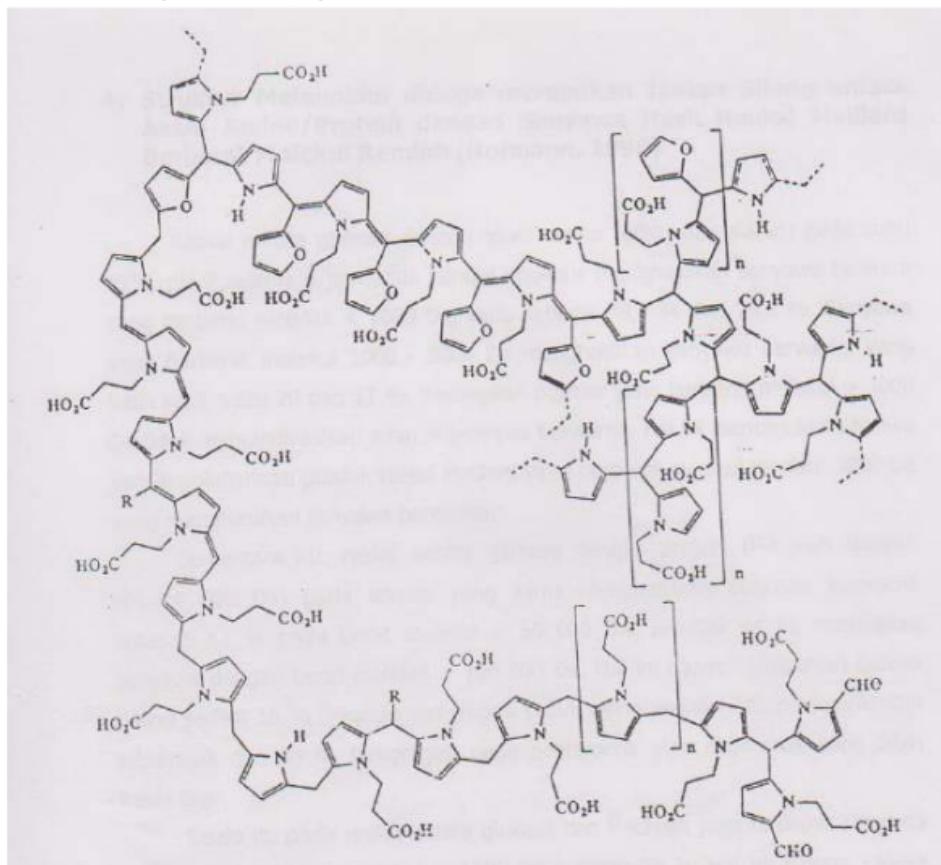
Gambar 7.5 Pembentukan polimer dari N-metilpirol/N-2-(metoksikarboniletil)pirol dan 2--furaldehid

Adapun kondensasi 2-formilpirol dengan furan, karena reaktivitas furan yang rendah dalam substitusi elektrofilik dibandingkan pirol, maka tidak terjadi polimerisasi. Yang terjadi adalah kondensasi N-alkilpirolaldehida saja. Polimer yang terdeteksi sebanyak 20 ring pirol melalui proses dehidrogenasi dan deformiliasi (Gambar 7.6).



Gambar 7.6 Pembentukan polimer dari 2-formilpirol tersubstitusi N

Polimer-polimer yang terbentuk diduga dapat dijadikan sebagai *backbone* melanoidin (Gambar 7.7).

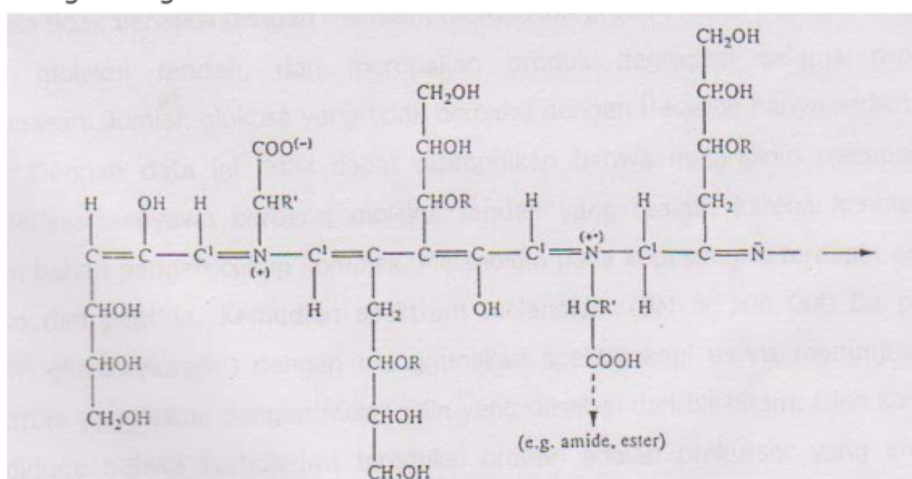


Gambar 7.7 Pendugaan *backbone* melanoidin

7.3 Struktur Melanoidin diduga Mengandung Senyawa Berberat Molekul Rendah dan Senyawa Berberat Molekul Tinggi

Komposisi senyawa melanoidin dipengaruhi oleh kondisi reaksi, seperti jumlah atom C, H, O, dan N, rasio antara C/N, jenis gula peptosa dan heksosa, dan jenis asam amino. Ternyata kondisi reaksi tidak merubah struktur dasar dari melanoidin. Melanoidin diduga tidak hanya

terdiri dari senyawa berberat molekul rendah, seperti gula dan asam amino yang tidak bereaksi, senyawa amadori dan HMF, tetapi juga mengandung senyawa berberat molekul tinggi (Gambar 7.8). Struktur melanoidin menurut Cammerer dan Kroh terdapat rantai samping yang mengandung asam amino dan sakarida



Gambar 7.8 Pendugaan struktur melanoidin (R=H atau sakarida, R'= rantai samping asam amino).

7.4 Struktur Melanoidin diduga merupakan Ikatan Silang antara Asam Amino/ Protein dengan Senyawa Hasil reaksi Maillard Berberat Molekul Rendah

Reaksi antara glukosa dengan asam amino (glisin dan alanin) pada suhu 95°C, pH 7 selama 4 jam pada kondisi aqeous menghasilkan senyawa berwarna yang berberat molekul < 1000Da, yaitu sebesar 78,4% dan 79,8 %. Senyawa yang berberat molekul 1000 - 3000 Da menghasilkan senyawa berwarna yang lebih kecil, yaitu 20 % dan 17 %. Sedangkan polimer yang berberat molekul >3000 Da tidak mengindikasikan adanya senyawa berwarna. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi polimerisasi produk reaksi Maillard yang berberat molekul rendah 3000 Da yang menghasilkan senyawa berwarna.

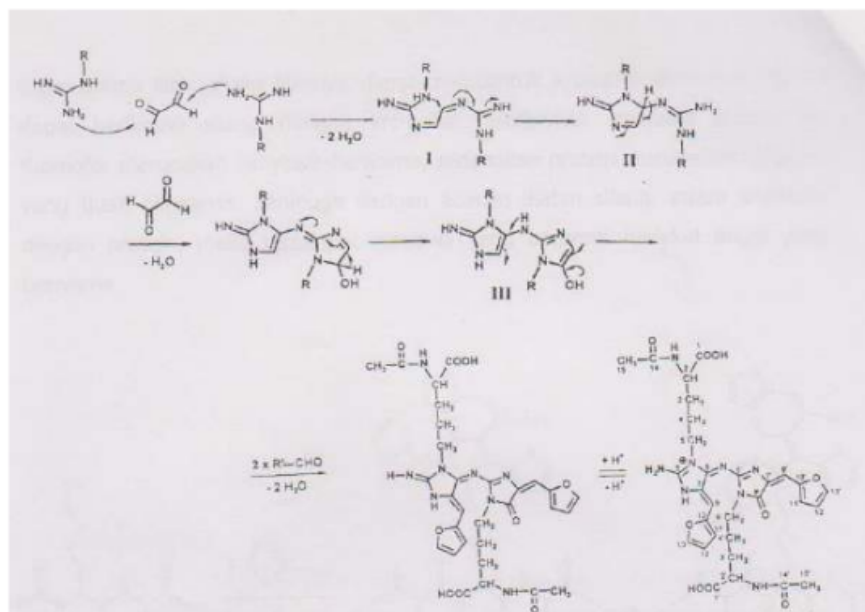
Sementara itu, reaksi antara glukosa dengan protein (β-kasein dengan BM=24000 Da) pada kondisi yang sama menghasilkan senyawa berwarna

sebesar 62 % pada berat molekul > 50000 Da. Sebesar 44 % merupakan senyawa dengan berat molekul > 100000 Da. Hal ini dapat disimpulkan bahwa paling sedikit 18 % β -kasein teragregasi untuk menghasilkan ikatan trimetrik atau tetramerik dan 44 % teragregasi pada pentamerik atau oligomerik yang lebih besar lagi.

Selain itu pada reaksi antara glukosa dan β -kasein juga terdapat senyawa berwarna pada berat molekul < 1000 Da sebesar 24 %. Hal ini di duga karena glukosa tidak bereaksi dengan β -kasein, merupakan produk reaksi Maillard dengan berat molekul rendah, dan merupakan produk degradasi selama proses pemanasan. Jumlah glukosa yang tidak bereaksi dengan β -kasein hanya sedikit.

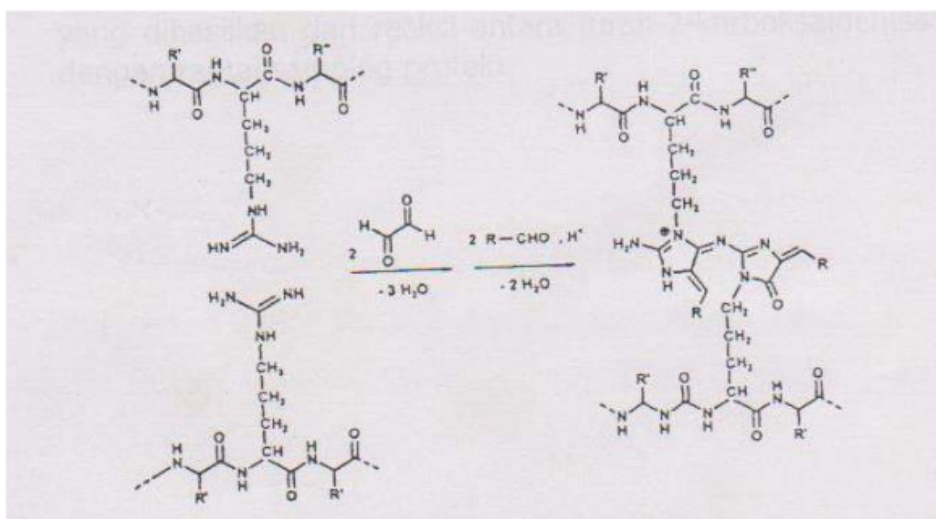
Dengan data ini tidak dapat disimpulkan bahwa melanoidin merupakan polimerisasi senyawa berberat molekul rendah yang reaktif, karena kondisi di dalam bahan pangan cukup kompleks. Melanoidin pada kopi sangrai terdapat asam amino dan peptida. Kemudian spektrum melanoidin (BM > 100000 Da pada sistem glukosa/kasein) dengan menggunakan spektroskopi uv-vis menunjukkan spektrum yang sama dengan melanoidin yang diisolasi dari bir hitam. Oleh karena itu diduga bahwa karbohidrat tereduksi protein adalah prekursor yang efektif untuk terbentuknya melanoidin pada sistem pangan.

Hofmann selanjutnya melakukan penelitian untuk menduga struktur melanoidin dengan mereaksikan antara arginin dengan glioksal di dalam furan-2-karboksaldehida pada suhu 80°C, pH 7 selama 90 menit dengan kondisi aqueous. Furan-2-karboksaldehida merupakan produk degradasi karbohidrat yang teridentifikasi pada beberapa bahan pangan yang dipanaskan, seperti kulit roti dan kopi sangrai. Sedangkan glioksal merupakan senyawa dikarbonil yang umum ditemukan pada degradasi karbohidrat atau produk autooksidasi lipid pada edible oil.



Gambar 7.9 Pembentukan senyawa berwarna dari ikatan silang antara produk reaksi Maillard berberat molekul rendah dengan asam amino

Reaksi antara arginin dan gliksal dengan adanya furan-2-karboksaldehida terbentuk warna coklat oranye dengan sangat cepat, sedangkan reaksi tanpa gliksal tidak terbentuk warna. Senyawa berwarna ini terbentuk antara dua residu arginin dengan gliksal membentuk gliksal diimin (I). Selanjutnya dengan siklisasi membentuk 5-guanidil-2-imino-3-imidazolin (II). Reaksi gugus guanidil dengan penambahan molekul gliksal diikuti dengan tautomerisasi vinylogousimine-enamine menghasilkan intermediat metilen aktif (III) dan akhirnya dua molekul furan-2-karboksaldehida ditambahkan dan dikondensasikan sampai terbentuk senyawa berwarna (S,S)-1-[4-(acetylamino)-4-carboxy-1-butyl]-2-imino-4-[(Z)-(2-furyl)methylidene]-5-{2-[1-(4-(acetylamino)-4-carboxy-1-butyl)-4-[(E)-(2-furyl)methylidene]-5-oxo-1,3-imidazol-2-yl]}azamethylidene-1,3-imidazolidene (Gambar 7.9)

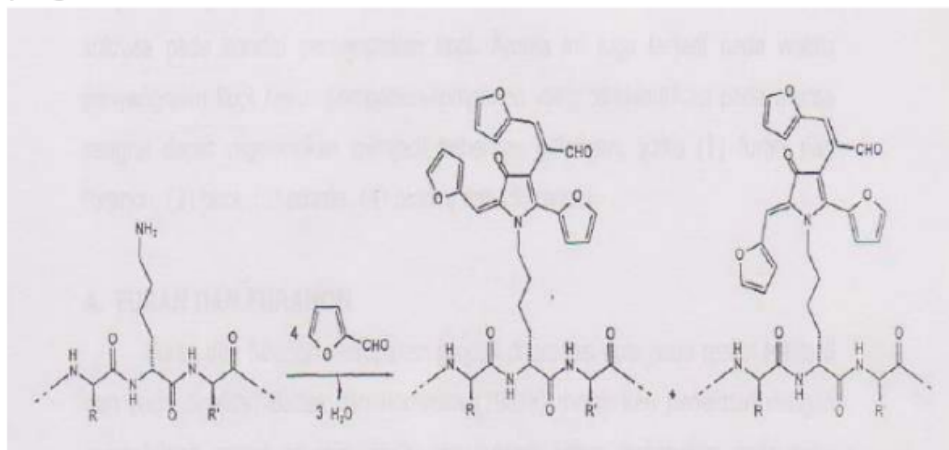


Gambar 7.10 Pembentukan melanoidin dengan ikatan silang antara protein dengan kromofor yang dihasilkan dari reaksi antara arginin dengan glioksal

Senyawa berwarna yang terdapat pada Gambar 7.9 merupakan ikatan silang antara asam amino dengan produk reaksi Maillard berberat molekul rendah (imidazol dan imidazolin) dengan jembatan azametiliden. Dengan dasar senyawa berwarna, maka dapat diperkirakan senyawa melanoidin merupakan ikatan silang antara protein dengan senyawa hasil reaksi Maillard berberat molekul rendah (seperti turunan imidazol dan imidazolin) dengan perantara jembatan azametiliden (Gambar 7.10)

Reaksi antara furan-2-karboksaldehida dengan asam amino lisin menghasilkan 1H-pyrrol-3(2H)-one yang dapat dijadikan sebagai kromofor senyawa melanoidin. 1H-pyrrol-3(2H)-one dapat berikatan silang dengan protein membentuk struktur melanoidin (Gambar 7.11). Penggunaan asam amino lisin dalam sistem model ini untuk melihat bahwa apabila di dalam protein terdapat asam amino lisin, maka lisinnya dapat membentuk kromofor dan kromofor ini dapat berikatan silang dengan kromofor membentuk senyawa melanoidin. Kromofor merupakan senyawa berwarna, sedangkan protein merupakan senyawa yang tidak berwarna. Sehingga dengan adanya ikatan silang antara kromofor

dengan protein, maka terbentuk senyawa yang berberat molekul tinggi yang berwarna.



Gambar 7.11. Pembentukan struktur melanoidin dari ikatan silang kromofor

Tabel 7.1 Beberapa pendapat peneliti mengenai struktur melanoidin

struktur melanodin	References
$\text{C}_{9.4}\text{H}_{11.4}\text{NO}_{4.6}$ (dari sistem model glu-gly) $\text{C}_{8.9}\text{H}_{10.6}\text{NO}_{4.6}$ (dari sistem model xyl-gly) $\text{C}_{12.0}\text{H}_{14.2}\text{N}_{5.4}$	Hayase F dan Kato H, 1981
$\text{C}_{27}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_{13}$ dan $\text{C}_{27}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_{12}$ (dalam kecap manis)	Yokotsuka 1986
Unit pengulangan rantai karbon	Ikan, 1996
Mengandung gugus $\text{OH}\cdots\text{O}-$ dari α -diketon atau kombinasi $\text{C}=\text{R}=\text{R}$	Homma S <i>et al</i> , 1997
suatu unit pengulangan karbon berikatan rangkap dan nitrogen tersier. Struktur ini terdiri atas redukton seperti enol atau enaminol	Belitz & Grosch 1999

7.5 RANGKUMAN

Melanoidin merupakan produk akhir dari reaksi Maillard yang berwarna hitam kecoklatan. Perkembangan warna coklat terjadi selama proses pemanasan pada berbagai bahan pangan, seperti kopi sangrai, daging bakar, dan susu evaporasi. Senyawa melanoidin merupakan senyawa berberat molekul tinggi. Senyawa pirol dan furan merupakan senyawa yang berperan dalam pembentukan melanoidin dan mudah dibentuk dari heksosa melalui reaksi fragmentasi, walaupun keadaan pirol dan furan merupakan senyawa yang rendah polimerisasinya, tetapi tinggi aktivitas ikatan silangnya. Komposisi senyawa melanoidin dipengaruhi oleh kondisi reaksi, seperti jumlah atom C, H, O, dan N, rasio antara C/N, jenis gula pektosa dan heksosa, dan jenis asam amino.

7.6 LATIHAN SOAL

1. Blue M2 dapat dibentuk dengan menambahkan yellow pigmen pada blue M1. Blue M1 dan Blue M2 diduga dapat membentuk senyawa melanoidin dengan adanya polimerisasi. Mengapa demikian?
2. Mengapa Senyawa pirol dan furan merupakan senyawa yang berperan dalam pembentukan melanoidin?
3. Komposisi senyawa melanoidin dipengaruhi oleh beberapa hal. Sebutkan.
4. Melanoidin diduga juga terdiri dari senyawa berberat molekul rendah, sebutkan.
5. Reaksi antara furan -2-karboksaldehid dengan asam amino lisin menghasilkan 1H-pyrrol-3(2H)-one yang dapat dijadikan sebagai kromofor senyawa melanoidin. 1H-pyrrol-3(2H)-one dapat berikatan silang dengan protein membentuk struktur melanoidin. Apa kelebihan asam amino lisin dalam sistem model ini?

7.7 UMPAN BALIK ¹ DAN TINDAK LANJUT

Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan VII.

$$\text{Rumus: } \frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$$

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan ⁴ pada bab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.

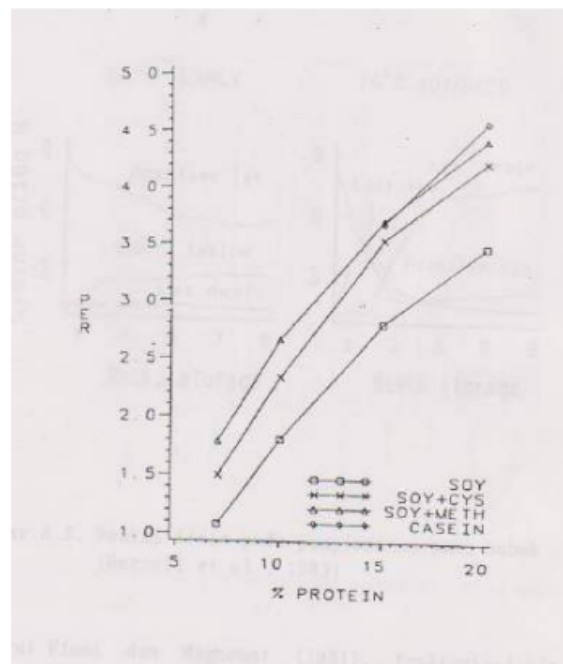


PENGARUH REAKSI MAILLARD TERHADAP NILAI GIZI, PEMBENTUKAN KOMPONEN TOKSIN, KARSINOGENIK DAN MUTAGENIK

8.1 NILAI GIZI

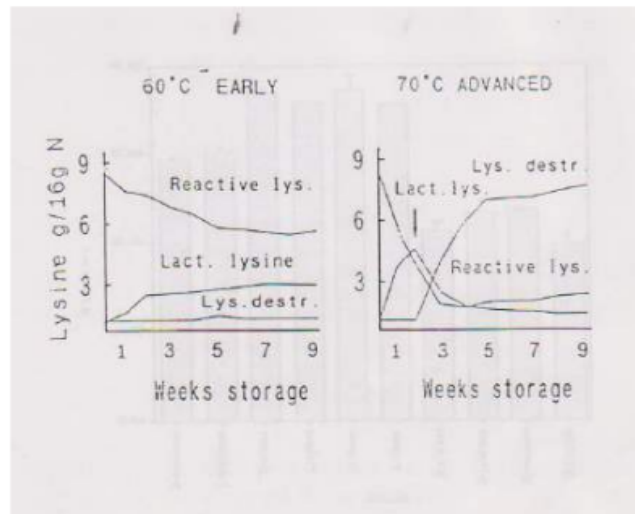
Reaksi Maillard berpengaruh terhadap nilai gizi produk pangan selama proses pengolahan dalam tiga cara. Pertama, reaksi Maillard dapat menurunkan kualitas protein, kedua pembentukan senyawa Amadori dengan lisin pada awal reaksi Maillard, dan ketiga destruksi lisin dan asam-asam amino esensial lain melalui reaksi pramelanoidin selama pengembangan reaksi Maillard (Hurrell dan Finot, 1983). Selain itu, Pramelanoidin dapat bereaksi dengan dan merusak vitamin dan produk reaksi dapat berpengaruh terhadap metabolisme unsur mikro.

Dalam kaitannya dengan penurunan kualitas protein, residu lisin protein pada awal reaksi berikatan dengan gula pereduksi membentuk senyawa turunan deoksiketosil-lisin sebagai laktulosil-lisin. Pada tahap reaksi lanjut, senyawa laktulosil-lisin yang terbentuk terdekomposisi menghasilkan pramelanoidin yang dapat bereaksi dengan asam amino lain pada rantai samping protein yang berakibat terhadap kerusakan beberapa jenis asam amino esensial, terbentuknya ikatan silang antara rantai protein yang berakibat terhadap penurunan daya cerna. Penurunan kualitas protein selama reaksi Maillard melalui pengukuran Protein Efisiensi rasio (PER) seperti terlihat pada Gambar 8.1.

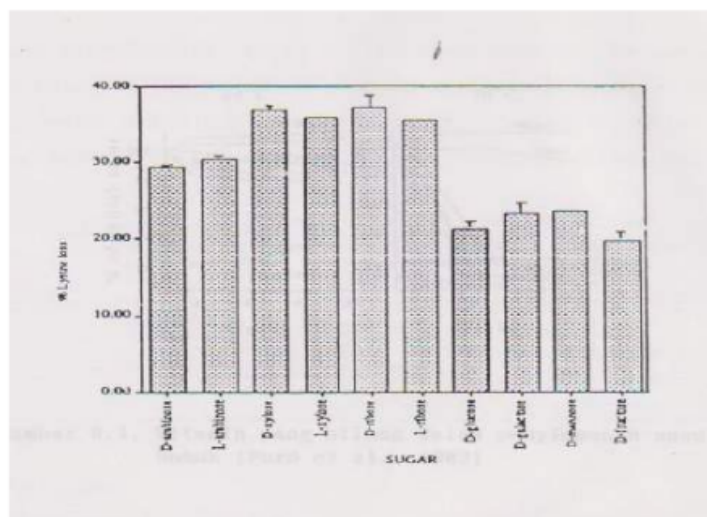


Gambar 8.1. Pengaruh suplementasi bahan tepung soy dengan L-sistein, L-metionin atau kasein terhadap kualitas protein yang diukur melalui PER

Pengaruh awal reaksi dan reaksi lanjut terhadap asam amino lisin terlihat pada Gambar 8.2. penyimpanan susu bubuk yang mengandung air 2,5 % pada suhu 60°C selama 9 minggu sekitar 40 % lisin berubah menjadi laktulosil- lisin, sedangkan penyimpanan pada suhu 70°C selama dua minggu menyebabkan 50 % lisin berubah menjadi laktulosil-lisin. Assoumani *et al.*, (1994) melaporkan lisin yang hilang selama berlangsungnya reaksi Maillard dipengaruhi oleh jenis gula seperti terlihat pada Gambar 8.3.



Gambar 8.2 Reaksi lisin pada penyimpanan susu bubuk (Hurrel *et al* 1983)

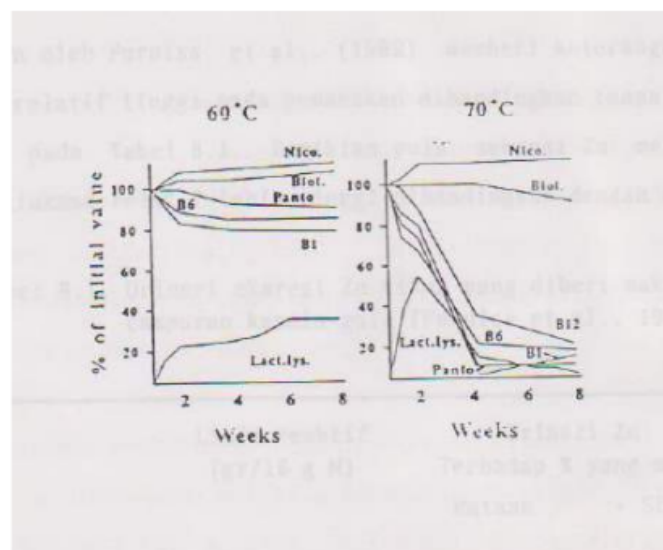


Gambar 8. 3 Lisin yang hilang pada berbagai jenis gula (Assoumani *et al* 1994)

Menurut Finot (1981), fruktosil-lisin (produk awal reaksi) yang masuk ke dalam tubuh hanya sekitar 28 % yang tertinggal, sedangkan sisanya dikeluarkan melalui urin dan faeces. Pengeluaran melalui urin relatif cepat dengan jumlah yang relatif tinggi, yakni sekitar 40 %. Melanoidin produk reaksi kasein dengan glukosa tidak tercerna dalam

tubuh, 87 % dikeluarkan melalui faeces, sisanya melalui urin, sedangkan pramelanoidin yang dikeluarkan melalui urin 27 %, sisanya melalui faeces.

Tiamin dan vitamin B6 mengalami kerusakan selama penyimpanan susu bubuk. Tiamin mempunyai gugus amino, sedangkan vitamin B6 mempunyai gugus aldehyd. Kedua gugus tersebut reaktif dalam reaksi Maillard. Selain kedua jenis vitamin tersebut, asam pantotenat dan vitamin B12 juga mengalami kerusakan selama penyimpanan seperti terlihat pada Gambar 8.4.



Gambar 8.4. Vitamin yang hilang dalam penyimpanan susu bubuk

Makanan yang tercampur glukosa-asam amino yang disterilkan dengan panas kemudian diberikan pada manusia melalui oral dan intravena menunjukkan eksresi Zn, Cu dan Fe dalam urin meningkat 2 sampai 5 kali lipat. Eksresi uriner Cu hanya berkisar 2-5 %, Zn lebih dari 30 %, sedangkan Fe mencapai 40 %.

Jika tikus percobaan diberi campuran glukosa-kasei yang tidak dipanaskan dan yang disimpan pada suhu 37°C selama 4 dan 15 hari menunjukkan reduksi lisin reaktif masing-masing 25% dan 50%. Perlakuan tidak berpengaruh terhadap eksresi faeces pada beberapa

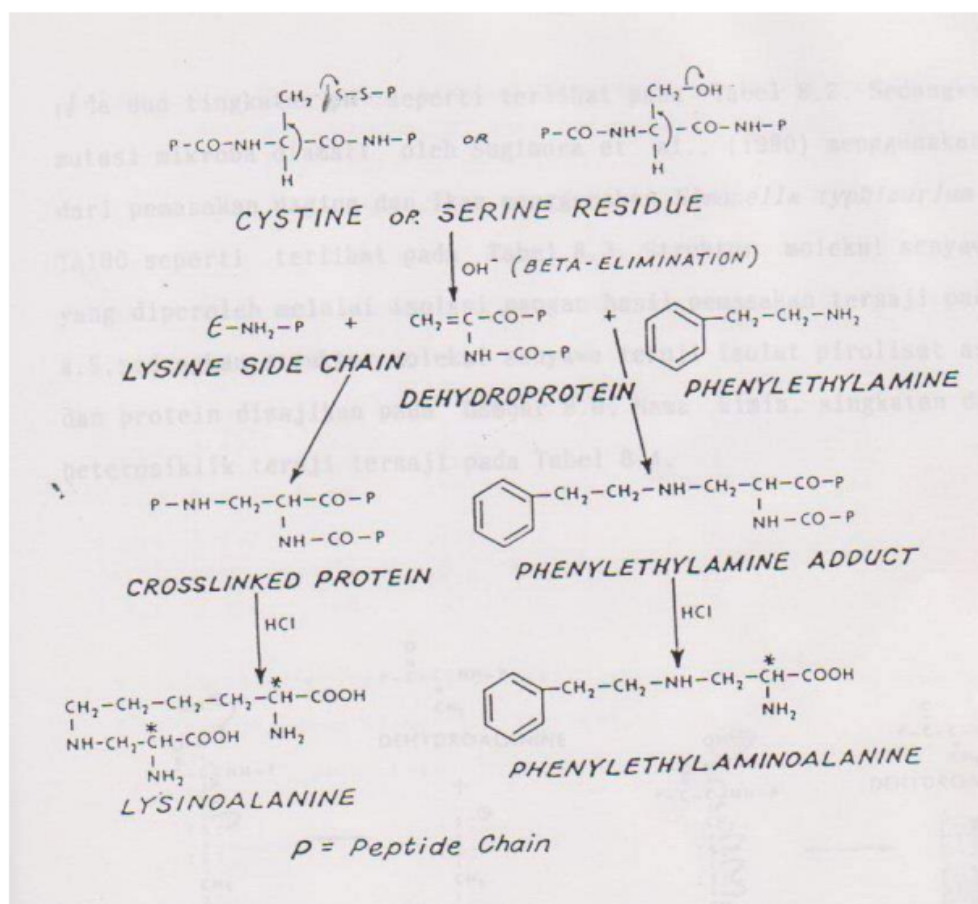
unsur mikro, sedangkan ekskresi melalui urin meningkat sekitar 14 %. Percobaan lain yang dilakukan oleh Furniss *et al.*, (1989) memberi keterangan lisin reaktif menurun relatif tinggi pada pemanasan dibandingkan tanpa pemanasan seperti terlihat pada Tabel 8.1. Demikian pula sekresi Zn melalui urin dengan kasein-glukosa relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kasein-laktosa.

8.2 TOKSIK

Senyawa toksik pada dasarnya termasuk senyawa-senyawa yang tidak tercerna dalam tubuh, mutagenik dan senyawa karsinogenik. Produk reaksi Maillard yang banyak disoroti sebagai senyawa toksik adalah lisinalanin (LAL) dan feniletilaminoalanin. Sifat toksik LAL berhubungan dengan kemampuannya mengkelat unsur-unsur mikro dalam aliran tubuh (*body fluids*) dan jaringan. Dengan fungsi kerja tersebut LAL menurunkan ketersediaan unsur mikro dalam tubuh. Mekanisme pembentukan LAL dipostulatkan mengikuti dua tahap. Tahap pertama ion hidoksida mengkatalisis reaksi eliminasi serin, treonin dan sistein menghasilkan senyawa intermediat dehidroalanin yang mengandung ikatan ganda karbon-karbon bereaksi dengan gugus amino epsilon lisin membentuk ikatan silang lisinoalanin. Mekanisme reaksi tersebut disajikan pada Gambar 8.5 dan Gambar 8.6.

Tabel 8.1 Ekskresi Zn dari urin tikus yang diberi makanan campuran kasein-gula

	Lisin reaktif (gr/16 g N)	Urineri Zn Terhadap % yang masuk Rataan + SEM
Expt. 1		
Kasein-glukosa		
-tanpa pemanasan	9,2	0,7 0,1
-dengan pemanasan	2,1	4,8 0,4
Kasein-laktosa		
-tanpa pemanasan	9,2	1,2 0,2
-dengan pemanasan	2,2	2,2 0,3
Expt. 2		
Kasein-glukosa		
-tanpa pemanasan	9,2	1,0 0,2
-plus fruktosil lisin	-	1,3 0,2

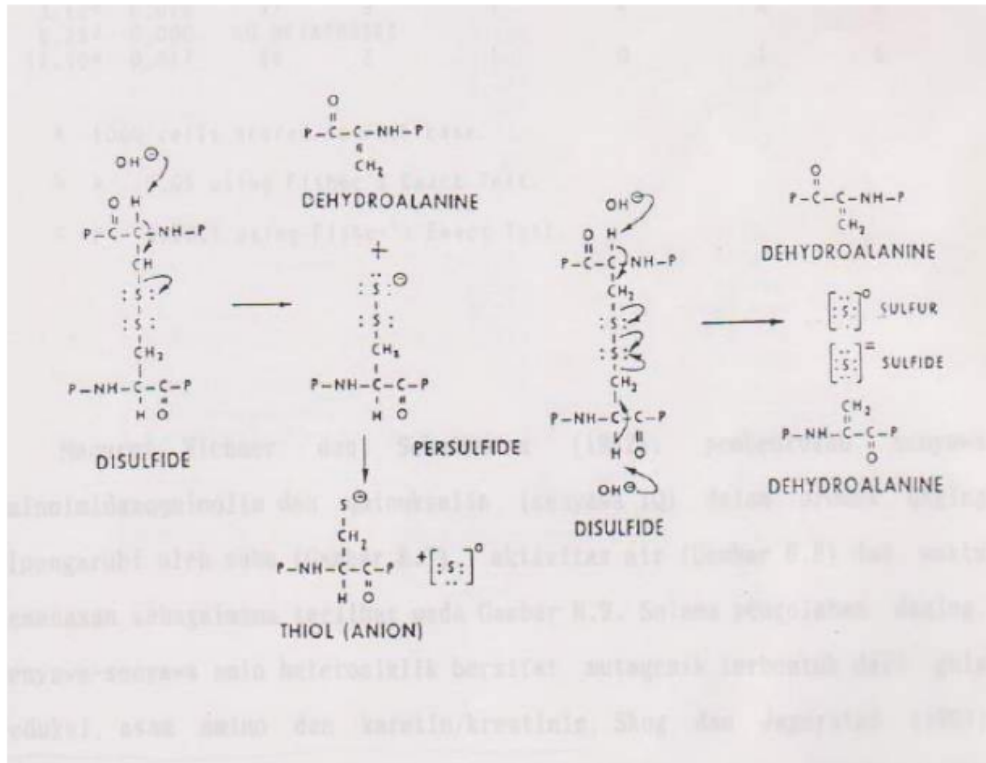


Gambar 8.5 Mekanisme dasar transformasi ikatan protein-disulfida

8.3 MUTAGENIK

Mutagenik adalah senyawa kimia yang dapat menyebabkan terjadinya mutasi pada mikroorganisme dan pembentukan sel tidak normal pada mamalia. Gejala ketidaknormalan sel yang disebabkan oleh produk reaksi antara gula produksi dengan asam amino (produk reaksi Maillard) melalui pemanasan antara fruktosa dengan asam amino lisin pada dua tingkatan pH terlihat pada Tabel 8.2. Sedangkan gejala mutasi mikroba diamati oleh Sugimura *et al.*, (1990) menggunakan ekstrak dari pemasakan daging dan ikan menggunakan *Salmonella typhimurium* TA98 dan TA100 seperti terlihat pada Tabel 8.3. Struktur molekul senyawa

teruji yang diperoleh melalui isolasi pangan hasil pemasakan tersaji pada Gambar 8.5, sedangkan struktur molekul senyawa teruji isolat pirolisat asam amino dan protein disajikan pada Gambar 8.6. nama kimia, singkatan dan sumber heterosiklik teruji tersaji pada Tabel 8.4.



Gambar 8.6 Transformasi residu sistein dan serin dalam protein menjadi lisinoalanin dan (feniletil) alanin (Friedman, 1994)

Tabel 8.2. Pengaruh pemanasan pada system model fruktosa-lisin terhadap insiden chromosomal aberrations dalam sel hamster

	DOSE (mM)	MITOTIC INDEX ^a	NORMAL CELLS	ABNORMAL CELLS	CHROMATID DELETIONS	CHROMOSOME DELETIONS	CHROMATID EXCHANGES	CHROMOSOME EXCHANGES	PULVERI CELLS
CONTROL	0	0.194	94	6	3	1	0	2	0
7	3.12	0.190	96	4	1	2	1	0	0
	6.25	0.324	94	6	3	1	2	0	0
	12.50	0.080	85	15 ^b	4	3	8	0	0
	25.00	0.014	59	41 ^c	30	5	34	4	3
10	1.60 ^a	0.012	64	36 ^c	10	10	37	2	0
	3.12 ^a	0.026	97	3	1	4	0	0	0
	6.25 ^a	0.000	NO METAPHASES						
	12.50 ^a	0.017	98	2	1	0	1	0	0

^a 1000 cells scored in each case.
^b p = 0.05 using Fisher's Exact Test.
^c p = 0.0001 using Fisher's Exact Test.

Menurut Eichner dan Schuirmann (1992), pembentukan senyawa aminoimidazoquinolin dan quinoksalin (senyawa IQ) dalam produk daging dipengaruhi oleh suhu (Gambar 8.7), aktivitas air (Gambar 8.8) dan waktu pemanasan sebagaimana terlihat pada Gambar 8.9. Selama pengolahan daging, senyawa-senyawa amin heterosiklik bersifat mutagenik terbentuk dari gula reduksi, asam amino dan karetn/kreatini. Skog dan Jagerstad (1994) melaporkan pemanasan campuran kreatinin, glukosa dan treonin yang disublementasi dengan glukosa bertanda pada suhu 180°C selama 30 menit menghasilkan senyawa-senyawa mutagenik radioaktif, yang pembentukannya menduga mengikuti jalur reaksi seperti terlihat pada Gambar 8.10

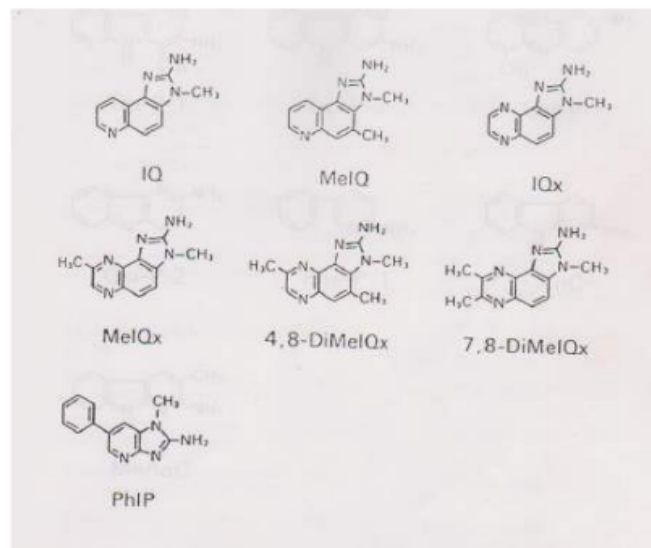
Tabel 8.3 Mutagenisitas senyawa amin heterosiklik terhadap salmonella typhimurium TA98 dan TA100

Compound	Revertants/ 10 ⁸	
	TA98	TA100
IQ	433,000	7,000
MeIQ	661,000	30,000
IQx	75,000	1,500
MeIQx	145,000	14,000
4,8-DiMeIQx	183,000	8,000
7,8-DiMeIQx	163,000	9,000
PhIP	1,800	120
Trp-P-1	39,000	1,700
Trp-P-2	104,200	1,800
Glu-P-1	49,000	3,200
Glu-P-2	1,900	1,200
Phe-P-1	41	23
A α C	300	20
MeA α C	200	120
1,8-Dinitropyrene	940,000	175,000
1,6-Dinitropyrene	230,000	30,000
AF-2	6,500	42,000
Aflatoxin B ₁	6,000	28,000
4-Nitroquinoline 1-oxide	970	9,900
MNNG	0.00	870
Benzo[a]pyrene	320	660
N,N-Dimethylnitrosamine	0.00	0.23
N,N-Diethylnitrosamine	0.02	0.15

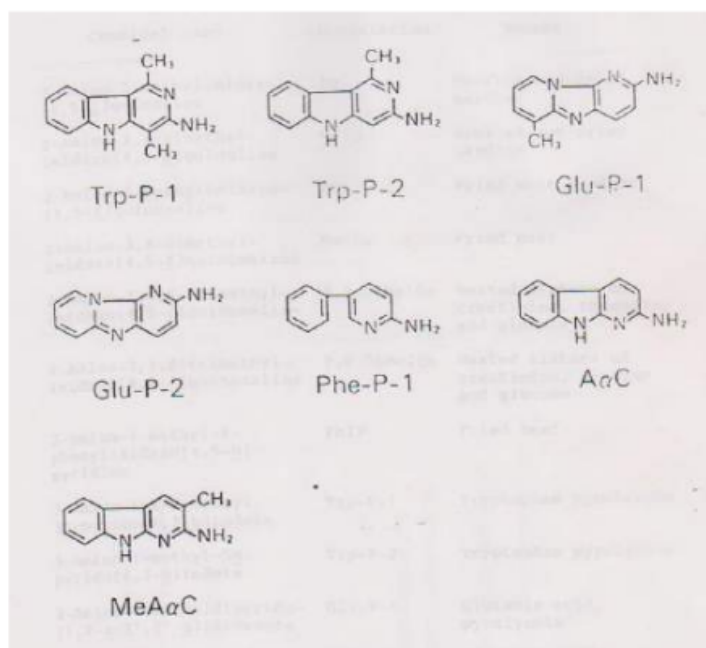
AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
 MNNG: N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

Tabel 8.4 Nama kimia, singkatan dan sumber senyawa amin heterosiklik

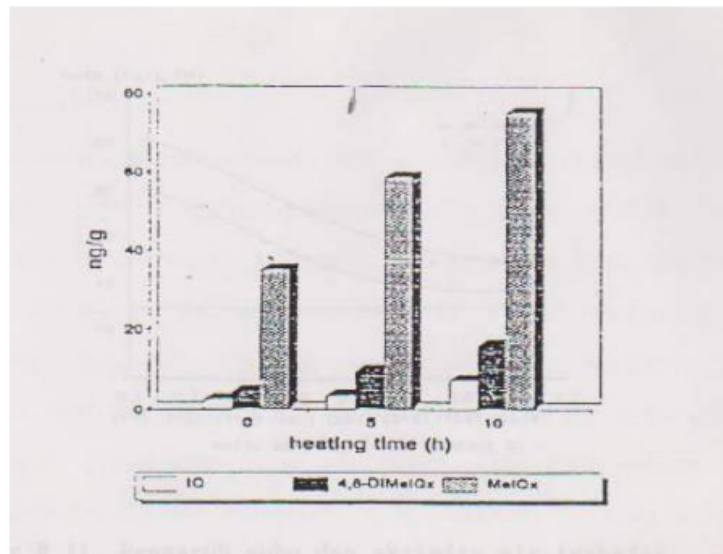
Chemical name	Abbreviation	Source
2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline	IQ	Broiled sun-dried sardine
2-Amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline	MeIQ	Broiled sun-dried sardine
2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoxaline	IQx	Fried meat product
2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline	MeIQx	Fried beef
2-Amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline	4,8-DiMeIQx	Heated mixture of creatinine, threonine and glucose
2-Amino-3,7,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline	7,8-DiMeIQx	Heated mixture of creatinine, glycine and glucose
2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine	PhIP	Fried beef
3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole	Trp-P-1	Tryptophan pyrolysate
3-Amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole	Trp-P-2	Tryptophan pyrolysate
2-Amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole	Glu-P-1	Glutamic acid pyrolysate
2-Aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole	Glu-P-2	Glutamic acid pyrolysate
2-Amino-5-phenylpyridine	Phe-P-1	Phenylalanine pyrolysate
2-Amino-9H-pyrido[2,3-b]indole	AaC	Soybean globuline pyrolysate
2-Amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole	MeAaC	Soybean globuline pyrolysate



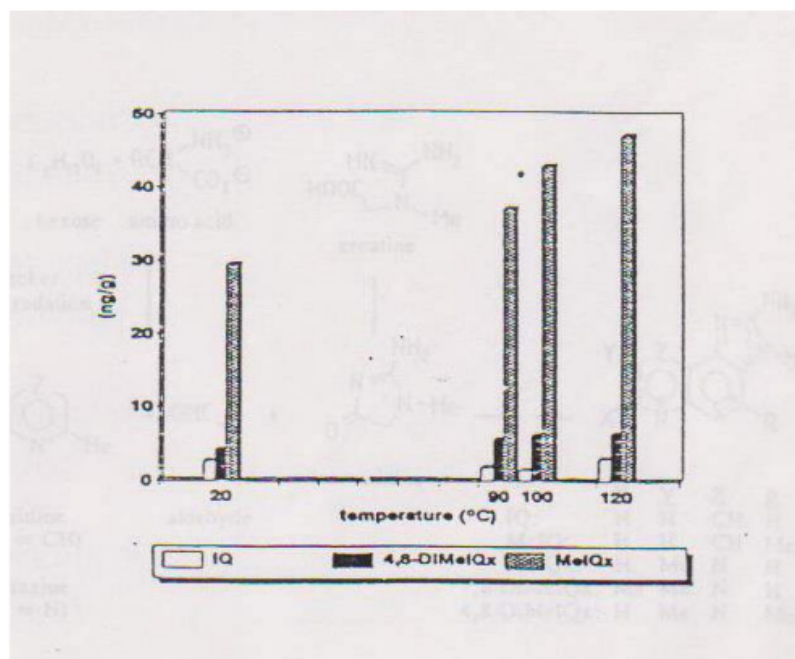
Gambar 8.7 Struktur molekul senyawa amin heterosiklik hasil isolasi dari pangan yang dimasak



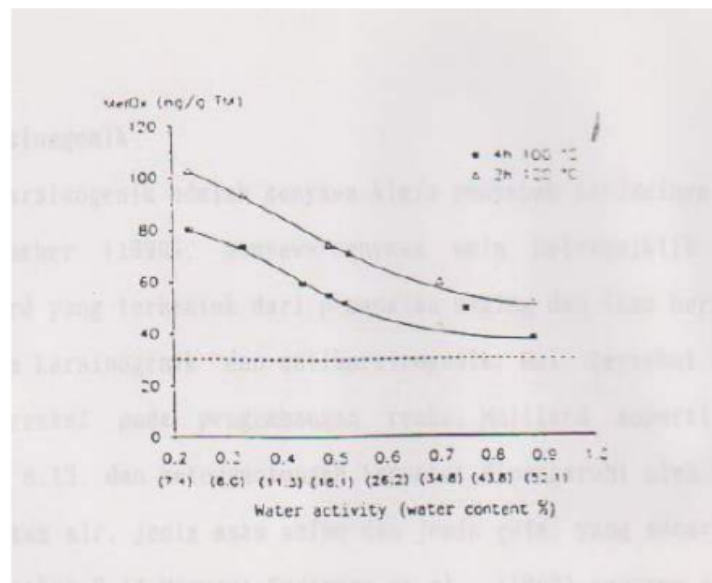
Gambar 8.8 Struktur molekul senyawa amin heterosiklik hasil isolasi dari pirolisat asam amino dan protein



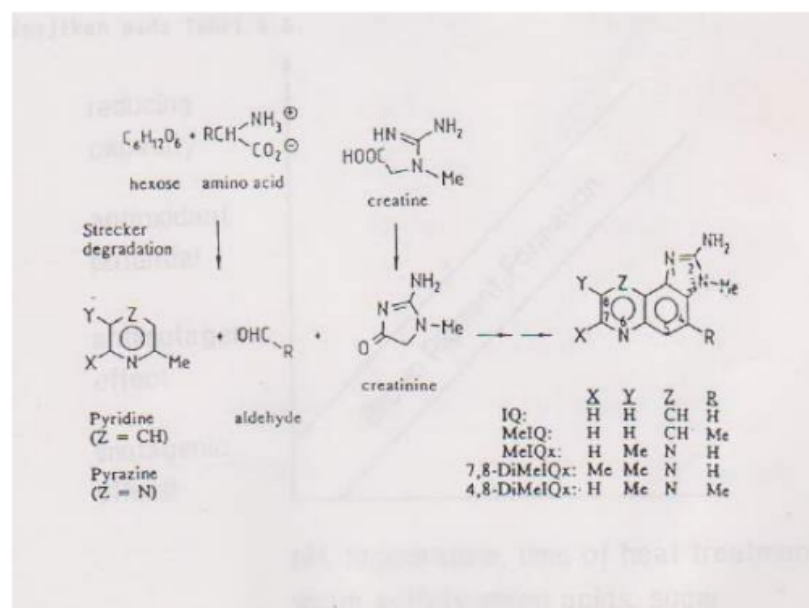
Gambar 8.9 Pengaruh waktu pemasakan daging terhadap pembentukan senyawa IQ



Gambar 8.10 Pengaruh suhu pemasakan daging terhadap pembentukan senyawa IQ



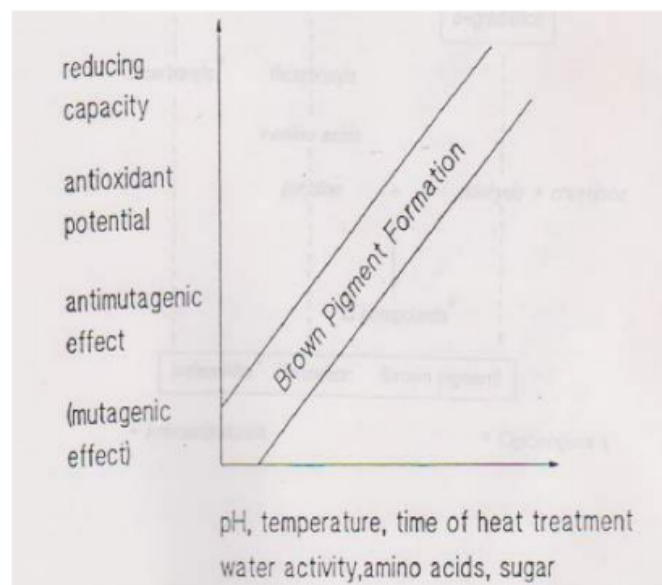
Gambar 8.11 Pengaruh suhu dan aktivitas air terhadap pembentukan senyawa MeIQx



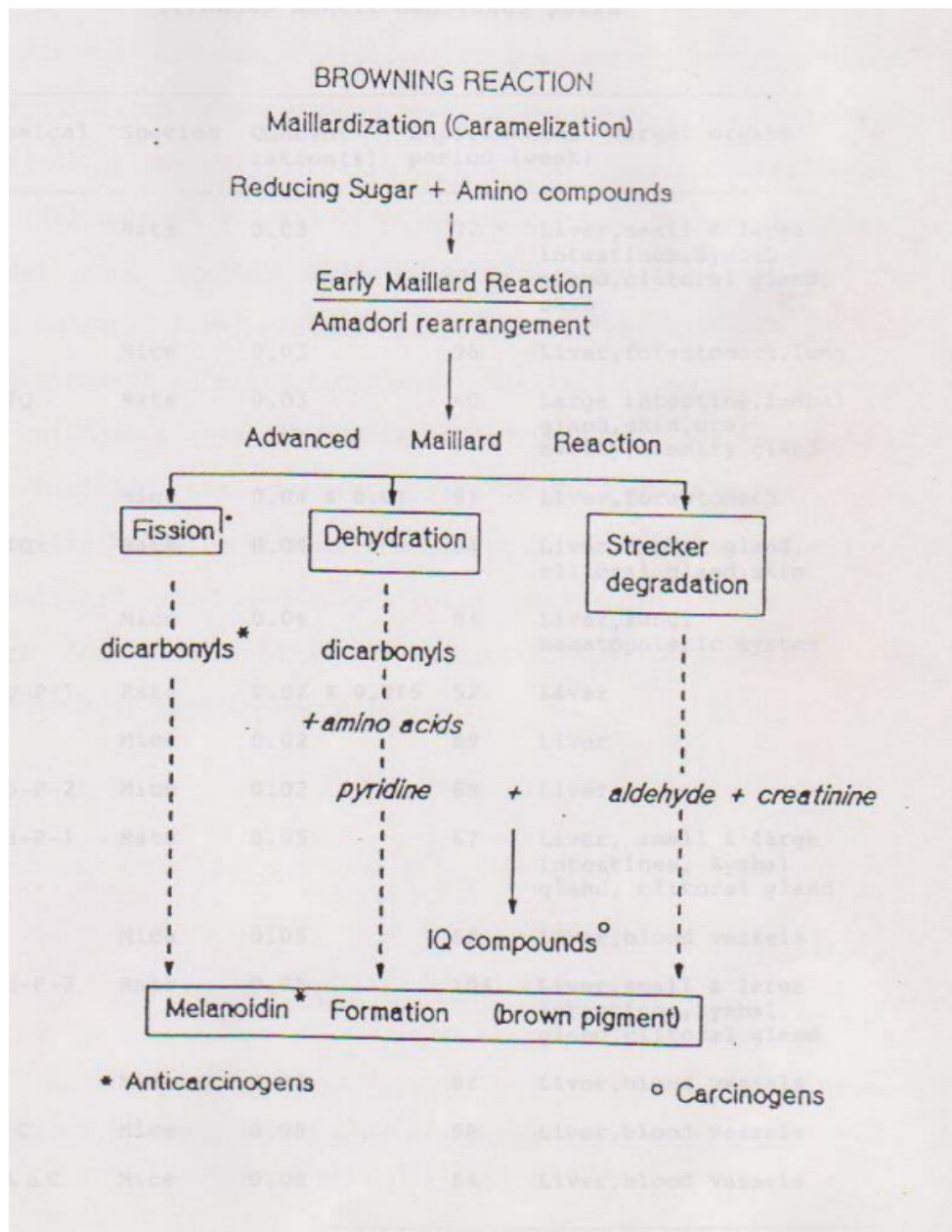
Gambar 8. 12 Praduga jalur reaksi pembentukan senyawa IQ dan homolog IQx

8.4 KARSINOGENIK

Karsinogenik adalah senyawa kimia penyebab terjadinya kanker. Menurut Aeschbacher (1990), senyawa-senyawa amin heterosiklik produk reaksi Maillard yang terbentuk dari pemanasan daging dan ikan berpotensi sebagai senyawa karsinogenik dan antikarsinogenik. Hal tersebut tergantung dari jalur reaksi pada pengembangan reaksi Maillard seperti terlihat pada Gambar 8.13, dan ketergantungan tersebut dipengaruhi oleh suhu, waktu, pH, aktivitas air, jenis asam amino dan jenis gula, yang secara skema tersaji pada Gambar 8.14. Menurut Sugimura *et al.*, (1990) senyawa amin heterosiklik bersifat karsinogenik terhadap tikus putih laki-laki dan perempuan serta mencit laki-laki dan perempuan. Potensi karsinogenik senyawa tersebut disajikan pada Tabel 8.5.



Gambar 8.13 Skema jalur pembentukan senyawa karsinogenik dan Antikarsinogenik produk reaksi Maillard



Gambar 8.14 Korelasi antara pembentukan pigmen coklat dengan potensial karsinogenik

Tabel 8.5 Karsinogenitas senyawa amin heterosiklik terhadap mencit dan tikus putih

Chemical	Species	Concentration(%)	Experimental period (week)	Target organs
IQ	Rats	0.03	72	Liver, small & large intestines, Zymbal gland, clitoral gland, skin
	Mice	0.03	96	Liver, forestomach, lung
MeIQ	Rats	0.03	40	Large intestine, Zymbal gland, skin, oral cavity, mammary gland
	Mice	0.04 & 0.01	91	Liver, forestomach
MeIQx	Rats	0.04	61	Liver, Zymbal gland, clitoral gland, skin
	Mice	0.06	84	Liver, lung, hematopoietic system
Trp-P-1	Rats	0.02 & 0.015	52	Liver
	Mice	0.02	89	Liver
Trp-P-2	Mice	0.02	89	Liver
Glu-P-1	Rats	0.05	67	Liver, small & large intestines, Zymbal gland, clitoral gland
	Mice	0.05	68	Liver, blood vessels
Glu-P-2	Rats	0.05	104	Liver, small & large intestines, Zymbal gland, clitoral gland
	Mice	0.05	84	Liver, blood vessels
A a C	Mice	0.08	98	Liver, blood vessels
MeA a C	Mice	0.08	84	Liver, blood vessels

8.5 RANGKUMAN

Reaksi Maillard berpengaruh terhadap nilai gizi produk pangan selama proses pengolahan dalam tiga cara. Pertama, reaksi Maillard dapat menurunkan kualitas protein, kedua pembentukan senyawa Amadori dengan lisin pada awal reaksi Maillard, dan ketiga destruksi lisin dan asam-asam amino esensial lain melalui reaksi pramelanoidin selama pengembangan reaksi Maillard.

Senyawa toksik pada dasarnya termasuk senyawa-senyawa yang tidak tercerna dalam tubuh, mutagenik dan senyawa karsinogenik. Produk reaksi Maillard yang banyak disoroti sebagai senyawa toksik adalah lisinalanin (LAL) dan feniletilaminoalanin. Sifat toksik LAL berhubungan dengan kemampuannya mengkelat unsur-unsur mikro dalam aliran tubuh (*body fluids*) dan jaringan. Dengan fungsi kerja tersebut LAL menurunkan ketersediaan unsur mikro dalam tubuh

8.6 LATIHAN SOAL

1. Reaksi Maillard berpengaruh terhadap nilai gizi produk pangan selama proses pengolahan dalam tiga cara. Sebutkan
2. Mengapa Tiamin dan vitamin B6 mengalami kerusakan selama penyimpanan susu bubuk?
3. Senyawa toksik pada dasarnya termasuk senyawa-senyawa yang tidak tercerna dalam tubuh, mutagenik dan senyawa karsinogenik. Senyawa apa yang merupakan Produk reaksi Maillard yang banyak disoroti sebagai senyawa toksik?
4. Mekanisme pembentukan LAL (lisinalanin) dipostulatkan mengikuti dua tahap. Jelaskan tahapan tersebut.
5. senyawa-senyawa amin heterosiklik bersifat mutagenik terbentuk dari gula reduksi, asam amino dan karelin/kreatini. Pembentukan senyawa aminoimidazoquinolin dan quinoksalin (senyawa IQ) dalam produk daging dipengaruhi oleh faktor apa saja?

8.7 UMPAN BALIK DAN TINDAK LANJUT

Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan VIII.

Rumus: $\frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$

5

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan⁴ pada bab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.



AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PRODUK REAKSI MAILLARD

Pada saat ini dicari bahan-bahan alami yang digunakan sebagai pengawet makanan dengan tujuan untuk mengurangi resiko bagi konsumen dan meningkatkan penerimaan bahan pangan dengan menggunakan bahan-bahan alami sebagai bahan tambahan pangan. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan pengawet, terutama untuk mengontrol oksidasi adalah produk reaksi Maillard.

Produk reaksi Maillard yang dapat dijadikan antioksidan diantaranya adalah reaksi antara protein, BSA (Bovine Serum Albumin), dengan tiga karbohidrat, yaitu glukosa (GL), fruktosa (FR), dan ribosa (RI) dan dua lipid teroksidasi, yaitu hidroperoksida metil linoleat (HP) dan produk sekunder metil linoleat (SP). Campuran reaksi ini diinkubasikan pada 80^o C selama 24 jam untuk menghasilkan protein termodifikasi, yaitu GLBSA, FRBSA, RIBSA, HPBSA dan SPBSA (alaiz *et al.*, 1997).

Produk reaksi Maillard dapat menurunkan terjadinya oksidasi (ditentukan berdasarkan nilai TBARS) pada minyak kedele lebih tinggi dibandingkan dengan proteinnya saja. Walaupun apabila dibandingkan dengan BHT (butilyid hydroxytoluene) kemampuan menurunkan terjadinya oksidasi lebih kecil (Gambar 9.1). Tetapi yang perlu diperhatikan disini adalah produk reaksi Maillard, baik reaksi antara protein dengan karbohidrat atau protein dengan lipid yang teroksidasi, berkontribusi untuk meningkatkan stabilitas bahan pangan dari oksidasi selama pengolahan dan penyimpanan.

9.1 Mekanisme Produk Reaksi Maillard sebagai Antioksidan

Sifat produk reaksi Maillard yang bertindak sebagai antioksidan adalah:

1. **Adanya gugus OH (hidroksil)** dari glukosa yang terdapat pada produk reaksi Maillard

Gugus OH dapat mengurangi terjadinya proses oksidasi dengan cara:

a. Mereduksi logam

Logam yang dapat mempercepat terjadinya proses autooksidasi diantaranya adalah Fe^{3+} . Yoshimura *et al.*, (1997) melakukan penelitian untuk melihat kekuatan produk reaksi Maillard mereduksi logam. Produk reaksi Maillard diperoleh dari pemanasan campuran glukosa-glisin. Produk reaksi Maillard ini dicampurkan dengan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, ternyata absorpsi warna $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ pada panjang gelombang 420 nm semakin menurun reaksi. Hal ini disebabkan ion Fe^{3+} direduksi oleh gugus OH yang terdapat pada produk reaksi Maillard menjadi Fe^{2+} . Sebaliknya, apabila gugus OH diganti dengan BrCN melalui proses brominasi, maka absorpsi $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ pada panjang gelombang 420 nm semakin meningkat dengan bertambahnya gugus OH yang diganti dengan BrCN. Artinya jumlah gugus OH yang dapat mereduksi ion Fe^{3+} juga semakin sedikit.

b. Chelating logam

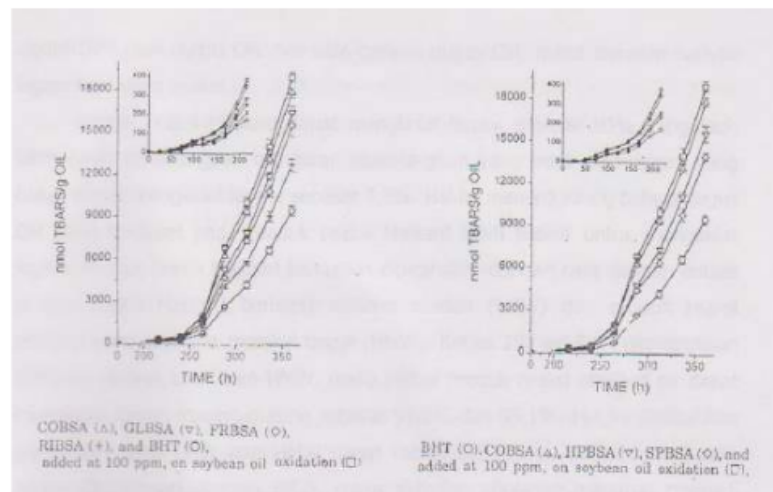
Chelating logam atau pengikatan logam dapat dilakukan oleh gugus OH yang terdapat pada produk reaksi Maillard. Sebagai contoh adalah pengikatan logam Fe^{3+} oleh gugus OH. Semakin banyak gugus OH, maka semakin banyak logam Fe^{3+} yang terikat.

Produk reaksi Maillard dapat mengkelat logam sebesar 93% yang jauh lebih besar dibandingkan campuran glukosa-glisin yang tidak dipanaskan yang hanya dapat mengkelat logam sebesar 7,3%. Hal ini menunjukkan, bahwa gugus OH yang

terdapat pada produk reaksi Maillard lebih reaktif untuk mengkelat logam. Produk reaksi Maillard kemudian dipisahkan dengan cara dialisis antara produk reaksi Maillard berberat molekul rendah (LMW) dan produk reaksi Maillard yang berberat molekul tinggi (HMW). Ketika 200 μg Fe^{3+} ditambahkan kedalam ekstrak LMW dan HMW, maka kedua produk reaksi Maillard ini dapat mengkelat logam masing-masing sebesar 91,1% dan 95,1 %. Hal ini disebabkan gugus OH pada LMW dan HMW dapat mengkelat logam. Sebaliknya apabila gugus OH diganti dengan BrCN, maka aktivitas chelating menurun menjadi 69,02%. Artinya gugus OH memang berperan untuk mengkelat logam

c. Penghambatan radikal bebas (radikal hidroksil)

Radikal-radikal bebas terbentuk apabila terjadi reaksi antar logam dengan hidroperoksida. Pada penelitian Yoshimura et al., (1997) radikal hidroksil diperoleh melalui reaksi fenton antara Fe^{3+} dan H_2O_2 . Radikal bebas yang terbentuk dapat dihambat oleh gugus OH yang terdapat pada produk reaksi Maillard secara tidak langsung. Artinya logam yang terbentuk dapat direduksi atau dikelat dulu oleh gugus OH. Sehingga logam tersebut tidak dapat bereaksi dengan hidroperoksida. Akhirnya hidroperoksida tidak dapat membentuk radikal bebas.



Gambar 9.1 Pengaruh produk reaksi Maillard terhadap aktivitas oksidatif pada minyak kedelai yang ditentukan dengan nilai TBARS

Produk reaksi Maillard dapat menghambat pembentukan radikal hidroksil sebesar 61,5%. Apabila produk reaksi Maillard dipisahkan menjadi LMW (Low molecule weight) dan HMW (hight molecule weight), maka penghambatan radikal hidroksil masing-masing sebesar 55,4% dan 68,9%. Apabila gugus OH pada produk reaksi Maillard diganti dengan BrCN, maka penghambatan radikal bebas menjadi menurun. Karena gugus OH yang berfungsi untuk mereduksi atau mengkelat logam menjadi berkurang.

Hasil penelitian Dedin F. Rosida *et al* (2009) didapatkan bahwa Pada produk moromi dan moromi dipanaskan fraksi dengan berat molekul 30 kDa sampai lebih besar dari 100 kDa mempunyai kemampuan menghambat oksidasi lemak atau asam lemak dan menangkap radikal DPPH paling kuat dibandingkan fraksi dengan berat molekul yang lebih kecil. Fraksi dengan berat molekul besar ini aktivitasnya \geq BHT 200 ppm untuk penghambatan oksidasi lemak atau asam lemak dan lebih besar dari vitamin C 100 ppm dalam menangkap radikal DPPH.

Pada produk kecap manis dengan gula merah dan gula pasir mempunyai kemampuan menangkap radikal DPPH lebih kuat pada fraksi

dengan berat molekul 30 kDa sampai lebih besar dari 100 kDa dan aktivitasnya sama dengan vitamin C 200 ppm, sedangkan penghambatan oksidasi lemak atau asam lemak lebih kuat pada fraksi dengan berat molekul < 10 kDa sampai 30 kDa dan aktivitasnya lebih besar dari BHT 200 ppm. Pada produk moromi dan moromi dipanaskan fraksi dengan berat molekul 30 kDa sampai lebih besar dari 100 kDa mempunyai kemampuan menghambat oksidasi lemak atau asam lemak dan menangkap radikal DPPH paling kuat dibandingkan fraksi dengan berat molekul yang lebih kecil. Fraksi dengan berat molekul besar ini aktivitasnya \geq BHT 200 ppm untuk penghambatan oksidasi lemak atau asam lemak dan lebih besar dari vitamin C 100 ppm dalam menangkap radikal DPPH (Dedin F. Rosida *et al*/2006; 2009).

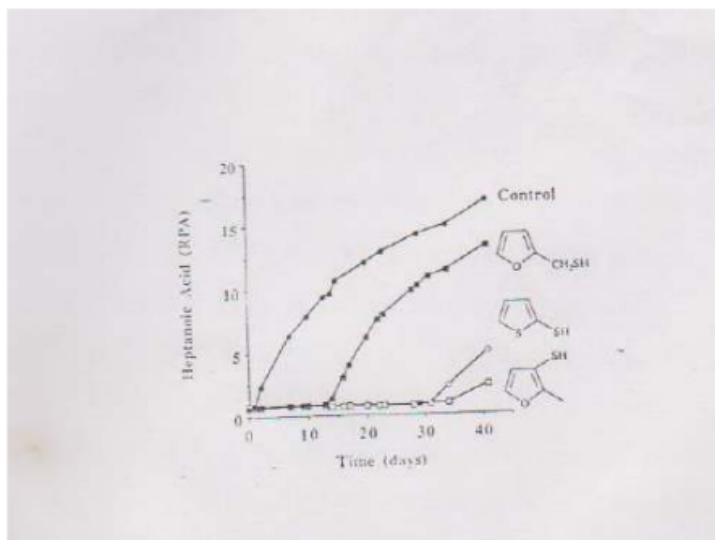
Pada produk kecap manis dengan gula merah dan gula pasir mempunyai kemampuan menangkap radikal DPPH lebih kuat pada fraksi dengan berat molekul 30 kDa sampai lebih besar dari 100 kDa dan aktivitasnya sama dengan vitamin C 200 ppm, sedangkan penghambatan oksidasi lemak atau asam lemak lebih kuat pada fraksi dengan berat molekul < 10 kDa sampai 30 kDa dan aktivitasnya lebih besar dari BHT 200 ppm.

2. Adanya gugus alkil dan thiol pada produk reaksi Maillard bersulfur

Eiserich dan Shibamoto (1994) melihat bahwa tiopen yang tersubstitusi alkil, seperti metil, etil dan butil pada posisi dua dapat meningkatkan aktivitas antioksidatif dibandingkan dengan tiopen yang tidak tersubstitusi. Gugus alkil dapat menghambat pembentukan asam heptanoat dari heptanal. Karena gugus alkil dapat menangkap radikal-radikal bebas, seperti peroksil dan alkoksil.

Selain itu, gugus thiol (SH) yang terdapat pada 2-methyl-2-furanthiol dan 2-thiophenethiol juga dapat menghambat oksidasi heptanal selama masing-masing 34 dan 30 hari (Gambar 9.2). Furfuryl mercaptan yang juga mengandung gugus thiol menunjukkan aktivitas antioksidatif yang lebih rendah dibandingkan senyawa yang mengandung gugus thiol yang langsung terikat dengan cincin aromatik heterosiklik. Furfuryl mercaptan menghambat oksidasi heptanal hanya 13 hari

(Gambar 9.2). Sifat produk reaksi Maillard yang mengandung gugus thiol dapat bersifat menurunkan aktivitas oksidatif, karena gugus thiol bersifat nukleofilik yang dapat menangkap radikal-radikal bebas, seperti radikal peroksil dan alkosil.



Gambar 9.2 Aktivitas antioksidatif furfuryl mercaptan, 2-thiophenethiol dan 2-methyl-3-furanthiol

Dengan adanya senyawa heterosiklik yang mengandung sulfur pada berbagai bahan pangan, terutama pada produk daging, dapat meningkatkan stabilitas terhadap oksidasi. Selain itu keamanannya lebih terjamin dibandingkan dengan antioksidan sintetik, seperti BHT (butylated hydroxytoluene) dan BHA (butylated hydroxyanisole).

9.2 Macam-macam Senyawa Produk Reaksi Maillard yang Bertindak sebagai Antioksidan

Aktivitas antioksidan produk reaksi Maillard pertama kali diamati oleh Franzke dan Iwainsky (1954) yang melaporkan produk reaksi pencoklatan non enzimatis berpengaruh terhadap stabilitas margarin yang di oksidasi. Minyak dan lemak yang tercampur dengan serbuk

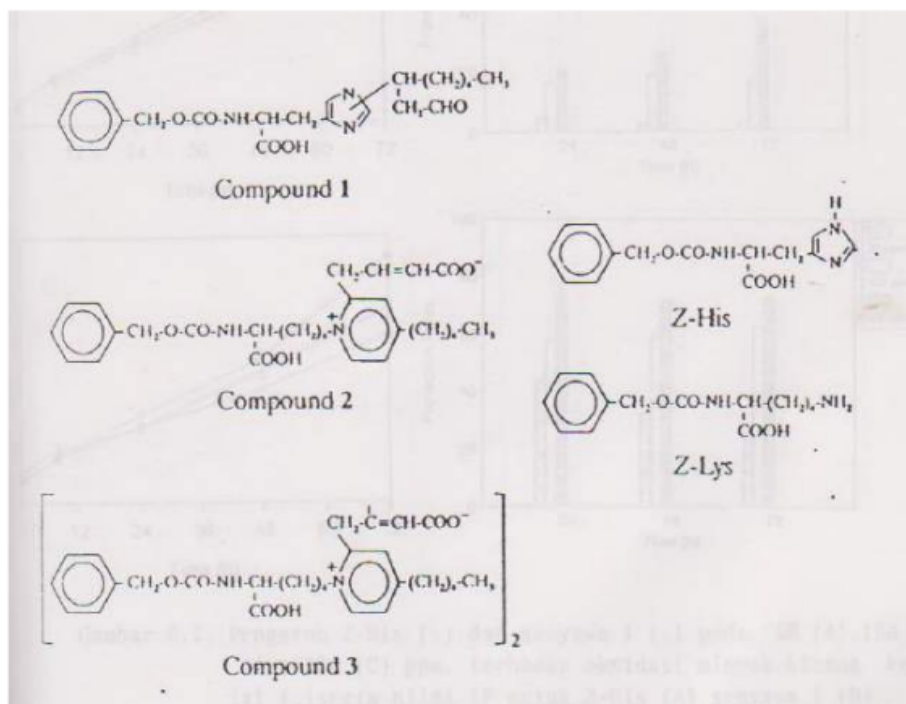
whey, tepung gandum, kasein atau asam amino tahan terhadap kerusakan oksidasi setelah pemanasan suhu 100-300°C (Dworschak dan Szabo, 1986). Macku dan Shibamoto melaporkan dalam ekstrak hasil pemanasan minyak nabati dengan asam amino teridentifikasi senyawa-senyawa sulfur dan nitrogen heterosiklik yang bersifat antioksidan. Selain S dan N heterosiklik, oksigen heterosiklik juga telah dilaporkan bersifat antioksidan (Eisnerich *et al.*, 1995). Dalam uraian ini akan dibahas senyawa heterosiklik volatil dan produk reaksi Maillard non volatil yang mempunyai aktivitas antioksidan.

a. Antioksidan Senyawa Non Volatil

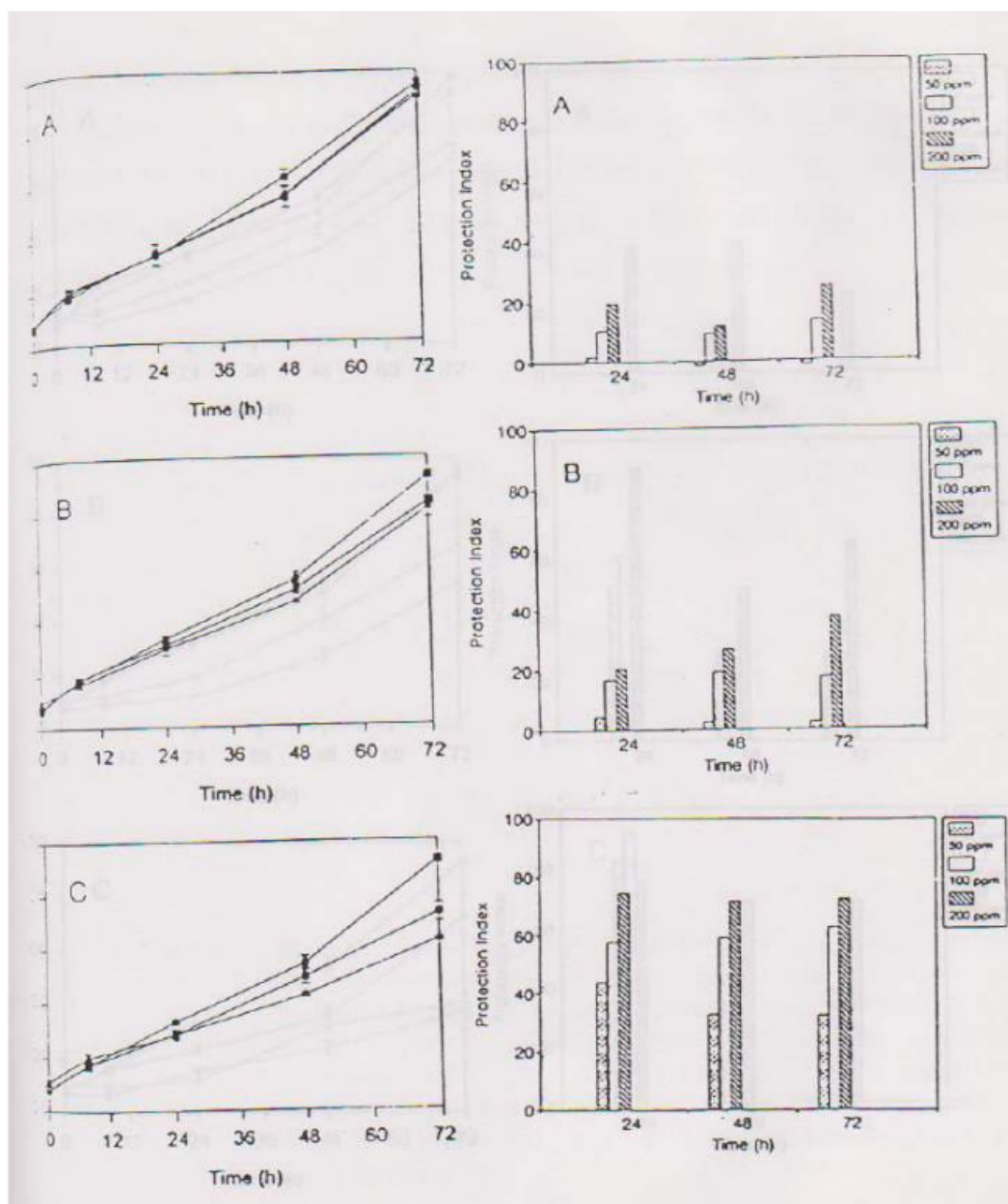
Produk reaksi Maillard non volatil yang telah dilaporkan berfungsi sebagai antioksidan adalah produk reaksi Maillard berberat molekul tinggi (melanoidin) dan berberat molekul rendah. Alaiz (1995) mengamati aktivitas antioksidan senyawa yang terbentuk dari reaksi antara (E)-2-oktenal dengan 2-His dan Z-Lys dalam minyak kacang kedelai. Tiga senyawa produk reaksi yang dicobakan masing-masing N-(karbobenziloksi)-1(3)-[1'-(formilmetil)heksil]-L-histidin dihidrat (senyawa 1), 1-(N²-(karbobenziloksi)-L-lisil)-2-[3'-karboksi-2'(E)propen-1'I]-4-pentilpiridinium betain (senyawa 2) dan bis [1-(N²-karbobenziloksi)-L-lisil)-2-[3'-karboksi-2'-propen-1'-diil]-4-pentilpiridinium betain (senyawa 3) (struktur molekul tersaji pada Gambar 9.3). Ketiga senyawa tersebut dibandingkan dengan senyawa asalnya (Z-Lys dan Z-His) dari antioksidan sintetik (BHT dan Propil galat). Alaiz *et al.*, (1995) menemukan aktivitas antioksidan senyawa yang dicobakan mengikuti urutan Z-His < Z-Lys < 1 < 2 = BHT = < propil galat.

Pengaruh Z-His dan senyawa 1 terhadap penghambatan oksidasi minyak kacang kedelai tersaji pada Gambar 9.4; pengaruh Z-Lys, senyawa 2 dan 3 terhadap penghambatan oksidasi minyak kacang kedelai tersaji pada Gambar 9.5. Pada Gambar 9.4 nampak terlihat indeks proteksi (PI = 100 - [100 x (TBARS sampel - TBARS gallat) / (TBARS minyak - TBARS gallat)]) senyawa 1 relatif lebih tinggi dibandingkan dengan Z-His. Demikian pula IP senyawa 2 dan 3 lebih

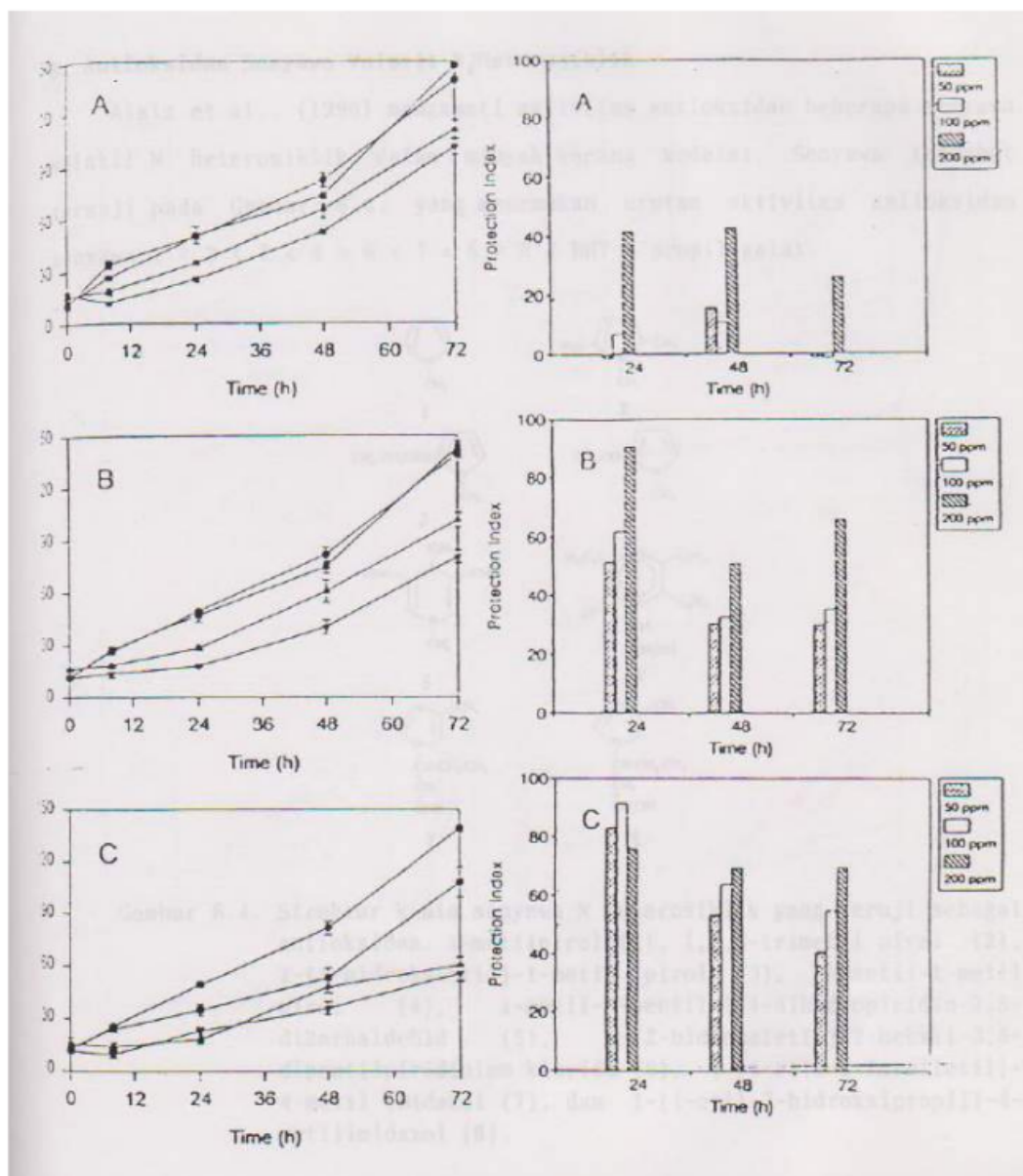
tinggi dibandingkan dengan Z-Lys (Gambar 9.5) (TBARS = asam tiobarbiturat-zat aktif)



Gambar 9.3 Struktur kimia senyawa teruji aktivitas antioksidannya



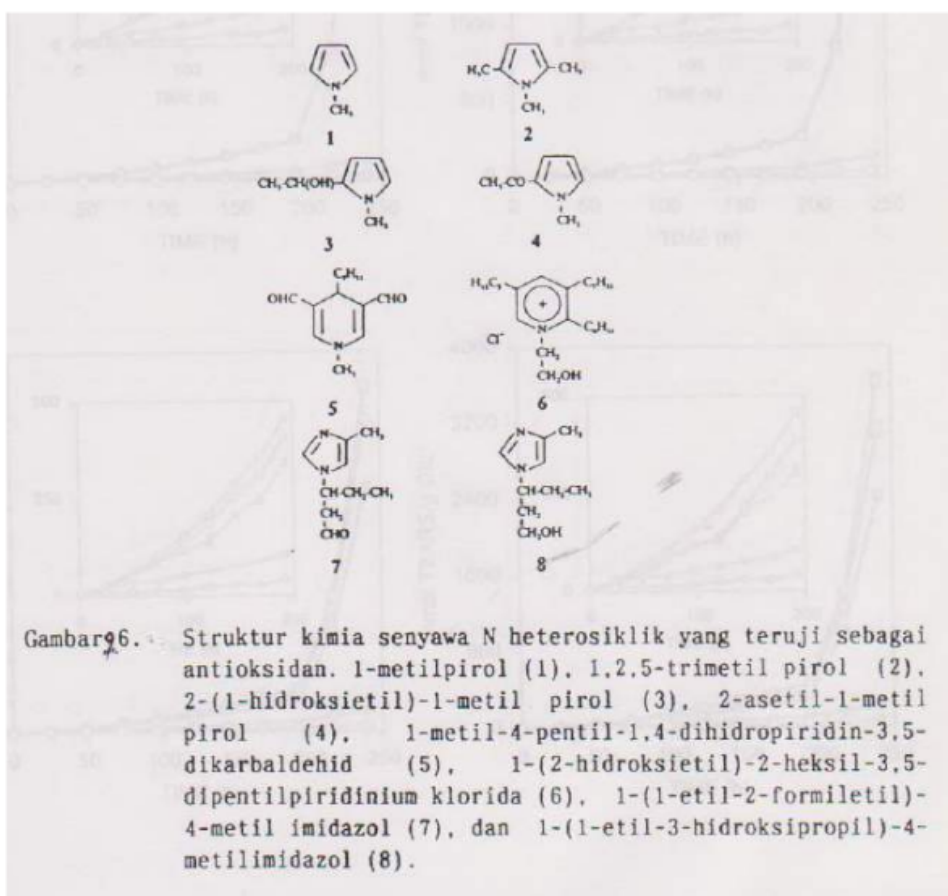
Gambar 9.4 Pengaruh Z-His (A), senyawa 1 (B) dan BHT (C) terhadap oksidasi minyak kedelai dan nilai indeks protektifnya (IP)



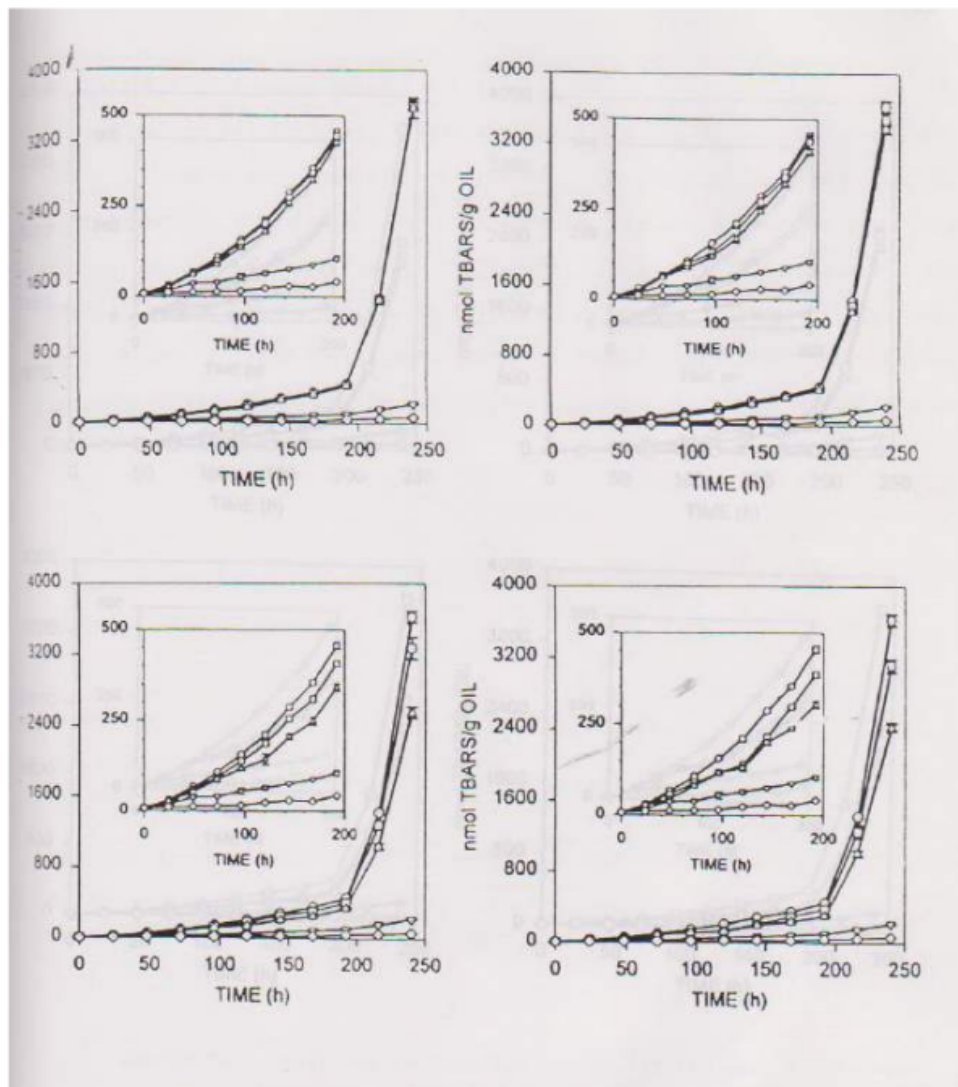
Gambar 9.5 Pengaruh Z-Lys (A), senyawa 2 (B) dan senyawa 3 (C) terhadap oksidasi minyak kedelai dan nilai indeks protektifnya (IP)

b. Antioksidan Senyawa Volatil N-heterosiklik

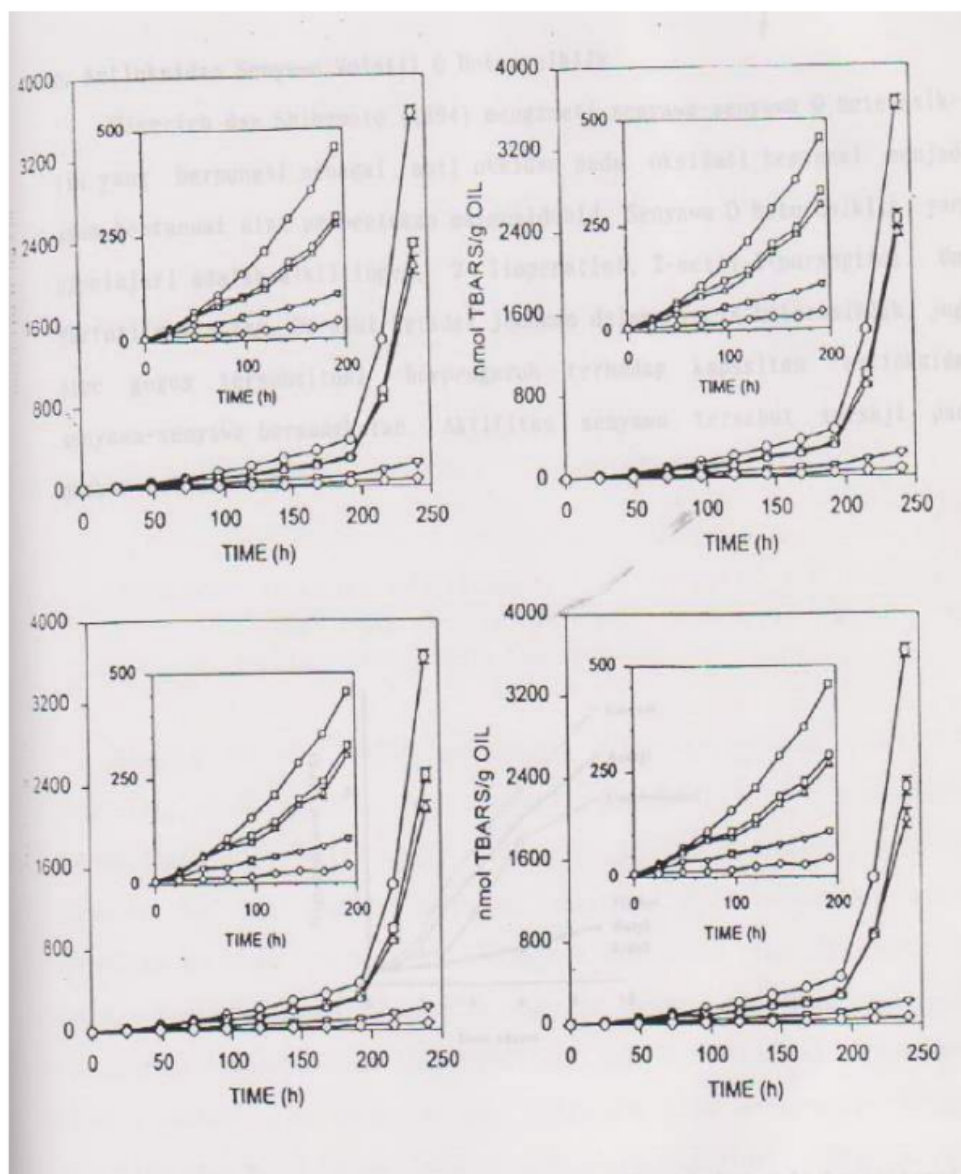
Alaiz *et al.*, (1996) mengamati aktivitas antioksidan beberapa senyawa volatil N heterosiklik dalam minyak kacang kedelai. Senyawa tersebut tersaji pada Gambar 9.6, yang menemukan urutan aktivitas antioksidan senyawa $1 < 2 < 3 < 4 = 6 < 7 = 5 < 8 < \text{BHT} < \text{propil galat}$.



Pengaruh-pengaruh senyawa tersaji pada Gambar berikut:



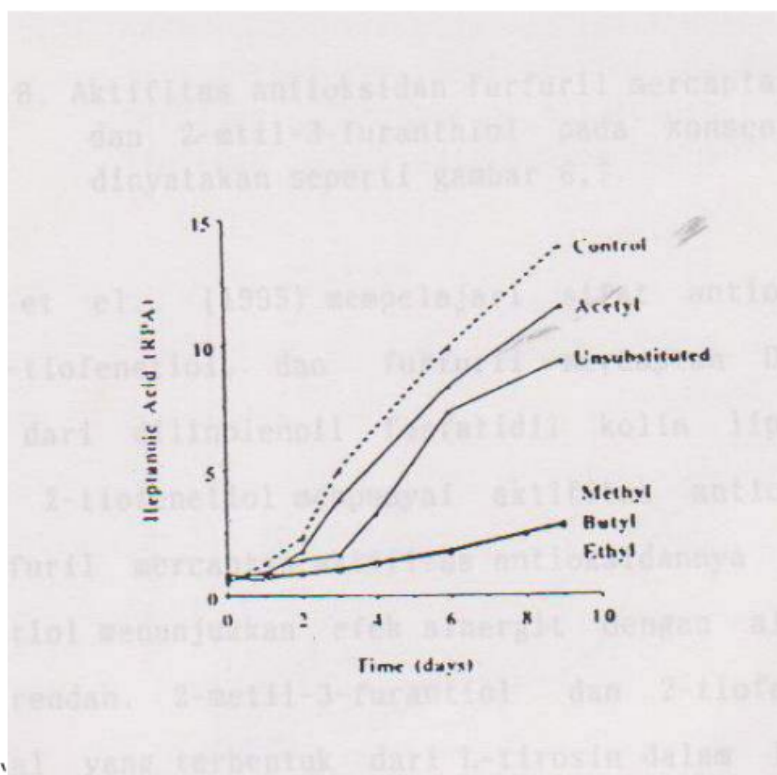
Gambar 9.7 Pengaruh senyawa 1 (A), 2(B), 3(C) dan 4 (D) pada oksidasi minyak kedelai (100 ppm, 200 ppm) dan BHT 200 ppm, propil gallat 200 ppm



Gambar 9.8. Pengaruh senyawa 5 (A), 6(B), 7(C) dan 8 (D) pada oksidasi minyak kedelai (100 ppm, 200 ppm) dan BHT 200 ppm, propil gallat 200 ppm

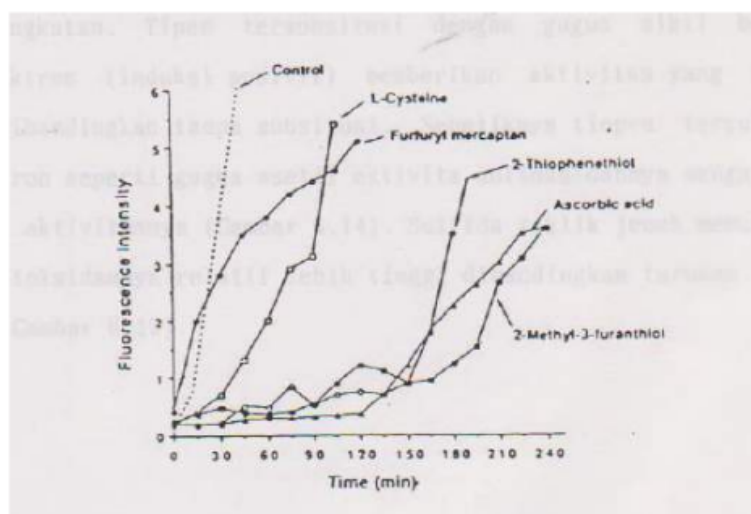
c. Antioksidan Senyawa Volatil O Heterosiklik

Eiserich dan Shibamoto (1994) mengamati senyawa-senyawa O heterosiklik yang berfungsi sebagai antioksidan pada oksidasi heptanal menjadi asam heptanoat atau pembentukan malonaldehid. Senyawa O heterosiklik yang dipelajari adalah alkiltiopen, 2-Tiopenatiol, 2- metil-3purangtiol, dan furfuralmercaptan. Derajat ketidakjenuhan dalam cincin heterosiklik, juga tipe gugus tersubstitusi berpengaruh terhadap kapasitas antioksidan senyawa-senyawa bersangkutan. Aktivitas senyawa tersebut tersaji pada Gambar 9.9.



Gambar 9.9 Aktivitas antioksidan turunan tiofen pada konsentrasi 1 mM

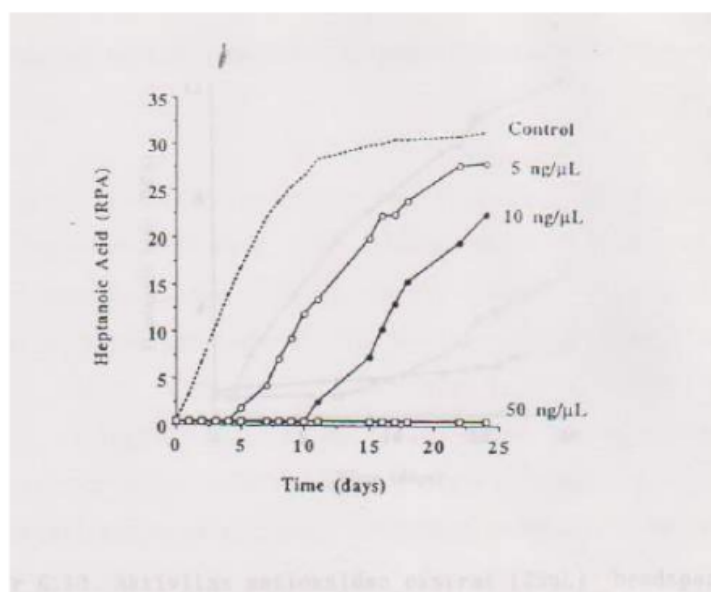
Eiserich et al., (1995) mempelajari sifat antioksidan 2-metil-3-furantiol, 2-tiofenetiol, dan furfural mercaptan. Dalam pembentukan Malonaldehid dari linoleoil fosfatidil kolin liposoma. 2-metil-3-furantiol dan 2-tiofenetiol mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat, sedangkan furfural mercaptan aktivitas antioksidannya relatif lemah. 3-metil-3-furantiol menunjukkan efek sinergit dengan alfa tokoferol pada konsentrasi rendah. 2-metil-3-furantiol dan 2-tiofenetiol scavenged tiroksil radikal yang terbentuk dari L-tirosin dalam larutan air dengan aktivitas yang mirip dengan asam askorbat, dimana furfural mercaptan dan L-sistein tidak scavenger, 2-metil-3-furantiol bereaksi cepat dengan H_2O_2 dalam larutan buffer menghasilkan bis (2-metil-3-furil) disulfida. Scavenging mioglobin tiroksil radikal dan dekomposisi H_2O_2 diduga merupakan mekanisme antioksidatif 2-metil-3-furantiol dan 2-tiofenetiol. Aktivitas antioksidan tersebut tersaji pada Gambar 9.10.



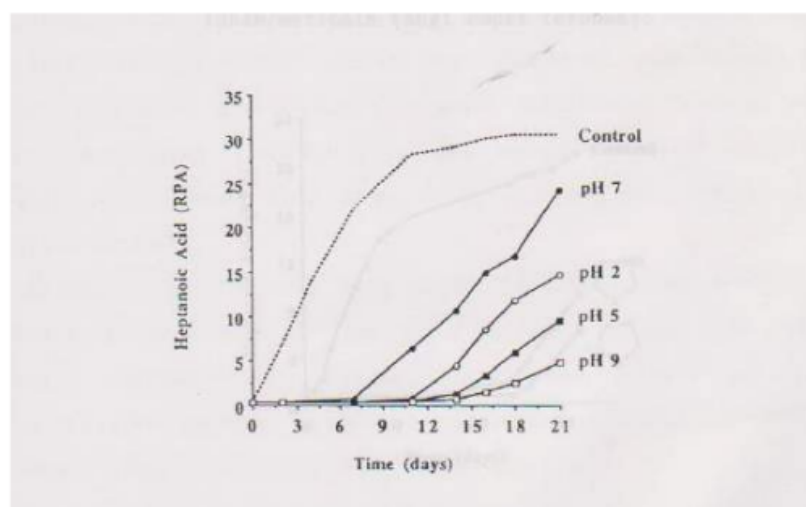
Gambar 9.10 Pengaruh konsentrasi 2 uM masing-masing senyawa terhadap pembentukan ditirosin

d. Antioksidan Senyawa Volatil S Heterosiklik

Ekstrak pemanasan microwave produk reaksi Maillard sistem glukosa/sistein, sampel digunakan headspace hasil pemanasan minyak kacang tanah/sistein dan minyak kacang tanah/metionin ditemukan oleh Eiserch dan Shibamoto (1994) mengandung antioksidan yang relatif kuat dibandingkan dengan alfa tokoferol (Gambar 9.11 dan Gambar 9.12). Beberapa senyawa-senyawa sulfur heterosiklik yang terbentuk melalui reaksi tersebut dievaluasi sifat antioksidannya melalui oksidasi heptanal menjadi asam heptanoat dalam larutan diklorometan. Alkil tiopen, tiazol, tiazolin, dan 1,3-ditiolan menghambat oksidasi heptanal menjadi asam heptanoat pada berbagai periode waktu. Derajat ketidakjenuhan dalam cincin heterosiklik, juga tipe substitusi bervariasi pengaruhnya terhadap kapasitas antioksidan senyawa bersangkutan. Tiopen tersubstitusi dengan gugus alkil bersifat pendorong elektron (induksi positif) memberikan aktivitas yang relatif lebih kuat dibandingkan tanpa substitusi. Sebaliknya tiopen tersubstitusi penarik elektron seperti gugus asetil aktivitas antioksidannya sangat lemah bahkan hilang aktivitasnya. Sulfida siklik jenuh menunjukkan aktivitas antioksidannya relatif lebih tinggi dibandingkan turunan tiazol atau tiopen.



Gambar 9.11 Aktivitas antioksidan tokoferol pada berbagai tingkat konsentrasi



Gambar 9.12 Aktivitas antioksidan ekstrak L-sistein/D-glukosa (5 μ L) yang terbentuk pada berbagai nilai pH

e. Redukton

Antioksidan dikelompokkan ke dalam dua kategori: menangkap radikal bebas dan mengkelat logam/metal (Lu & Baker 1986). Efek menangkap radikal dari ovalbumin semakin meningkat dengan adanya konyugasinya dengan dekstran atau galaktomanan melalui reaksi Maillard antara gugus amino bebas dalam protein dan gugus karbonil pereduksi dalam polisakarida (Nakamura *et al.* 1992).

Antioksidan dibentuk pada beberapa level selama pemanasan karbonil-amina, termasuk degradasi senyawa Amadori menjadi amino redukton atau pembentukan polimer dengan aktivitas antioksidan. Bailey & Won Um (1992) dapat membuktikan bahwa reduktone dari MRP dapat menghambat oksidasi minyak sayur. Sebuah redukton dari 3-hidroksi-2-ketopropane yang terdiri senyawa dikarbonil vicinal berkemampuan pembentukan enolisasi atau enol dan membentuk gugus keto diikuti lepasnya atom H. Contohnya triosa redukton, asam dihidromalat, asam reduktat dan dihidro pirogallol.

Redukton sebagai agen pereduksi organik mempunyai gugus fungsional yang berasal dari konyugasi enediol dan karbonil. Peneliti yang lain menunjukkan bahwa analog amino dimana gugus hidroksilnya digantikan oleh NH_2 atau gugus karbonilnya digantikan oleh gugus $\text{C}=\text{NR}$ menjadi agen pereduksi yang kuat.

Menurut Bailey & Won Um (1992), tiga jalan utama yang berperan pada pembentukan senyawa intermediat dalam antioksidan dan pembentukan pigmen dari senyawa Amadori, yaitu 1-deoksioson, 1-deoksiredukton dan 3-deoksioson. Jalur ke empat dari degradasi strecker. Pembentukan enol dari 1-deoksioson (1-deoksiredukton) dengan degradasi menghasilkan piruvaldehid, diasetil, asetaldehid, asam asetat dan redukton. Senyawa-senyawa ini potensial sebagai prekursor antioksidan, khususnya ketika pemanasan amina.

Amino redukton kemungkinan lebih efektif dan stabil dibandingkan dengan enediol. Redukton amino lebih baik sebagai antioksidan disebabkan nitrogennya menyumbangkan gugus elektrofilik yang mampu mengkelat ion metal seperti copper dan Fe yang diketahui mempunyai aktivitas katalitik.

Gugus penting lainnya dari senyawa yang dibentuk oleh dehidrasi senyawa 2,3-enolisasi (2,3-osone) yang diikuti rekondensasi dengan amina adalah amina redukton, yang kemungkinan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Reaksi ini dapat berasal dari degradasi D-Fruktoseamine dalam larutan alkali

Produk reaksi Maillard dengan perlakuan panas dari sistem model glukosa-glisin menghambat lebih dari 90 % radikal OH. Mekanisme penghambatannya tidak hanya menangkap radikal OH secara langsung tetapi juga dengan menekan pembentukan radikal OH melalui pengkelatan dengan logam Fe^{2+} (reaksi Fenton). Kemampuan pengkelatan metal dari produk reaksi Maillard dengan berat molekul yang besar adalah lebih tinggi dibandingkan dengan yang mempunyai berat molekul kecil (Yoshimura *et al* 1997). Pada Tabel 9.1 memperlihatkan banyak sistem model produk reaksi Maillard mempunyai aktivitas sebagai antioksidan.

Pembentukan produk reaksi Maillard dari pemanasan campuran lisin dan madu memberikan efek antioksidan dalam sistem asam linoleat (Antony et al. 2000). Kondisi-kondisi reaksi seperti pH, waktu dan suhu reaksi, perbandingan molar reaktan dan konsentrasinya, aktivitas air dan medium reaksi sangat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Antioksidan dibentuk pada beberapa tahap selama reaksi Maillard, termasuk degradasi senyawa Amadori pada amino redukton, atau redukton, dan pembentukan polimer dengan aktivitas antioksidan

- a). Dengan pengukuran polarografik konsumsi oksigen, gas kromatografi-head space atau deteksi bilangan peroksida
- b). Pengamatan spektroskopik penghambatan crocin bleaching
- c). Dengan Potasium Ferisianida
(Manzocco L *et al.* 2001)

(Bailey & Won Um 1992). Contoh yang lain aktivitas antioksidan produk reaksi Maillard juga berpengaruh terhadap stabilitas oksidasi pada margarin.

Produk reaksi Maillard non volatil yang telah dilaporkan berfungsi sebagai antioksidan adalah produk reaksi Maillard berberat molekul tinggi (melanoidin) dan berberat molekul rendah (Bailey & Won Um 1992). Salah satu penelitian yang dilakukan oleh Schlüsselwörter (2001) menggunakan melanoidin standar yang ditambahkan pada minyak wijen dan efeknya dibandingkan dengan α -tokoferol dan sesamol, yaitu senyawa antioksidan yang terdapat pada minyak wijen. Hasilnya menunjukkan bahwa efek antioksidannya meningkat dengan semakin meningkatnya suhu pemanasan biji wijen.

Dua mekanisme yang mungkin yang dapat menjelaskan sifat antioksidan melanoidin adalah pembentukan radikal bebas (sebagai inhibitor) dan pembentukan struktur reduktone (enaminol). Struktur melanoidin mengindikasikan adanya tipe redukton yang berperan sebagai antioksidan (mengkelat metal sebagaimana aktivitas reduksi). Hal ini menunjukkan struktur hidroksi piridone atau seperti piranone dalam melanoidin yang mengkompleks besi (Fe^{+++}) dan mereduksi aktivitas katalitiknya. Struktur ini menyerupai maltol yang mengkelat besi (Bailey & Won Um 1992).

Enediol dan enaminol pada melanoidin mempunyai aktivitas pereduksi. Perubahan bentuk oksidasi-reduksi dari redukton melanoidin berpengaruh pada intensitas warna, pengkelat metal dan disosiasi gugus fungsional (Tabel 9.2).

Tabel 9.2 .Efek oksidasi dan reduksi pada aktivitas pengkelat, intensitas warna dan berat molekul melanoidin

Melanoidin	Aktivitas Pengkelat		E ^{1%} _{500nm}
	berikatan Cu		
	(μg Cu/mg melanoidin)		
	peak positif	peak negatif	
utuh 32000	22.9	8.4	30.4
teroksidasi 51000	29.8	8.8	20.8
tereduksi 9.1 41000		2.3	19.0

(Homma *et.al*/1997)

Melanoidin merupakan reduktone dan polimer amfoter. Pada proses pengolahan kecap, melanoidin mengalami oksidasi-reduksi. Enediol dan enaminol dalam melanoidin termasuk dalam aktivitas reduksi dan antioksidan. Perubahan dalam bentuk oksidasi-reduksi dari redukton dalam melanoidin mempengaruhi warna, aktivitas mengkelat metal dan disosiasi gugus fungsional.

9.3 RANGKUMAN

Antioksidan dibentuk pada beberapa level selama pemanasan karbonil-amina, termasuk degradasi senyawa Amadori menjadi amino redukton atau pembentukan polimer dengan aktivitas antioksidan. Dua mekanisme yang mungkin yang dapat menjelaskan sifat antioksidan melanoidin adalah pembentukan radikal bebas (sebagai inhibitor) dan pembentukan struktur reduktone (enaminol). Struktur melanoidin mengindikasikan adanya tipe redukton yang berperan sebagai antioksidan (mengkelat metal sebagaimana aktivitas reduksi).

9.4 LATIHAN SOAL

1. Jelaskan mekanisme Produk Reaksi Maillard sebagai Antioksidan.
2. Mengapa Gugus OH dapat mengurangi terjadinya proses oksidasi?
3. Berikan contoh senyawa non volatil produk reaksi Maillard yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan.
4. Berikan contoh senyawa antioksidan dari senyawa volatil produk reaksi Maillard. Terdapat pada bahan pangan apa
5. Senyawa Alkil tiopen, tiazol, tiazolin, dan 1,3-ditiolan merupakan senyawa volatil S-heterosiklik yang dapat bersifat sebagai antioksidan. Bagaimana mekanismenya?

1

9.5 UMPAN BALIK DAN TINDAK LANJUT

Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan IX.

$$\text{Rumus: } \frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$$

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan⁴ ada bab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.



REAKSI MAILLARD IN VIVO

Reaksi Maillard yang dipelajari secara intensif saat ini tidak hanya yang terjadi dalam bahan pangan terolah dan tersimpan, akan tetapi juga yang terjadi dalam tubuh manusia. Studi awal tentang keterlibatan reaksi Maillard dalam tubuh manusia terpusat pada gejala ketidaknormalan proses biokimiawi yang terjadi pada penderita diabetes melitus. Penderita diabetes melitus level glukosa yang bersirkulasi relatif tinggi. Studi lanjut menyangkut keterlibatan reaksi Maillard dalam proses penuaan yang memberi petunjuk adanya keterkaitan antara penyakit diabetes dengan proses penuaan. Demikian pula pembentukan katarak dan kerusakan DNA. Penyelidikan keterlibatan reaksi secara *in vivo*, menggunakan produk reaksi Maillard yang mencakup pirolin pentosidin, karboksimetil lisin (CML) dan AGE-protein.

10.1 DIABETES

Penyakit diabetes adalah penyakit yang disebabkan karena terganggunya fungsi hormon adrenalin yang berakibat terhadap peningkatan glukosa darah. Darah mengandung haemoglobin yang berfungsi sebagai pembawa oksigen dan karbondioksida produk metabolisme tubuh. Haemoglobin termasuk protein, sehingga keberadaannya bersama dengan glukosa dalam plasma darah memungkinkan terjadinya reaksi Maillard sebagaimana yang terjadi secara *in vitro*.

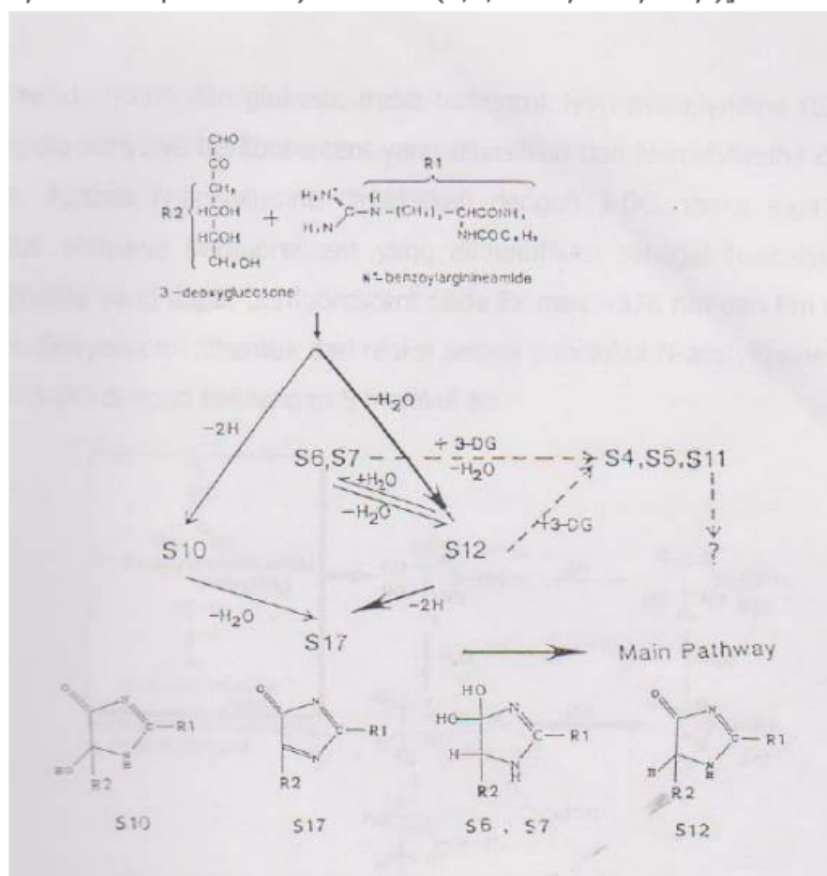
Darah pasien dan binatang yang menderita penyakit diabetes mengalami peningkatan haemoglobin minor, haemoglobin A_{1c}. Penemuan tersebut mengawali studi glikosilasi non enzimatis protein secara *in vivo*. Haemoglobin A_{1c} tikus percobaan terbentuk dari produk modifikasi post-translasi haemoglobin yang kecepatan pembentukannya bergantung pada konsentrasi glukosa darah. Laju sintesis HbA_{1c} meningkat tiga kali lipat dalam hewan berpenyakit diabetes. Demikian pula level minor haemoglobinnya meningkat tiga kali lipat.

Studi struktur HbA_{1c} menunjukkan glukosa dalam produk Amadori terikat pada gugus amino-terminal valin pada rantai beta HbA. Jumlah produk Amadori meningkat pada pasien yang menderita penyakit diabetes. Gejala tersebut memberi keterangan reaksi Maillard berlangsung dalam darah pasien penderita diabetes.

Advance Glycation end Product (AGEs) dapat terbentuk pada jaringan dan orang yang berpenyakit diabetes. Pada reaksi Maillard tingkat lanjut, maka dikarbonil yang merupakan senyawa intermediat dapat mengakibatkan kerusakan protein pada sistem biologi dan pangan, seperti pengrusakan residu asam amino, kehilangan kelarutan, pembentukan senyawa berfluorescent, pencoklatan, polimerisasi dan degradasi.

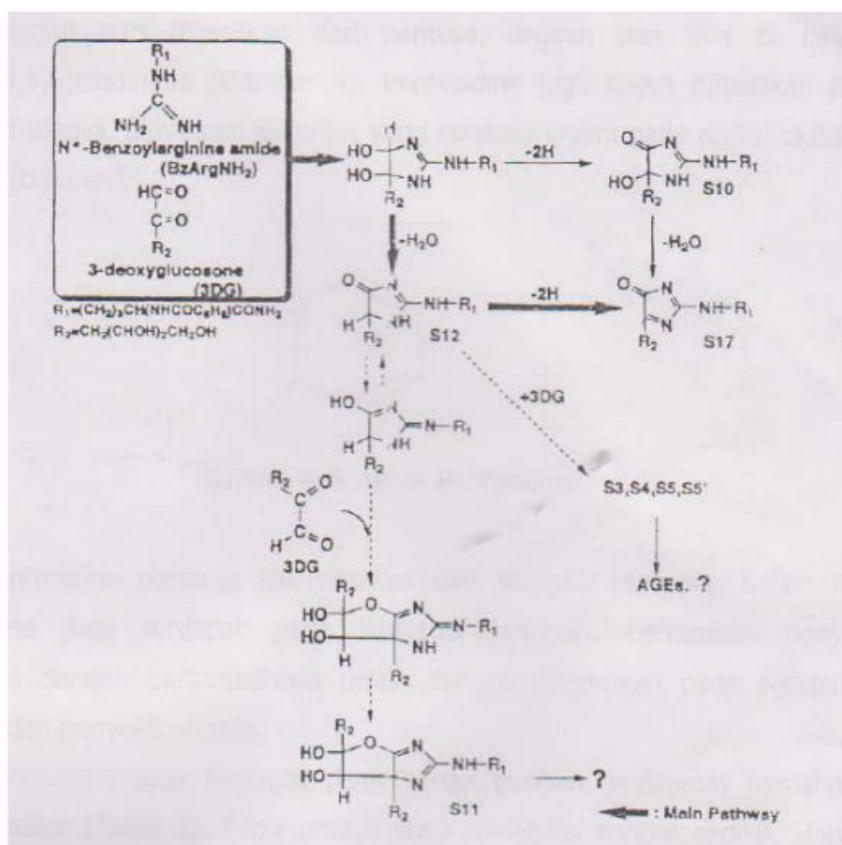
Senyawa intermediat karbonil, seperti glioksal yang merupakan produk autooksidasi glukosa dengan oksidasi basa Schiff membentuk N-(carboxymethyl)lysine (CML). Pentosidin juga merupakan produk AGEs yang berasal dari ikatan silang lisin-arginin melalui glioksidasi senyawa Amadori. 3-Deoksi-D-hekso-2-ulosa, juga disebut sebagai 3-deoksiglukoson (3DG), yang dihasilkan dari senyawa Amadori dengan dengan reaksi nonoksidasi secara *in vitro* dan *in vivo*. 3-DG juga dapat dibentuk dari fruktosa-3-fosfat pada lensa tikus yang berpenyakit diabetes dan reaksi Maillard bahan pangan. 3-DG diketahui sangat reaktif dan merupakan senyawa sitotoksik. 3-DG dapat bereaksi dengan residu arginin, lisin, dan triptofan membentuk ikatan silang protein. Reaksi 3-DG dengan residu arginin dapat membentuk ikatan silang protein. Reaksi 3-DG dengan residu arginin dapat membentuk senyawa nonfluorescent imidazolin.

Reaksi antara 3-DG dengan N-benzonil-L-argininamida (BzArgNH₂) pada pH 7, dan suhu 50⁰C selama 132 jam dapat menghasilkan S1-S17 (hayase et al., 1995). Produk utamanya adalah 2-(N-benzoyl-N-ornithylamide)-5-(2,3,4-trihydroxybutyl)-2-imidazolone-4-one (S12) dan 2-(N-benzoyl-N-ornithylamide)-5-(2,3,4-trihydroxybutyl)-4-imidazolone (S17). S17 dapat dibentuk melalui S12 dengan dehidrasi dan oksidasi. Pembentukan S17 melalui S10 tidak penting (Gambar 10. 1). Adapun S6 dan S7 merupakan produk hidrasi S12. Langkah pertama pembentukan S12 adalah kondensasi satu molekul 3-DG dengan group guanido menghasilkan R-3,4-dihidroksi-2-imidazolin [R= 2-(4-benzoylamino-5-pentamide)-amino-5-(2,3,4-trihydroxybutyl)]



Gambar 10.1. Pembentukan produk S12 dan S17.

Adapun produk minornya adalah S11-dibentuk dari satu molekul BzArgNH₂ dan dua molekul 3-DG- yang berpartisipasi pada pembentukan ikatan silang. S11 diidentifikasi sebagai 2-(N-benzoyl-N-ornithylamide)-5,6a-di(2,3,-trihydroxybutyl)-5,6-dihydroxydehydrofuro[2,3-d]imidazole (Hayase *et al.*, 1997) S11 dibentuk dari S12-3-DG (Gambar 10.2)



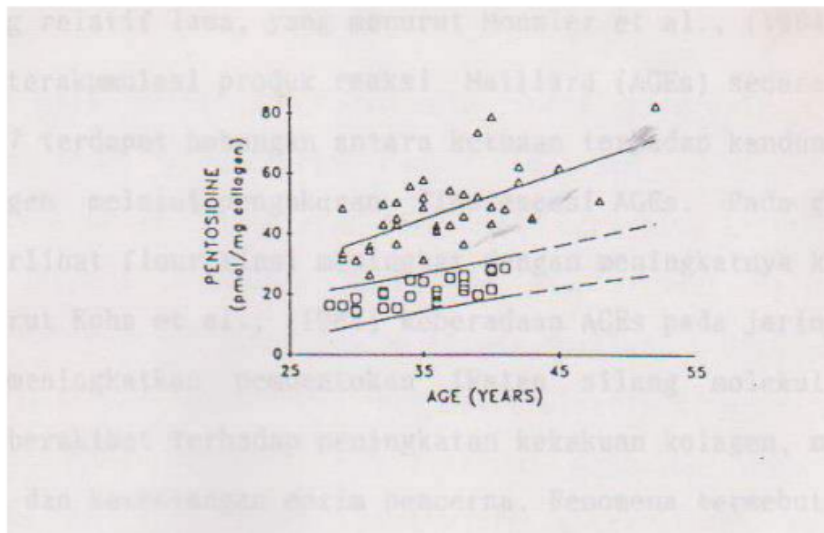
Gambar 10.2 Proses pembentukan produk S11, S12 dan S17

10.2 PENUAAN (AGING)

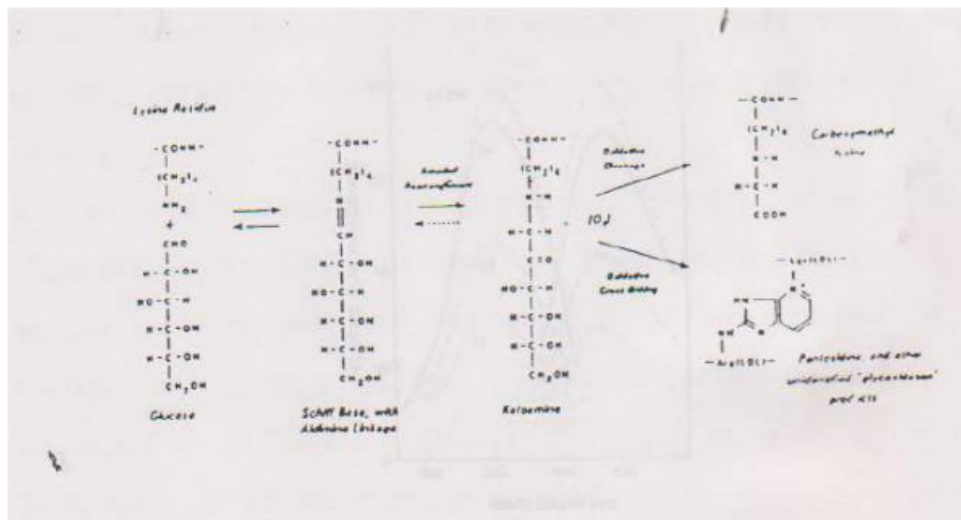
Penuaan dikarakterisasi oleh progressiv, irreversibel dan biasanya perubahan dalam fungsi jaringan. Manusia yang berumur lanjut jaringan tubuhnya yang kaya kolagen menjadi semakin kaku seperti jaringan arteri, tendon, kehilangan elastisitas seperti jaringan kulit dan paru-paru,

kehilangan kelarutan dan digestibilitas oleh enzim proteolitik seperti kolagenase. Perubahan-perubahan tersebut tersaji secara cepat pada penderita diabetes, sehingga penyakit diabetes mempercepat penuaan.

Penyelidikan keterlibatan reaksi Maillard dalam proses penuaan melalui pendeteksian pentosidin dalam berbagai jenis jaringan memberi keterangan pentosidin meningkat seiring dengan peningkatan ketuaan. Selain itu terdapat hubungan yang erat antara pembentukan pentosidin manusia normal dan pasien diabetes terhadap peningkatan ketuaan seperti terlihat pada Gambar 10.3. Pentosidin terbentuk dari glikosidasi, yakni produk oksidasi dari lisin terglukosilasi yang berawal dari reaksi antara glukosa dengan residu lisin dari protein seperti terlihat pada Gambar 10.4



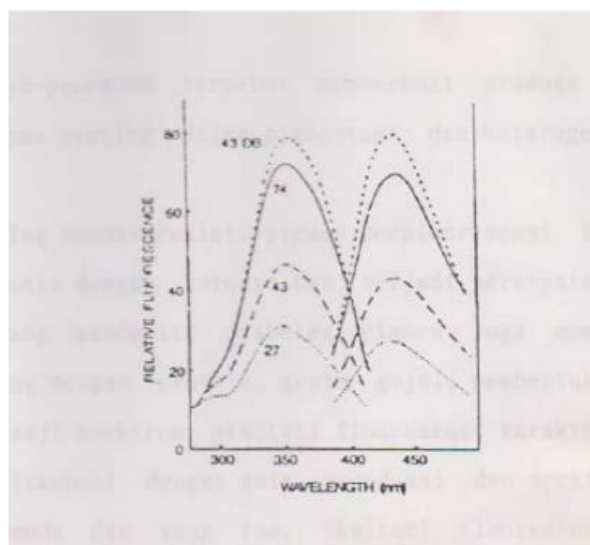
Gambar 10.3 Hubungan ketuaan terhadap pembentukan pentosidin Pada manusia normal (□) dan penderita diabetes (Δ)



Gambar 10.4 Jalur pembentukan pentosidin

Jaringan penghubung kolagen adalah suatu protein yang mempunyai waktu hidup yang relatif lama. ada jaringan tersebut terakumulasi produk reaksi Maillard (AGEs) secara in vivo. Pada Gambar 10.5 terdapat hubungan antara ketuaan terhadap kandungan AGEs human dura kolagen melalui pengukuran flouresensi AGEs. Pada gambar tersebut nampak terlihat flouresensi meningkat dengan meningkatnya ketuaan.

Menurut Kohn *et al.*, (1984) keberadaan AGEs pada jaringan penghubung kolagen meningkatkan pembentukan ikatan silang molekul kolagen. Hal tersebut berakibat terhadap peningkatan kekakuan kolagen, menurunkan sifat kelarutan dan kerentangan enzim pencernaan. Fenomena tersebut juga teramati secara in vitro antara isolat protein kolagen dengan gula pereduksi. Penambahan AGEs dalam campuran meningkatkan derajat pengikatan silang dengan struktur yang serupa dengan isolat kolagen manusia lanjut usia.



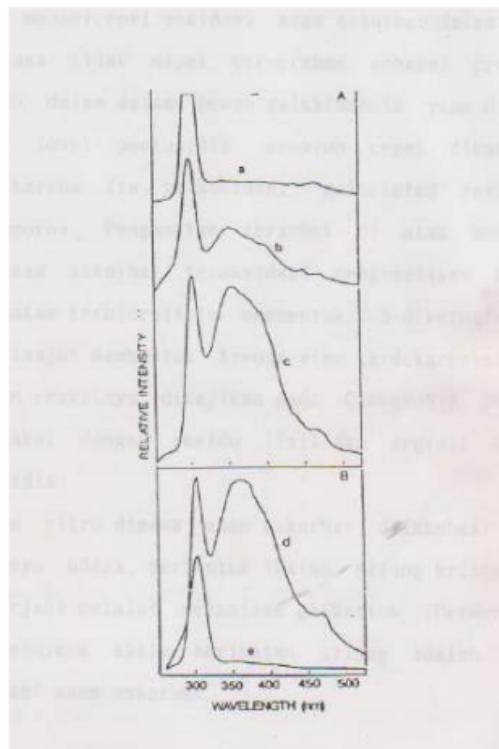
Gambar 10.5 Spektrum eksitasi flouresensi sampel dura kolagen

10.3 KATARAK

Lensa mata merupakan salah satu model yang baik digunakan untuk mempelajari tahap pengembangan reaksi Maillard (*advanced glycation*) in vivo. Protein dalam lensa yang diketahui berbentuk kristal, *hardly turn over* dan terjadi akumulasi glikation end product dalam penuaan dan diabetes. Beberapa advanced produk reaksi Maillard (*Advanced Glycation End Product*, AGEs) yang terisolasi dan terkarakterisasi menunjukkan terdapat dalam lensa mata manusia. AGEs tersebut mencakup karboksimetil lisin (CML) , pentosidin dan flourophore LM-1. Terdapat hubungan antara pigmentasi lensa kristalin dengan pembentukan pentosidin dalam lensa mata manusia. Studi dengan antibiotik juga menunjukkan adanya hubungan AGEs dengan ketuaan lensa dan katarogenesis.

Warna kuning sampai coklat, pigmen berflouresensi terakumulasi dalam lensa okular mata dengan ketuaan dan terjadi percepatan pembentukannya pada pasien yang menderita diabetes. Pigmen juga mempunyai kapasitas berikatan silang dengan protein, suatu gejala

pembentukan katarak. Pada Gambar 10.6 terjadi spektrum eksitasi fluoresensi karakteristik kristalin lensa yang diinkubasi dengan gula pereduksi dan spektra isolat lensa manusia yang muda dan yang tua. Eksitasi fluoresensi maksimum juga teramati dalam lensa yang tua dan kristalin yang diinkubasi dengan glukosa. Pengamatan terhadap AGEs yang terakumulasi pada kristalin lensa secara in vitro teramati pembentukan ikatan silang disulfida dan non disulfida, pembentukan agregat berberat molekul tinggi yang berperan menghamburkan cahaya.



Gambar 10.6 Spektrum eksitasi human dan bovine kristalin lensa.

- (A) Bovine kristalin lensa yang diinkubasi tanpa glukosa (a); 5 mM glukosa, dan 5 mM glukosa-6-fosfat (c).
- (B) Protein lensa manusia yang katarak (d) dan lensa normal manusia muda (e)

Asam askorbat merupakan prekursor yang baik pembentukan pentosidin dalam induksi katarak yang didasarkan atas: (1) konsentrasi asam askorbat dalam lensa sangat tinggi (mencapai 2 mM), mudah teroksidasi dan terfragmentasi di bawah kondisi oksidatif membentuk prekursor pentosidin, (2) menurunkan sintesis glutathione dari fiber sel, dan akumulasi ion logam dapat mempercepat oksidasi asam askorbat dalam hiperglisemia; dan (3) galaktosa tidak dapat berperan sebagai prekursor primer pentosidin, sebab dalam hewan galaktosemik yang diberi perlakuan dengan sorbitol level pentosidin menurun cepat dibandingkan tanpa perlakuan. Oleh karena itu, glikosidasi "galacted" residu lisin tidak berlangsung sempurna. Pengamatan tersebut diatas menunjukkan dalam hiperglisemia, asam askorbat teroksidasi menghasilkan dehidroaskorbat, yang secara spontan terhidrolisis membentuk 2,3-diketoglukonat. Senyawa ini teroksidasi lanjut membentuk treosa atau terkarboksilasi membentuk silosa. Produk terbentuk selanjutnya bereaksi dengan residu lisil dan arginil dalam kristalin membentuk pentosidin.

Percobaan in vitro dimana asam askorbat diinkubasi dengan protein lensa dengan adanya udara, terbentuk ikatan silang kristalin lensa yang dengan cepat terjadi melalui mekanisme glikation. Senyawa-senyawa aktif berikatan silang adalah senyawa-senyawa intermediet oksidasi asam askorbat.

10.4 KERUSAKAN DNA

Beberapa tahun yang lalu, muncul suatu hipotesis gula pereduksi seperti glukosa dan glukosa-6-fosfat dapat bereaksi dengan gugus amino basa N-heterosiklik pada untai DNA yang analog dengan reaksi yang terjadi pada protein. Modifikasi DNA melalui reaksi langsung dengan glukosa atau secara tidak langsung melalui turunan glukosa, intermediet reaktif dapat berkontribusi terhadap perubahan fungsional genetik sebagai akibat modifikasi nukleotida yang disebabkan terjadinya ikatan silang DNA dan aberration chromosomal.

Inkubasi nukleotida secara *in vitro*, atau satu atau dua untai DNA dengan gula pereduksi teramati terbentuknya produk berwarna yang mempunyai spektrum serapan dan fluoresensi yang mirip yang teramati pada protein. Gejala ini memberi keterangan gugus amino basa N heterosiklik DNA terlibat dalam reaksi Maillard yang analog dengan gugus amino protein. Pengaruh glikosilasi non enzimatis terhadap fungsi biologi diukur melalui penerapan satu untai (*single stranded*) bacteriophage dan dua untai plasmik DNA. Pengukuran tersebut menghasilkan hilangnya efisiensi transfeksi dan transformasi.

Pengembangan sistem model bakteri untuk pengukuran pengaruh peningkatan level intraselular glukosa-6-fosfat terhadap frekwensi mutasi untuk plasmik target karier pembawa. Mutan glikolitik E.Coli (DF40 dan DF2000) digunakan untuk menentukan ekstensi peningkatan level intraselular glukosa-6-fosfat pengaruhnya terhadap laju mutasi plasmik DNA. Dengan membandingkan strain kontrol K10, dimana strain E.Coli, DF40 dan DF2000 tumbuh di bawah kondisi spesifik, dengan peningkatan 20 dan 30 kali lipat level glukosa-6-fosfat terukur. Peningkatan tersebut nyata dalam level glukosa-6-fosfat intraselular dihubungkan dengan peningkatan frekwensi mutasi plasmik target pembawa. Strain E. Coli DF40 dengan terakumulasinya glukosa-6-fosfat 20 kali lipat akan meningkatkan laju mutasi 7 kali lipat, sedangkan Strain DF2000 yang terakumulasi glukosa-6-fosfat 30 kali meningkatkan laju mutasi 14 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol strain K10.

Pengamatan pengaruh reaksi Maillard terhadap mutasi DNA eukaryotik menggunakan sistem sel lymphoid tikus yang dipindahkan ke vektor DNA yang dimodifikasi dengan derajat berbeda glukosa *in vitro*. Sel yang ditransfer terseleksi untuk G418 resistan, shuttle vektor kemudian direcoveri dan mutasi dideteksi dalam sistem bakteri. Stadi tersebut memberi keterangan terdapat pengaruh yang nyata modifikasi-AGE terhadap laju mutasi target shuttle vektor dalam sistem eukariotik. Laju mutasi meningkat dari 0.1 % dalam sampel kontrol menjadi 28 % dalam sampel dengan level AGE-modified vektor DNA tertinggi (Tabel 10.1)

Tabel 10.1. Analisis mutasi AGE-modified plasmik pPy35 recoveri dari sel lymphoid murine

AGE ¹ , mM	Trans- fections ⁴	Plasmids analyzed ⁵	Mutation rate ¹ %		Mutant plasmids with a size change ² % fraction		
			Mean	Range	Insertion>100 bp	Deletion<100 bp	No size change
0	6	11,472	0.1	0.03-0.3	33 (4/12)	50 (6/12)	17 (2/12)
5	5	18,456	5.2	0.2-14	38 (24/64)	50 (32/64)	13 (8/64)
6.5	6	5,574	14.4	1.4-26	75 (44/59)	22 (13/59)	3 (2/59)
7.5	6	2,893	28.0	4.0-68	61 (36/59)	37 (22/59)	2 (1/59)

¹ Calculated from the ratio of the number of mutant plasmids to the number of total plasmids recovered for each DNA modification condition.

² Determined in a subset of mutant clones chosen randomly from each transfection, with the exception of the control (0 mM AGE) condition, in which all the recovered mutants were studied by restriction analysis.

³ Expressed as lysine equivalents

⁴ Number of independent transfections analyzed at each corresponding concentration of AGE.

⁵ Total number of plasmids pooled for study from each condition of DNA modification.

10.5 RANGKUMAN

Studi awal tentang keterlibatan reaksi Maillard dalam tubuh manusia terpusat pada gejala ketidaknormalan proses biokimiawi yang terjadi pada penderita diabetes melitus. Penderita diabetes melitus level glukosa yang bersirkulasi relatif tinggi. Studi lanjut menyangkut keterlibatan reaksi Maillard dalam proses penuaan yang memberi petunjuk adanya keterkaitan antara penyakit diabetes dengan proses penuaan. Penuaan dikarakterisasi oleh progressiv, irreversibel dan biasanya perubahan dalam fungsi jaringan. Manusia yang berumur lanjut jaringan tubuhnya yang kaya kolagen menjadi semakin kaku seperti jaringan arteri, tendon, kehilangan elastisitas seperti jaringan kulit dan paru-paru, kehilangan kelarutan dan digestibilitas oleh enzim proteolitik seperti kolagenase. Perubahan-perubahan tersebut tersaji secara cepat

pada penderita diabetes, sehingga penyakit diabetes mempercepat penuaan.

10.6 LATIHAN SOAL

1. Mengapa penyakit diabetes berhubungan dengan reaksi Maillard?
2. Bagaimana keterlibatan reaksi Maillard dalam proses ketuaan?
3. keberadaan AGEs pada jaringan penghubung kolagen meningkatkan pembentukan ikatan silang molekul kolagen. Apa akibatnya?
4. Beberapa advanced produk reaksi Maillard (*Advanced Glycation End Product*, AGEs) yang terisolasi dan terkarakterisasi menunjukkan terdapat dalam lensa mata manusia. Sebutkan.
5. Apa peran asam askorbat dalam proses induksi penyakit katarak?

10.7 UMPAN BALIK ¹DAN TINDAK LANJUT

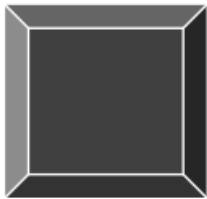
Cocokkanlah jawaban saudara dengan kunci jawaban latihan soal yang ada di bagian akhir modul ini, hitunglah jawaban saudara yang benar, kemudian gunakan rumus di bawah ini untuk mengetahui tingkat penguasaan saudara terhadap materi kegiatan X.

$$\text{Rumus: } \frac{\text{Jumlah jawaban saudara yang benar}}{5} \times 100 \%$$

Arti tingkat penguasaan yang saudara capai:

90% - 100%	= baik sekali
80% - 89%	= baik
70% - 79%	= cukup
< 69%	= kurang

Kalau saudara mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, saudara dapat meneruskan ⁴pada bab selanjutnya. Jika kurang dari 80% saudara harus mengulang kegiatan belajar pada bab ini lagi, terutama bagian yang saudara belum kuasai.



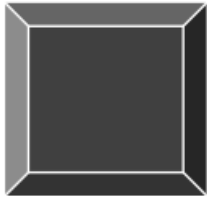
DAFTAR PUSTAKA

- Aeschbacher, H.U.1990. anticarcinogenic effect of browning reaction product. Toxic. 27: 227-232
- Ahmed, M.U. S.R. Thorpe dan J.W. Baynes. 1986. Identification of N-carboxymethyllysine as a degradation product of fructoselysine in glycated protein. J. Biol. Chem. 261: 2889-2894
- Alaiz, M, R. Zamora dan F.J. Hidalgo.1995. Antioxidative activity of (E)-2-octenal/amino acids reaction products. J. Agric. Food Chem. 43: 795-800
- Alaiz, M, R. Zamora dan F.J. Hidalgo.1995. Addition of oxidized lipid/amino acid reaction product delays the peroxidation initiated in a soybean oil. J. Agric. Food Chem. 43: 228-2701
- Alaiz, M, R. Zamora dan F.J. Hidalgo.1996.. Antioxidative activity of pyrrole, imidazole, dihydropyridine, and pyridinium salt derivatives produced in oxidized lipid/amino acid browning reactions.J. Agric. Food Chem. 44: 686-691
- Assoumani, M.B, D.Maxime dan N.P. Nguyen. 1994. Evaluation of a lysine-glucose Maillard model system using three rapid analytical methods. Food Chem. 46: 383-387
- Bailey ME, Won Um K. 1992. Maillard reaction and lipid oxidation. Di dalam: Angelo AJS. Lipid Oxidation in Food. ACS symposium series. .New York: August 25-30
- Baltes, W. 1988. Investigation on thermal aroma formation. In: Frontiers of Flavour. Ed. G. Calambous. Elsevier, Amsterdam.
- Dedin F. Rosida. 2006. Penurunan Kadar Asam Amino Lisin pada Kecap Akibat Reaksinya dengan Senyawa Karbonil dalam Reaksi Maillard. Prosiding Semnas PATPI, Yogyakarta 2-3 Agustus 2006 ISBN :979-95554-3-4

- Dedin F. Rosida. Fardiaz D. Apriyantono A. Andarwulan. 2006. Isolasi dan karakterisasi melanoidin kecap manis dan peranannya sebagai antioksidan. *J. Teknologi & Industri Pangan* Vol.XVII No.3
- Dedin F. Rosida. Wijaya CH. Apriyantono A. Rungkat FZ. 2009. Aktivitas antioksidan fraksi-fraksi berdasarkan berat molekul pada moromi, kecap manis dan model produk reaksi Maillard.
- Dedin F. Rosida. 2010. Characteristics and Biological activities of Indonesian soy sauce fraction. Prosiding INSFF International conference in Bali
- Dworschak, E dan L. Szabo. 1986. Formation of antioxidative materials in the preparation of meals. Dalam amino-carbonyl reaction in Food and Biological Systems. Elsevier, Tokyo
- Eiserich, J, P dan T. Shibamoto. 1994. Antioxidative activities of Maillard-driven sulfur-containing heterocyclic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1060-1063.
- Eiserich, J, P dan T. Shibamoto. 1994. Antioxidative activity of volatile heterocyclic compounds. *J. Agric. temperature and water activity on the formation of aminomidazoquinolines and quinoxalines (IQ compounds) in meat product. J. Agric. Food Chem.* 42: 106-110
- Eiserich P. J, J.W. Wong dan T. Shibamoto. 1995. Antioxidative activities of furan and thiophenetiols measured in lipid peroxidation system and by tyrosyl radical scavenging assay. *J. Agric. Food Chem.* 43: 647-650
- Finot, F. A, R. Deutsch dan E. Bujard. 1981. The extent of the Maillard reaction during processing of milk. *Progr. Food Nutr. Sci.* 5: 345-355
- Finot, P. A., H.U. Aeschbacher, R.F. Hurrell dan R. Liardon. 1990. The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology. Birkhauser, Verlag, Basel.
- Friedman, M et al., 1994. Mutagen formation in wheat gluten, carbohydrates, and amino acid and gluten carbohydrate blends. *Mutation Res.* 189: 307-311
- Homma S, Tomura T, Fujimaki M. 1982. Fractionation of nondialyzable melanoidin into components by electrofocusing electrophoresis. *Agric. Biol. Chem* 46: 1791-1796
- Hwang, H.I et al., 1995. Relative reactivities of amino acids in pyrazine formation. *J. Agric. Food chem.* 43: 179-184
- Hwang, H.I, T.G. Hartman dan C. T. Ho. 1995. Relative reactivities of amino acids in the formation of pyridines, pyrroles, and oxazoles. *J. Agric. Food Chem.* 43: 2917-2921

- Hurrell, R.F., P. Lerman dan K.J. Carpenter. 1979. Reactive lysine in foodstuffs as measured by a dye-binding procedure. *J. Food Sci.* 44: 122-127
- Hwang et al., 1994. Formation of pyrazines from the Maillard reaction of glucose and lysine- α -amine- ^{15}N . *J. Agric. Food Chem.* 42: 1000-1004
- Ho, C.T et al., 1994. Release of ammonia from peptides and protein and their effects on Maillard flavor generation. *J. Agric. Food Chem.* 43: 2917-2921
- Ledl, F dan E. Schleicher. 1990. New aspect of the Maillard reaction in food and in the human body. *Angew. Int. Ed. Engl.* 29: 565-594
- Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC dan Lerici CR. 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science & Technology* 11 (2001) 340-346
- Nakamura S, Kato A, Kobayashi K. 1992. Enhanced antioxidative effect of ovalbumin due to covalent binding of polysaccharide. *J. Agric. Food Chem.* 40: 2033-2037
- Namiki, M. 1988. Chemistry of Maillard reaction: Recent studies on the browning reaction mechanism and the development of antioxidant and mutagens. *Adv. Food Res.* 32: 115-184
- Nursten, H.E. 1981. Recent development in studies of the Maillard reaction. *Food Chem.* 6: 263-277
- Nursten, H.E. 1990. In the Maillard Reaction in Food Processing. Humans Nutrition and Physiology. Birkhauser Verlag
- Schlüsselwörter. 2001. Influence of the temperature by roasting sesame on flavour and antioxidative characteristics of the oil [tesis doktor]. http://edocs.tu-berlin.de/diss/2001/027/m_jeong.htm
- Tressl, R, B. Helak dan E. Kersten. 1993. Formation of proline and hydroxyproline-specific Maillard Product from $[1-^{13}\text{C}]$ glucose. *J. Agric. Food Chem.* 41: 547-553
- Tressl, R, B. Helak dan E. Kersten. 1993. Formation of pyrroles, 2-pyrrolidones, and pyridones by heating of 4-aminobutyric acid and reducing sugars. *J. Agric. Food Chem.* 41: 2125-2130
- Tressl, R, C. Nittka dan E. Kersten. 1995. Formation of isoleucine-specific Maillard product from $[1-^{13}\text{C}]$ -D-fructose. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1163-1169
- Tressl, R et al., 1989. Formation of pyrroles and tetrahydro-indolizin-6-one as hydroxyproline specific Maillard product from glucose and rhamnose. *J. Agric. Food Chem.* 33: 1137-1142
- Sugimura et al., 1990. Mutagens and carcinogens formed by cooking meat and fish: heterocyclic amines. *Toxic. In Vitro.* 1: 45-48

- Skog, K dan M. Jagerstad. 1994. Incorporation of ^{14}C -glucose mutagenic heterocyclic amines. *J. Agric. Food Chem.* 41: 179-184
- Wright, T.H. 1991. Nonenzymatic deamination of asparaginy and glutaminy residues in proteins. *CRC Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 26: 1-52
- Whitfied, F. B. 1992. Volatiles from interaction of Maillard reaction and lipids. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 3(1/2): 1-58
- Yaylayan VA, Kaminsky E. 1998. Isolation and structural analysis of Maillard polymers : caramel and melanoidin formation in glycine/glucose model system *J. Food Chemistry* 63 (1): 25-31
- Yoshimura Y, Iijima T, Watanabe T, Nakazawa H. 1997. Antioxidative effect of Maillard reaction products using glucose-glycine model system. *j. Agric. Food Chem.* Vol.45 p. 4106-4109



LAMPIRAN

JAWABAN LATIHAN SOAL

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 1

1. Senyawa gula refuksi dan asam amino
2. berperan dalam pembentukan warna, aroma dan rasa, reaksi Maillard dalam bahan pangan dapat menyebabkan penurunan nilai gizi pangan, menghasilkan komponen yang bersifat toksik, antinutrisi, mutagenik, karsinogenik, antikarsinogenik, antimikroba, antioksidan dan komponen senyawa antibodi.
3. Penyakit diabetes
4. Glukosa ini bereaksi dengan protein plasma darah membentuk kompleks glukosa-protein melalui ikatan silang
5. Protein lensa mata dapat mengalami glikosilasi non enzimatis

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 2

1. Tiga tahap: tahap awal, intermediet dan tahap akhir. Pada tahap awal terjadi pembentukan glikosilamin N-tersubstitusi dan penyusunan ulang (rearrangement) glikosilamin. Pada tahap intermediet (tahap antara) berlangsung reaksi dehidrasi membentuk furfural ($-3\text{H}_2\text{O}$) atau membentuk redukton ($-2\text{H}_2\text{O}$); terjadi fisis yang melibatkan interaksi asam amino dengan senyawa-senyawa dikarbonil baik dehidroreduktan maupun produk-produk fisis, dehidroreduktan atau aldehid Strecker

2. Glikosilamin yang mengalami penyusunan ulang yang disebut penyusunan ulang Amadori (rearrangement Amadori) membentuk 1-amino-1-deoksi-2-ketosa
3. Reaksi antara ketosa dengan senyawa amino membentuk 2-amino-2-deoksialdosa melalui penyusunan ulang Heyns yang dikenal dengan nama Heyns Rearrangement Product (HRP). menghasilkan senyawa kiral dengan pusat asimetri pada atom karbon dua
4. Pada tahap intermediet terdapat empat jalur yang terlibat, tiga jalur berasal dari ARP secara langsung sedangkan satu jalur tidak langsung yang disebut jalur degradasi Strecker. Jalur pertama disebut jalur 1,2-enolisasi menghasilkan 3-deoksioson, jalur kedua disebut jalur 2,3-enolisasi menghasilkan 1-deoksioson (Gambar 2.4). Kedua jalur ini telah dipahami sejak lama. Jalur ketiga yang melibatkan pembentukan 1-amino-1,4-dideoksioson sebagai senyawa intermediet adalah penemuan terbaru dimana keberadaannya secara tidak langsung menggunakan analogi pembentukan kuinoksalin. Jalur keempat adalah jalur degradasi Strecker yang melibatkan degradasi asam amino melalui reaksi antara asam amino dengan senyawa dikarbonil
5. Senyawa enaminol merupakan analog gula berberat molekul rendah dan produk karbonil tidak jenuh, bereaksi lebih lanjut dengan berbagai cara termasuk polimerisasi yang akhirnya membentuk polimer berwarna coklat yang disebut melanoidin sebagai produk akhir reaksi Maillard.

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 3

1. Deamidasi dapat terjadi melalui satu atau dua mekanisme. Mekanisme pertama melalui hidrolisis langsung ikatan amida dimana asam atau basa bertindak sebagai katalis. Mekanisme kedua, yang dikenal sebagai β -shift melibatkan pembentukan intermediet suksinimat
2. Adisi glukosa terhadap gugus amino alfa dan epsilon protein terjadi melalui pengikatan ketoamin. Glikation protein diawali dengan pembentukan basa Schiff yang reversibel (aldimin) dari aldosa dengan gugus amino protein. Aldimin selanjutnya mengalami reductive glycation

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 4

1. Pada nilai pH rendah (lebih kecil atau sama dengan 7) reaksi mengarah ke pembentukan furfural dari ARPs, di atas pH 7 reaksi menuju pembentukan redukton dan reaksi pembelahan (fisi).
2. Karamel: 100 oC, roasted: 150 oC pirazin: 130-190 oC
3. Problem yang timbul adalah pengembangan warna kuning dan terjadinya penyimpangan bau. Problem yang timbul adalah pengembangan warna kuning dan terjadinya penyimpangan bau.
4. Hal-hal yang berkontribusi relatif terhadap waktu reaksi meliputi:
 - a. Jumlah total senyawa yang terbentuk meningkat terhadap waktu
 - b. Jenis senyawa volatil yang terbentuk meningkat relatif terhadap waktu reaksi. Contoh: total pirazin (pirazin, 2-metil pirazin dan 2,6-dimetil pirazin) yang dihasilkan dari sistem reaksi glukosa-arginin meningkat secara linier terhadap waktu
 - c. Jumlah dan jenis senyawa volatil yang terbentuk mempunyai waktu pemanasan maksimum, dimana pemanasan di atas waktu tersebut produksi volatil menurun. Contoh: reaksi glukosa dengan amoniak menghasilkan pirazin maksimum setelah 4 jam pemanasan pada suhu 100⁰C. Demikian juga pembentukan HMF-on, 1-asetonilpirol dan 2-(1-pirolil)-2-siklopenten-1-on dari sistem hidroksi prolin-arabinosa, maksimum yeild antara 2-4 jam pemanasan.
5. Gula pentosa misalnya, lebih cepat terjadi reaksi pembentukan warna dan aroma dibandingkan dengan heksosa (contoh glukosa). Demikian pula heksosa lebih cepat membentuk warna dan aroma dari pada disakarida.

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 5

1. Komponen flavor produk reaksi Maillard dapat diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok atas dasar reaktan awalnya:
 - 1) Produk dehidrasi/fragmentasi gula sederhana, seperti furan, piranon
 - 2) Produk degradasi asam amino sederhana, seperti aldehid Stecker dan senyawa bersulfur
3. Produk senyawa volatil hasil interaksi lanjut seperti pirol, piridin, imidazol, pirazin, oksazol
2. Tiamin (vitamin B1)

3. Oksazol dan oksazolin terbentuk dari interaksi antara senyawa karbonil dengan produk degradasi asam amino
4. Tiofen, ditian dan tritian banyak berperan dalam pemberi aroma bahan pangan terutama sebagai pemberi aroma daging
5. Furan yang berperan penting dalam flavour bahan pangan diantaranya 2,5-dimetil-4-hidroksi-3(H)-furanon yang memiliki aroma fragan, buah, karamel, hangus (burnt) dan nenas; 4-hidroksi-5-metil-3 (H)-furanon yang memiliki aroma karamel, sedangkan Piran yang berperan dalam flavor bahan pangan diantara maltol yang beraroma karamel

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 6

1. turunan pirolidin, pirolin, tetrahidropiridin, piperidin, 2,3-dihidro-1H-pirolizin, 5,6-dihidroindolizin, siklopen (b)azepin, 2-asetil dan 2-furilpepiridin dan –piperideina dan turunan diketopiperazin
2. terdapat 10 turunan furan yang mengandung gugus vinil atau propenil pada posisi dua. Sebab terjadinya konjugasi ikatan rangkap pada cincin furan adalah karena sistem ini adalah sistem aromatik
3. mekanisme pembentukan produk reaksi Maillard dari asam amino fenilalanin adalah:
 - 1) Pembentukan 3,5-difenilpiridin dan 3-fenilpiridin;
 - 2) Pembentukan turunan piridin yang tersubstitusi pada posisi 4;
 - 3) Pembentukan 1- dan 2- aminonaphthalen yang tersubstitusi N
4. Ada dua cara kemungkinan pembentukan pirol pada reaksi Maillard, yaitu (1) reaksi antara furan dengan amina atau asam amino, dan (2) reaksi antara 3-deoksiglukoson dengan asam amino
5. Asam amino Histidin

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 7

1. Blue M2 dapat dibentuk dengan menambahkan yellow pigmen pada blue M. Blue M1 dan Blue M2 diduga dapat membentuk senyawa melanoidin dengan adanya polimerisasi. Hal ini karena Blue M1 dapat dibentuk dari yellow pigmen yang merupakan reaksi pirol-2-karboksaldehida dengan dinitrofenilhidrazin. Apabila dua molekul yellow pigmen diinkubasi pada 26,5⁰C selama 24 jam dan terjadi

- reaksi dekarboksilasi, maka dapat terbentuk dua senyawa pirolpirol-2-karboksaldehida
2. Senyawa pirol dan furan merupakan senyawa yang berperan dalam pembentukan melanoidin dan mudah dibentuk dari heksosa melalui reaksi fragmentasi, walaupun keadaan pirol dan fural merupakan senyawa yang rendah polimerisasinya, tetapi tinggi aktivitas ikatan silangnya
 3. Komposisi senyawa melanoidin dipengaruhi oleh kondisi reaksi, seperti jumlah atom C, H, O, dan N, rasio antara C/N, jenis gula peptosa dan heksosa, dan jenis asam amino
 4. Melanoidin diduga juga terdiri dari senyawa berberat molekul rendah, seperti gula dan asam amino yang tidak bereaksi, senyawa amadori dan HMF
 5. Penggunaan asam amino lisin dalam sistem model ini untuk melihat bahwa apabila di dalam protein terdapat asam amino lisin, maka lisinnya dapat membentuk kromofor dan kromofor ini dapat berikatan silang dengan kromofor membentuk senyawa melanoidin. Kromofor merupakan senyawa berwarna, sedangkan protein merupakan senyawa yang tidak berwarna. Sehingga dengan adanya ikatan silang antara kromofor dengan protein, maka terbentuk senyawa yang berberat molekul tinggi yang berwarna

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 8

1. Reaksi Maillard berpengaruh terhadap nilai gizi produk pangan selama proses pengolahan dalam tiga cara. Pertama, reaksi Maillard dapat menurunkan kualitas protein, kedua pembentukan senyawa Amadori dengan lisin pada awal reaksi Maillard, dan ketiga destruksi lisin dan asam-asam amino esensial lain melalui reaksi pramelanoidin selama pengembangan reaksi Maillard
2. Tiamin dan vitamin B6 mengalami kerusakan selama penyimpanan susu bubuk. Tiamin mempunyai gugus amino, sedangkan vitamin B6 mempunyai gugus aldehyd. Kedua gugus tersebut reaktif dalam reaksi Maillard. Selain kedua jenis vitamin tersebut, asam pantotenat dan vitamin B12 juga mengalami kerusakan selama penyimpanan
3. lisinalanin (LAL) dan feniletilaminoalanin. Sifat toksik LAL berhubungan dengan kemampuannya mengkelat unsur-unsur mikro dalam aliran tubuh (*body fluids*) dan jaringan. Dengan fungsi kerja tersebut LAL menurunkan ketersediaan unsur mikro dalam tubuh

4. Mekanisme pembentukan LAL dipostulatkan mengikuti dua tahap. Tahap pertama ion hidroksida mengkatalisis reaksi eliminasi serin, treonin dan sistein menghasilkan senyawa intermediet dehidroalanin yang mengandung ikatan ganda karbon-karbon bereaksi dengan gugus amino epsilon lisin membentuk ikatan silang lisinoalanin.
5. senyawa-senyawa amin heterosiklik bersifat mutagenik terbentuk dari gula reduksi, asam amino dan karelin/kreatin. pembentukan senyawa aminoimidazoquinolin dan quinoksalin (senyawa IQ) dalam produk daging dipengaruhi oleh suhu, aktivitas air dan waktu pemanasan

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 9

1. mekanisme Produk Reaksi Maillard sebagai Antioksidan
 - a. Adanya gugus OH (hidroksil) dari glukosa yang terdapat pada produk reaksi Maillard
 - b. Adanya gugus alkil dan thiol pada produk reaksi Maillard bersulfur
2. Gugus OH dapat mengurangi terjadinya proses oksidasi dengan cara:
 - a. Mereduksi logam
 - b. Chelating logam
 - c. Penghambatan radikal bebas (radikal hidroksil)
3. Produk reaksi Maillard non volatil yang telah dilaporkan berfungsi sebagai antioksidan adalah produk reaksi Maillard berberat molekul tinggi (melanoidin) dan berberat molekul rendah.
4. aktivitas antioksidan beberapa senyawa volatil N heterosiklik dalam minyak kacang kedelai
5. . Alkil tiopen, tiazol, tiazolin, dan 1,3-ditiolan menghambat oksidasi heptanal menjadi asam heptanoat pada berbagai periode waktu. Derajat ketidakjenuhan dalam cincin heterosiklik, juga tipe substitusi bervariasi pengaruhnya terhadap kapasitas antioksidan senyawa bersangkutan.

JAWABAN LATIHAN SOAL BAB 10

1. Penyakit diabetes adalah penyakit yang disebabkan karena terganggunya fungsi hormon adrenalin yang berakibat terhadap peningkatan glukosa darah. Darah mengandung haemoglobin yang berfungsi sebagai pembawa oksigen dan karbondioksida produk metabolisme tubuh. Haemoglobin termasuk protein, sehingga keberadaannya bersama dengan glukosa dalam plasma darah memungkinkan terjadinya reaksi Maillard
2. keterlibatan reaksi Maillard dalam proses penuaan melalui pendeteksian pentosidin dalam berbagai jenis jaringan memberi keterangan pentosidin meningkat seiring dengan peningkatan ketuaan .
3. keberadaan AGEs pada jaringan penghubung kolagen meningkatkan pembentukan ikatan silang molekul kolagen. Hal tersebut berakibat terhadap peningkatan kekakuan kolagen, menurunkan sifat kelarutan dan kerentangan enzim pencernaan.
4. Beberapa advanced produk reaksi Maillard (*Advanced Glycation End Product*, AGEs) yang terisolasi dan terkarakterisasi menunjukan terdapat dalam lensa mata manusia. AGEs tersebut mencakup karboksimetil lisin (CML) , pentosidin dan flourophore LM-1.
5. Asam askorbat merupakan prekursor yang baik pembentukan pentosidin dalam induksi katarak yang didasarkan atas: (1) konsentrasi asam askorbat dalam lensa sangat tinggi (mencapai 2 mM), mudah teroksidasi dan terfragmentasi di bawah kondisi oksidativ membentuk prekursor pentosidin, (2) menurunkan sintesis glutathione dari fiber sel, dan akumulasi ion logam dapat mempercepat oksidasi asam askorbat dalam hiperglisemia; dan (3) galaktosa tidak dapat berperan sebagai prekursor primer pentosidin, sebab dalam hewan galaktosemik yang diberi perlakuan dengan sorbitol level pentosidin menurun cepat dibandingkan tanpa perlakuan

INDEKS

A

AGEs · 180,184, 185, 186,190

Amadori · 8, 180

Antibodi · 2,3, 4

Antikarsinogenik · 2, 3, 4, 149

Antimikroba · 2, 4

Antinutrisi · 2, 4

Antioksidan · ,3,4,155,156,160,161,162,165,168,169,170,171,172, 175,
176, 177

ARP · 8,10,11,12,13,26,30,31,32,57,61,62,67,75

Asam Nukleat · 3,

B

Blue pigment · 119

C

Chelating logam · 156,157

D

Dehidrasi · 7,9,13,20,21,22,23,24,25,49,69

Diabetes · 179,180,183,185,189,190

Dimerisasi · 20,21,25

Disakarida · 30,31,49,64

Ditian · 81,88

F

Flavor · 9,10,12,47,58,60,69,81,95

Furan · 8,12,

H

Haemoglobin · 179,180

Heterosiklik · 3,14,24,33,34,,44,48,51,54,55,58,69,79,80,81,88,95,121,142,143

Hidrolisis · 187

Histidin · 57,102,103,116,161

Hormon adrenalin · 179

I

Imidazol · 69,81,95,102,103,112,116,117

In vitro · 179,180,184,186,187,188

In vivo · 3,4,179,180,184

K

karsinogenik · 2,3,4,135,139,149

Katalitik · 172.175

katarak · 3,4,179,185,186

L

Lipida · 3,32,33,35,80

M

Maillard · 1,2,3,4,7,9,10,11,13,14,15,16,18,22,23,25,26,27,29,30,32,33,47,48,49

Melanoidin · 59,113,120,127

Monosakarida · 47,97

Mutagenik · 135,139,141,143

N

Non enzimatik · 161,180

Non volatil · 3,4,69,91

O

Oksazol · 95

P

peeling off · 48,49
peptida · 55,129
pH · 8,9,10
pirazin · 10,13,16
pleasent smell · 108
polimerisasi · 14,30
polisakarida · 48,172

R

radikal bebas · 16,17,18,157,158,172,175,176
redukton · 7,12,13,25,49,57,67,79,100,132,172,173,175,176

S

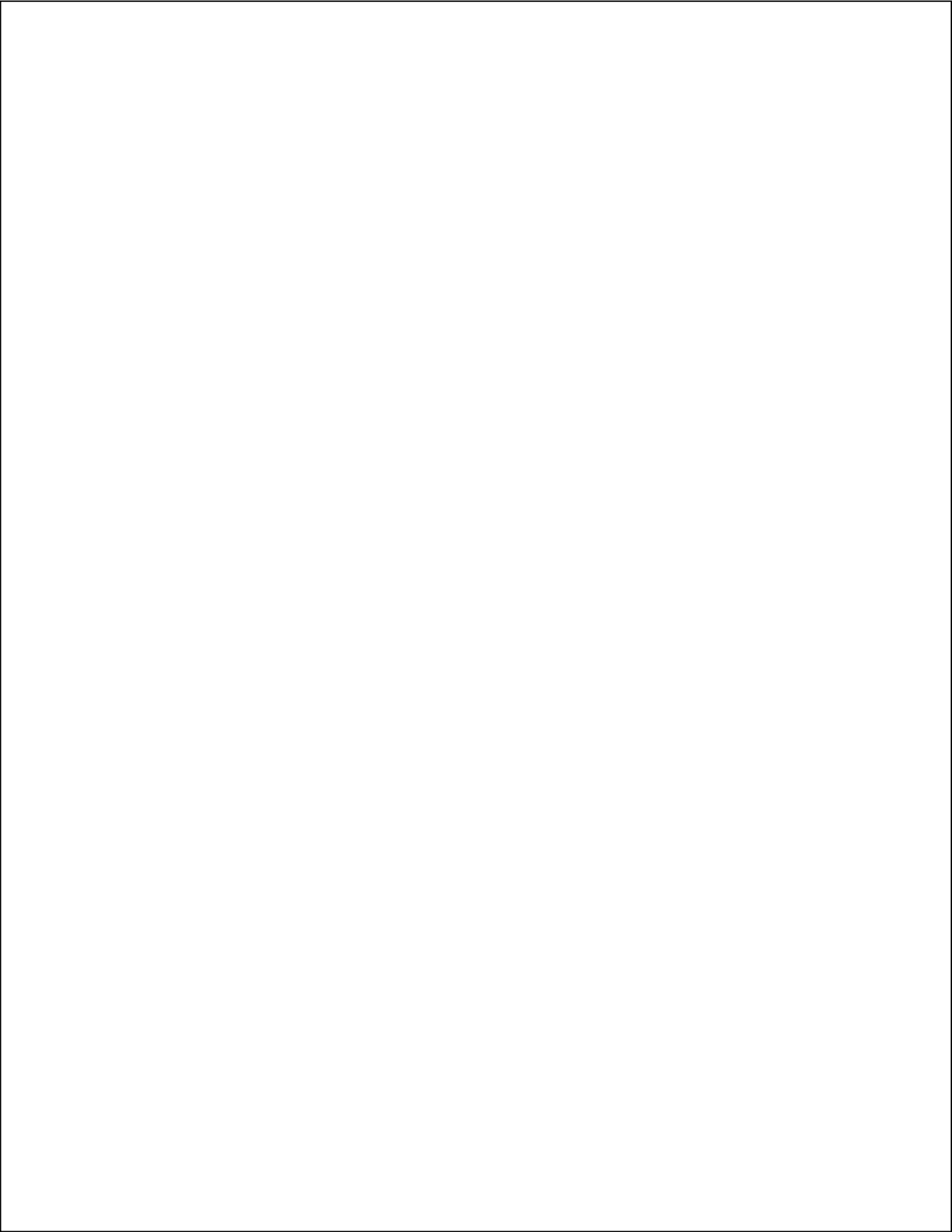
sel lymphoid · 188,189
senyawa alifatik · 69,70,76,79,95,
serin · 60,79,104,106,107,108,109,110,139,142
sistein · 22,23,24,25,26,58,62,63,64,65,76,78,89,99,100,101,136,139,142,169

T

tiamin · 90,138,158
tiazol · 69,81,89,90,95,170,177,
tiofen · 81,88,168,169
toksik · 2,4,139,152,
treonin · 104,106,108,109,110,139,143

V

volatil · 2,3,4,,33,36,55,58,59,60,64,69,70,72,89,91,95,100,104,117,161,165,168,175



GLOSSARIUM

Adisi

35

Reaksi adisi adalah reaksi pemutusan ikatan rangkap (pengubahan ikatan rangkap menjadi ikatan kovalen tunggal). Reaksi adisi antara lain dapat digunakan untuk membedakan alkana dengan alkena.

AGEs

Advanced glycation end-products adalah hasil dari sebuah rantai reaksi kimia setelah reaksi awal glikasi. Produk intermediatnya berupa senyawa Amadori, Schiff base dan produk reaksi Maillard Aldehid

24

merujuk pada segolongan senyawa organik yang memiliki gugus fungsional karbonil yang terikat pada rantai karbon di satu sisi dan atom hidrogen di sisi yang lain.

Aldol

Berasal dari kata *Aldehyde* alkohol" yang merupakan ikatan antara beta-hidroksi ketone atau aldehyde

Alifatik

adalah senyawa organik yang tidak mempunyai gugus fenil .

Senyawa alifatik dapat berupa:

siklik, seperti sikloheksana dan asiklik, seperti heksana atau jenuh, seperti heksana dan tak jenuh, seperti heksena. Pada senyawa alifatik, atom karbon dapat saling mengikat dalam bentuk rantai lurus bercabang maupun bercabang, atau cincin non aromatik (alisiklik), dengan ikatan tunggal, ganda dan tiga ikatan kovalen. Ikatan kovalen dapat mengikat unsur lain selain hidrogen, antara lain oksigen, nitrogen, belerang, klor. Pada umumnya senyawa alifatik mudah terbakar

33

Asam amino

Merupakan senyawa organik yang memiliki gugus fungsional karboksil ($-\text{COOH}$) dan amina (biasanya $-\text{NH}_2$). Keduanya terikat pada satu atom karbon (C) yang sama (disebut atom C "alfa" atau α). Gugus karboksil memberikan sifat asam dan gugus amina memberikan sifat basa

Asam amino essensial

asam amino yang harus dipenuhi dan didapatkan dari diet sehari-hari, yaitu isoleusina, leusina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofan, dan valina. Histidina dan arginina

Basa Schiff

merupakan elektrofil yang bereaksi dalam dua langkah pada adisi nukleofilik kedua dengan karbanion yang dihasilkan dari senyawa yang mengandung proton asam.

34

Deaminasi

adalah suatu reaksi kimiawi pada metabolisme yang melepaskan gugus amina dari molekul senyawa asam amino. Gugus amina yang terlepas akan terkonversi menjadi amonia. Pada manusia, deaminasi terutama terjadi pada hati, walaupun asam glutamat juga mengalami deaminasi pada ginjal. Proses deaminasi dalam lingkungan aerobik akan menghasilkan asam okso, disebut deaminasi oksidatif dan terjadi terutama di dalam hati.

Degradasi

Dekomposisi senyawa kimia secara bertahap dengan produk antara yang terdefinisi

Dekarboksilasi

18

merujuk pada reaksi kimia yang menyebabkan sebuah gugus karboksil ($-\text{COOH}$) terlepas dari senyawa semula menjadi karbon dioksida (CO_2).

diabetes

kadar glukosa darah tinggi, Glukosa ini bereaksi dengan protein plasma darah membentuk kompleks glukosa-protein melalui ikatan silang yang dikenal dengan istilah glikosilasi non enzimatis. Senyawa glukosa-protein terdeteksi dalam urin penderita diabetes

Fragmen

bagian dari molekul yang melaksanakan aktivitas reaksi

heterosiklik

3

sejenis senyawa kimia yang mempunyai struktur cincin yang mengandung atom selain karbon, seperti belerang, oksigen, ataupun nitrogen yang merupakan bagian dari cincin tersebut.^[1] Senyawa-senyawa heterosiklik dapat berupa cincin aromatis sederhana ataupun cincin non-aromatis. Beberapa contohnya adalah piridina ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$), pirimidina ($\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2$) dan dioksana ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$).

14

Hidrolisis

adalah reaksi kimia yang memecah molekul air (H_2O) menjadi kation hidrogen (H^+) dan anion hidroksida (OH^-) melalui suatu proses kimia. Proses ini biasanya digunakan untuk memecah polimer tertentu

Inhibitor

32

adalah zat yang menghambat atau menurunkan laju reaksi kimia. Sifat inhibitor berlawanan dengan katalis, yang mempercepat laju reaksi.

in vivo

reaksi Maillard berlangsung dalam tubuh makhluk hidup

in vitro

fenomena yang serupa dalam bahan pangan

Intermediet

molekul tidak stabil dengan waktu paruh yang sangat pendek dalam reaksi kimiawi. Intermediet terbentuk dari reaktan atau intermediet lain pada reaksi kimia sebelumnya, dan dengan reaksi yang berkelanjutan, proses kimiawi tersebut dapat diamati.

isomer

3 molekul-molekul dengan rumus kimia yang sama (dan sering dengan jenis isomer yang sama), namun memiliki susunan atom yang berbeda. 3 banyak isomer memiliki sifat kimia yang mirip satu sama lain. Terdapat dua jenis isomer, yaitu isomer struktural dan stereoisomer. Isomer struktural adalah isomer yang berbeda dari susunan/urutan atom-atom tetapi satu sama lain. stereoisomer memiliki struktur yang sama, namun beberapa atom atau gugus fungsional memiliki posisi geometri yang berbeda.

17

Karsinogen

adalah zat yang menyebabkan penyakit kanker. Zat-zat karsinogen menyebabkan kanker dengan mengubah asam deoksiribonukleat (DNA) dalam sel-sel tubuh, dan hal ini mengganggu proses-proses biologis.

karbonil

5

merupakan sebuah gugus fungsi yang terdiri dari sebuah atom karbon yang berikatan rangkap dengan sebuah atom oksigen: $C=O$. Istilah karbonil juga dapat merujuk pada karbon monoksida sebagai sebuah ligan pada senyawa anorganik atau kompleks organo logam (misalnya nikel karbonil); dalam situasi ini, karbon berikatan rangkap tiga dengan oksigen $C\equiv O$.

Katarak

Protein lensa mata dapat mengalami glikosilasi non enzimatis membentuk senyawa kompleks melapisi lensa mata

Karsinogenik

adalah sifat mengendap dan merusak terutama pada organ

Melanoidin

Merupakan produk akhir dari reaksi Maillard

Mekanisme

Mekanisme reaksi menjelaskan satu atau lebih langkah yang terjadi di reaksi sehingga mampu menggambarkan bagaimana beberapa ikatan terurai dan terbentuk

Oksidasi

Merupakan *pelepasan* elektron oleh sebuah molekul, atom, atau ion

15

Pirolisis

adalah dekomposisi kimia bahan organik melalui proses pemanasan tanpa atau sedikit oksigen atau reagen lainnya, di mana material mentah akan mengalami pemecahan struktur kimia menjadi fase gas.

polimer

29

adalah rantai berulang dari atom yang panjang, terbentuk dari pengikat yang berupa molekul identik yang disebut monomer

Prekursor

Adalah senyawa yang berpartisipasi dalam reaksi kimia untuk menghasilkan senyawa lain

7

Radikal bebas

molekul yang kehilangan satu buah elektron dari pasangan elektron bebasnya, atau merupakan hasil pemisahan homolitik

suatu ikatan kovalen. Elektron memerlukan pasangan untuk menyeimbangkan nilai spinnya, sehingga molekul radikal menjadi tidak stabil dan mudah sekali bereaksi dengan molekul lain, membentuk radikal baru. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultra violet, zat pemicu radikal dalam makanan dan polutan lain

reaksi Maillard

terjadi antara gugus karbonil gula produksi dengan gugus asam amino bebas, residu rantai peptida dan protein.

Reduksi

menjelaskan *penambahan* elektron oleh sebuah molekul, atom, atau ion.

Reduktone

Merupakan molekul kimia dengan satu ikatan rangkap dan dua gugus hidroksil

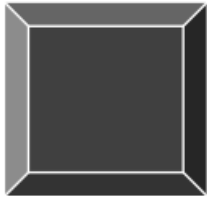
Rearrangement

Merupakan penyusunan kembali reaksi-reaksi yang terjadi

Toksik

5

Merupakan racun dapat berupa zat padat, cair, atau gas, yang dapat mengganggu proses kehidupan sel suatu organisme. Zat racun dapat masuk ke dalam tubuh melalui jalur oral (mulut) maupun topikal (permukaan tubuh).



TENTANG PENULIS

Dedin Finatsiyatull Rosida lahir di Pasuruan Jawa Timur pada tahun 1970. Penulis menyelesaikan studi tingkat sarjana di Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Jember (UNEJ) pada tahun 1993. Kemudian pada tahun 1997 penulis melanjutkan studi magister di jurusan Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga (UNAIR) dan dapat menyelesaikan pada tahun 1997. Pada Tahun 2009 penulis dapat menyelesaikan studi Program Doktor di Jurusan Ilmu Pangan Institut Pertanian Bogor (IPB).

Karier pekerjaan sebagai dosen di jurusan Teknologi Pangan UPN "Veteran" Jawa Timur mulai tahun 1994. Penulis mengampu beberapa mata kuliah seperti Kimia Pangan, Analisa Pangan, Pengendalian Mutu, Makanan Fungsional, Pengetahuan bahan pangan, system manajemen mutu dan keamanan pangan, pengembangan produk pangan dan biokimia pangan.

Penulis banyak melakukan penelitian dan pengabdian pada masyarakat. Penulis pernah mendapatkan dana penelitian mandiri dan fundamental dari Dirjen Dikti tahun 2004. Penulis juga aktif menulis publikasi di berbagai jurnal nasional.

REAKSI MAILLARD

MEKANISME DAN PERAN DALAM PANGAN DAN KESEHATAN

Dalam buku ini dibahas secara lengkap mekanisme reaksi Maillard secara umum dan pada pembentukan senyawa spesifik, demikian juga dibahas senyawa produk reaksi Maillard yang terdapat pada produk pangan dan efeknya pada flavor, nilai gizi, pembentukan senyawa toksin dan efek fungsionalnya.



Dedin Finatsiyatull Rosida lahir di Pasuruan pada tahun 1970. Menyelesaikan studi tingkat Sarjana di Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Jember (UNEJ) pada tahun 1993. Menyelesaikan Studi Magister di Jurusan Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga (UNAIR) pada tahun 1997. Menyelesaikan Studi Program Doktor di Jurusan Ilmu Pangan Institut Pertanian Bogor (IPB).

ISBN : 978-979-3327-74-7

PENERBIT
YAYASAN HUMANIORA

Jl. Melati Gg. Apel No.6

Klaten 57412

email : humaniorapenerbit@yahoo.co.id

Reaksi Maillard Mekanisme dan Peran dalam Pangan dan Kesehatan

ORIGINALITY REPORT

6%

SIMILARITY INDEX

%

INTERNET SOURCES

%

PUBLICATIONS

6%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

Submitted to Universitas Negeri Jakarta

Student Paper

2%

2

Submitted to Universitas Jenderal Soedirman

Student Paper

<1%

3

Submitted to Universitas Pamulang

Student Paper

<1%

4

Submitted to Universitas Negeri Surabaya
The State University of Surabaya

Student Paper

<1%

5

Submitted to Universitas Brawijaya

Student Paper

<1%

6

Submitted to University of Hong Kong

Student Paper

<1%

7

Submitted to Udayana University

Student Paper

<1%

8

Submitted to University of Auckland

Student Paper

<1%

9

Submitted to Universitas Pakuan

Student Paper

<1%

10	Submitted to Loughborough University Student Paper	<1 %
11	Submitted to Ewha Womans University Student Paper	<1 %
12	Submitted to Clarkson University Student Paper	<1 %
13	Submitted to Lincoln University Student Paper	<1 %
14	Submitted to Universitas Pelita Harapan Student Paper	<1 %
15	Submitted to Chandler Unified School District Student Paper	<1 %
16	Submitted to Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Student Paper	<1 %
17	Submitted to Universitas Pendidikan Indonesia Student Paper	<1 %
18	Submitted to Universitas Diponegoro Student Paper	<1 %
19	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	<1 %
20	Submitted to University of Bucharest Student Paper	<1 %
21	Submitted to University of Sydney Student Paper	<1 %

22	Submitted to Yonsei University Student Paper	<1 %
23	Submitted to Universidad Autónoma de Nuevo León Student Paper	<1 %
24	Submitted to Universitas Negeri Semarang Student Paper	<1 %
25	Submitted to School of the Arts, Singapore Student Paper	<1 %
26	Submitted to Universidad San Francisco de Quito Student Paper	<1 %
27	Submitted to University of Queensland Student Paper	<1 %
28	Submitted to Rutgers University, New Brunswick Student Paper	<1 %
29	Submitted to Universitas Andalas Student Paper	<1 %
30	Submitted to TechKnowledge Turkey Student Paper	<1 %
31	Submitted to 94469 Student Paper	<1 %
32	Submitted to Universitas 17 Agustus 1945 Surabaya Student Paper	<1 %

Submitted to Syiah Kuala University

33

Student Paper

<1 %

34

Submitted to Universitas Islam Indonesia

Student Paper

<1 %

35

Submitted to Universitas Muhammadiyah
Surakarta

Student Paper

<1 %

36

Submitted to Florida State University

Student Paper

<1 %

37

Submitted to Universiti Putra Malaysia

Student Paper

<1 %

38

Submitted to National University of
Singapore

Student Paper

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography On