

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Reaksi Pencoklatan Non enzimatis

Reaksi pencoklatan adalah reaksi yang ditandai dengan terbentuknya warna coklat pada tahap akhir reaksi atau terbentuknya pigmen coklat yang disebut melanoidin. Reaksi pencoklatan terjadi berdasarkan dua cara, yaitu secara enzimatis dan non enzimatis.

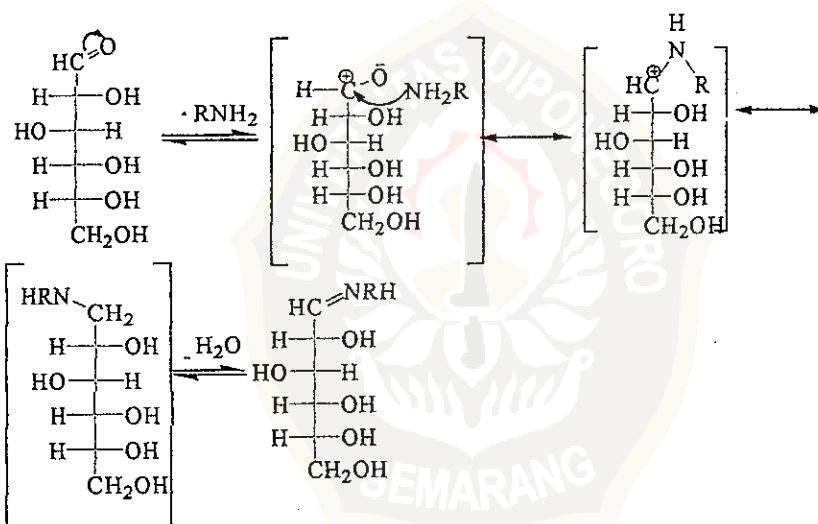
Reaksi pencoklatan non enzimatis merupakan sederetan reaksi yang meliputi reaksi dehidrasi, fragmentasi dan polimerisasi yang secara kimia maupun kinetik tidak pernah dapat dijelaskan seluruhnya (Martins, 2003; Davies dan Labuza, 1994). Jika reaksi yang terjadi tidak melibatkan campuran yang mengandung nitrogen disebut reaksi karamelisasi. Jika reaksi yang terjadi melibatkan campuran yang mengandung nitrogen, terutama amina primer dan sekunder disebut reaksi Maillard (reaksi karbonil–amina) (Davies dan Labuza, 1994; Fessenden, 1992; Winarno, 1991).

2.2. Reaksi Maillard (Reaksi Karbonil – Amina)

Reaksi Maillard merupakan reaksi pencoklatan non enzimatis antara gula pereduksi dan amonia, amina primer, amina sekunder atau asam-asam amino, molekul yang bereaksi dengan amina biasanya memiliki gugus karbonil. Beberapa gugus karbonil yang reaktif adalah α,β -aldehid seperti furaldehid dan gugus α -dikabornil, seperti piruvaldehid dan diasetal (Davies dan Labuza, 1994).

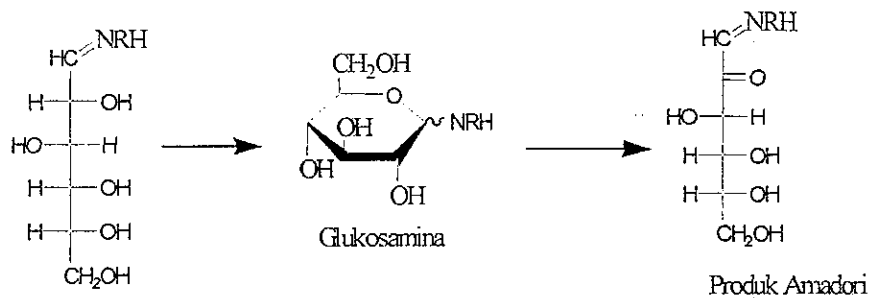
Reaksi Maillard pada umumnya dapat terjadi dalam tiga tahap reaksi. Tahap pertama terjadi dua proses yaitu, kondensasi gula dengan amina dan penataulangan Amadori. Tahap kedua terjadi tiga proses reaksi yaitu, dehidrasi gula, fragmentasi gula dan degradasi asam amino. Tahap ketiga terjadi dua proses reaksi yaitu, kondensasi aldosa dan polimerisasi aldehyd-amina atau pembentukan senyawa nitrogen heterosiklik (pigmen karbonil-amina) (Mottram dan Wedzicha, 1994, Martins, 2003).

Tahap pertama reaksi Maillard adalah reaksi kondensasi glukosa dengan glisin yang ditandai dengan lepasnya H_2O .



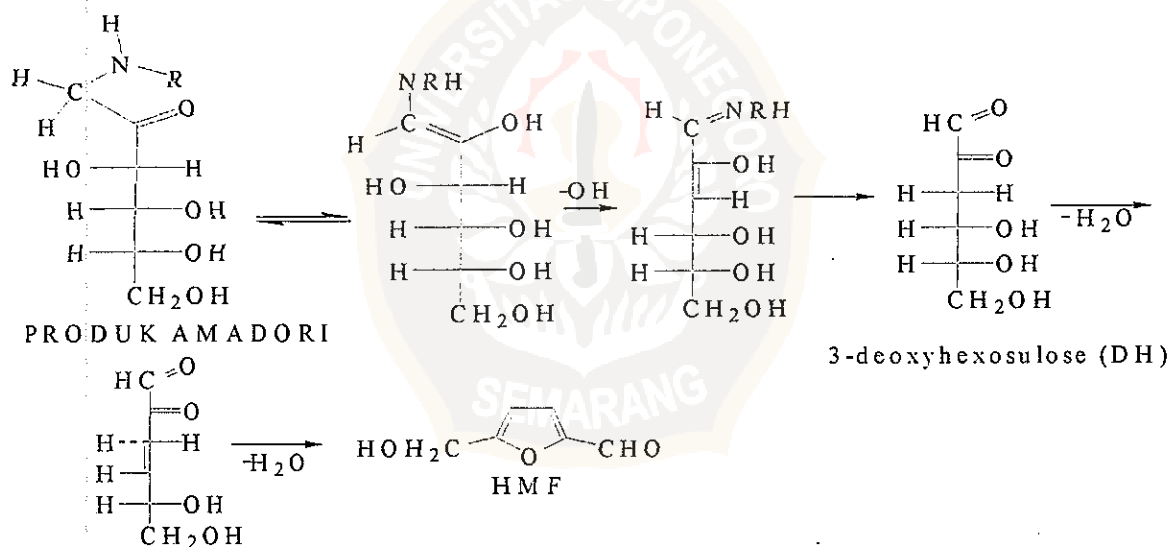
Gambar 2.1. Reaksi kondensasi glukosa dengan suatu asam amino (Mottram dan Wedzicha, 1994)

Produk dari reaksi kondensasi ini terhidrasi dan tersiklisasi menjadi glukosamina.



Gambar 2.2. Reaksi pembentukan glukosilamina (Mottram dan Wedzicha, 1994).

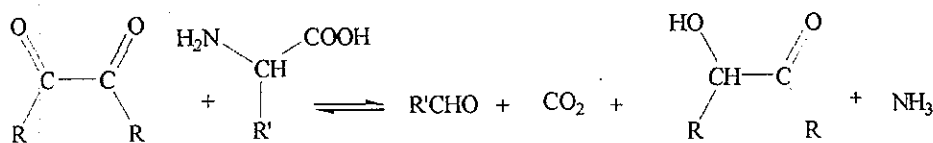
Selanjutnya pada tahap kedua reaksi dapat berjalan dari produk Amadori. Reaksi yang terjadi adalah dehidrasi dari produk Amadori, yang kemudian dilanjutkan pembentukan senyawa dikarbonil. Produk dikarbonil ini dapat tersiklisasi dan melepas H_2O menjadi Hidroksi Metil Furfural (HMF). Pada tahap ini perubahan warna telah terjadi dari tidak berwarna menjadi kuning.



Gambar 2.3. Reaksi kelanjutan dari produk Amadori membentuk HMF (Mottram dan Wedzicha, 1994).

Perubahan warna kuning ini akan berlanjut menjadi warna coklat gelap. Bila sistem telah menjadi berwarna gelap seluruhnya, terjadi pembentukan karbondioksida yang melimpah. Salah satu mekanisme pembentukan CO_2 dari

asam amino adalah degradasi Strecker. Berdasarkan degradasi Strecker (Gambar 2.4), yaitu suatu reaksi transaminasi, suatu asam amino akan bereaksi dengan gugus dikarbonil yang dihasilkan dari dehidrasi gula dan fragmentasi, untuk menghasilkan CO₂ dan suatu aldehid yang mempunyai atom karbon satu lebih sedikit daripada rantai karbon asam amino (Mottram dan Wedzicha, 1994; Davies dan Labuza, 1994).



Gambar 2.4. Reaksi Degradasi Strecker (transaminasi) dari karbonil dengan asam amino (Fessenden, 1992; Mottram dan Wedzicha, 1994)

Reaksi tahap ketiga adalah pembentukan pigmen coklat dan aroma. Pembentukan melanoidin merupakan hasil dari polimerisasi aldehid-amina yang membentuk senyawa nitrogen heterosiklik (Mauron, 1981). Namun struktur kimia dari melanoidin ini belum diketahui dan mekanisme pembentukannya pun belum dapat menjadi suatu mekanisme reaksi yang baku (Davies dan Labuza, 1994).

Dalam pembentukan aroma (bau) yang dihasilkan dari reaksi karbonil – amin beragam, meskipun sepintas aroma karbonil–amin sama dengan reaksi karamelisasi. Namun, aroma yang dihasilkan dari reaksi karbonil-amin adalah hasil dari reaksi degradasi Strecker yang menghasilkan senyawa karbonil yang beraroma (Fessenden, 1992; Davies dan Wedzicha, 1992).

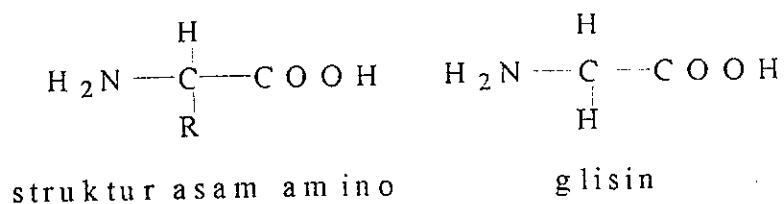
2.3. Glukosa

Glukosa merupakan suatu karbohidrat yang termasuk golongan monosakarida. Glukosa merupakan sakarida yang memiliki sifat dapat mereduksi senyawa-senyawa pengoksidasi seperti pereaksi Tollens ($\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$) yang membentuk cermin perak, pereaksi Fehling yang mereduksi ion Cu^{2+} menjadi Cu (Fessenden, 1992). Pada reaksi ini, gula dioksidasi pada gugus karbonil dan senyawa pengoksidasi menjadi tereduksi. Gula-gula yang mampu mereduksi senyawa pengoksidasi disebut gula pereduksi (Poedjiadi, 1994).

Glukosa dapat bereaksi dengan asam amino yang disebut sebagai reaksi pencoklatan atau reaksi Maillard membentuk pigmen coklat atau melanoidin. Dalam reaksi Maillard ini glukosa teroksidasi dan serta-merta mengalami penataan ulang Amadori membentuk glukosilamina dan kelanjutan reaksi ini mengarah ke pembentukan warna coklat (Winarno, 1991).

2.4. Glisin

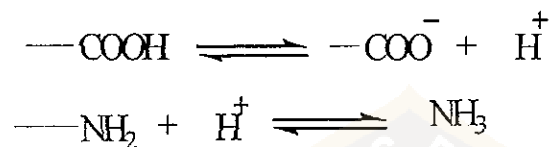
Asam amino ialah asam karboksilat yang mempunyai gugus amina. Asam amino yang terdapat sebagai komponen protein mempunyai gugus $-\text{NH}_2$ pada atom karbon α dari posisi gugus $-\text{COOH}$. Glisin adalah salah satu jenis asam amino, yang memiliki rantai cabang (R) berupa atom H.



Gambar 2.5. Struktur asam amino dan glisin (Winarno, 1991)

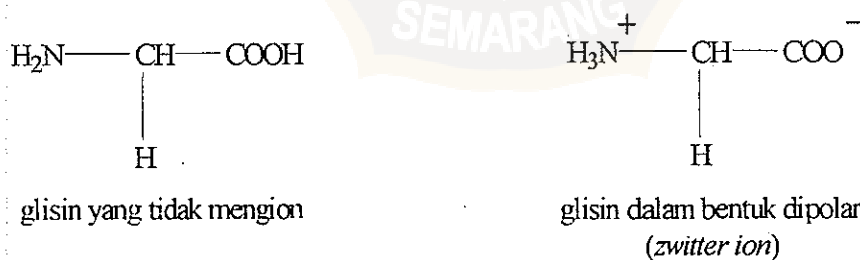
Glisin larut dalam air dan tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti eter, aseton dan kloroform. Sifat asam amino ini berbeda dengan asam karboksilat maupun dengan sifat amina. Asam karboksilat alifatik maupun aromatik yang terdiri atas beberapa atom karbon umumnya kurang larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik (Poedjiadi, 1994).

Apabila glisin larut dalam air, gugus karboksilat akan melepaskan ion H^+ , sedangkan gugus amina akan menerima ion H^+ , sebagaimana dituliskan dibawah ini:



Gambar 2.6. Reaksi disosiasi gugus karboksil dan gugus amino (Winarno, 1991).

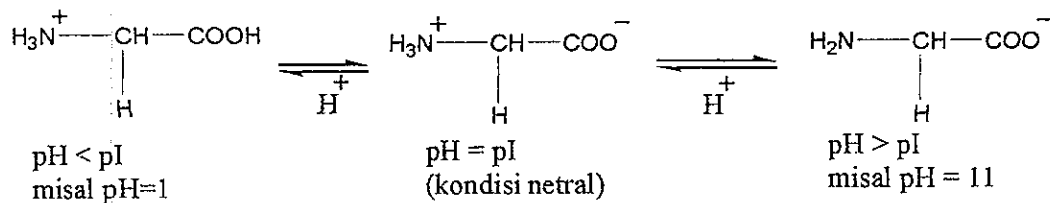
Glisin memiliki sifat zwitter ion atau ion dipolar, dalam keadaan ini berada dalam kondisi netral (pH Isolistrik, pI). Pada kondisi dipolar, gugus amino dapat satu gugus tambahan sebuah proton dan gugus karboksil terdisosiasi (Winarno, 1991).



Gambar 2.7. Struktur glisin dalam kondisi dipolar dan yang tidak mengion (Winarno, 1991).

Pada pH rendah misalnya pH 1, gugus karboksilnya tidak terdisosiasi, sedangkan gugus aminonya menjadi ion. Pada pH tinggi misal pH 11, gugus

karboksil terdisosiasi, sedangkan gugus aminonya tidak terionisasi (Winarno, 1991).



Gambar 2.8. Glisin dalam kondisi asam, netral, dan basa (Winarno, 1991).

2.5. Bakteri Patogen

Suatu bakteri dapat disebut patogen apabila bakteri tersebut dapat menyerang dan menginvasi sehingga menimbulkan infeksi pada sel inang manusia. Bakteri dapat menyerang beberapa saluran metabolisme dalam tubuh manusia; salah satunya adalah saluran pencernaan manusia. Beberapa bakteri patogen yang sering mengakibatkan infeksi saluran pencernaan pada manusia adalah *E. coli* yang sering mengakibatkan penyakit diare pada manusia dan *Salmonella typhimurium* yang mengakibatkan penyakit gastroenteritis, mirip seperti diare yang disebabkan oleh *E. coli*. Infeksi yang ditimbulkan oleh *E. coli* dan *Salmonella typhimurium* terjadi pada usus halus manusia dimana penderita kehilangan banyak cairan, apabila sangat fatal berakibat timbulnya kematian. Kemampuan toksin yang dihasilkan *Salmonella typhimurium* dan *E. coli* sangat mirip, karena sama-sama menghasilkan jenis toksin yang sama (Volk dan Wheeler, 1990).

2.5.1 *Escherichia coli*

E. coli merupakan bakteri kelas gram-negatif *Enterobacterium* yang bersifat patogen. Pada *E. coli* memproduksi toksin dua macam yaitu Labil toksin (LT) dan Stabil toksin (ST). Labil toksin adalah toksin yang dapat rusak dengan pemanasan 65 °C selama 30 menit, sedangkan stabil toksin merupakan protein kecil yang dapat mempertahankan toksitasnya setelah dipanaskan sampai 100 °C selama 30 menit (Volk dan Wheeler, 1990).

Mekanisme infeksi berdasarkan toksin yang dihasilkan oleh *E. coli* dapat dibagi menjadi dua. Labil toksin yang merupakan protein kecil dapat merangsang aktivitas siklase adenil yang terikat membran mengakibatkan perubahan ATP (Adenosin Trifosfat) menjadi AMP (Adenosin Monofosfat) siklik (cAMP). Jumlah AMP yang sangat kecil akan merangsang ekskresi Cl⁻ yang aktif dan menghambat penyerapan Na⁺ dari NaCl yang merupakan cairan elektrolit dalam tubuh, sehingga menciptakan ketidakseimbangan elektrolit diseluruh lapisan lendir usus yang menyebabkan hilangnya cairan dari usus (Volk dan Wheeler, 1990).

Stabil toksin yang merupakan protein kecil dapat merangsang kegiatan siklase guanilat dalam sel-sel epitelium usus. Enzim ini membentuk siklik guanosin monofosfat (cGMP) dalam reaksi yang analog dengan pembentukan cAMP. cGMP bertindak sebagai penengah intrasel untuk perubahan pengangkutan ion dengan menghambat penyerapan Cl⁻, sehingga dapat menyebabkan hilangnya cairan dari usus halus (Volk dan Wheeler, 1990).

2.5.2 *Salmonella typhimurium*

Salmonella typhimurium merupakan bakteri gram-negatif kelas *Enterobacterium*, adalah salah satu bakteri patogen penyebab kasus-kasus intestinal dan masalah pencernaan makanan. Sekitar empat juta kasus dari masalah makanan terjadi dalam satu tahun di Amerika Serikat yang disebabkan oleh bakteri ini (Kundinger, 2004; Volk dan Wheeler, 1990). Hal ini diyakini menurut Olsen (2001), dalam kurun waktu 1992-1997 *Salmonella typhimurium* yang telah diisolasi dari tubuh manusia mencapai 53.337 jenis. Bakteri *Salmonella typhimurium* juga dapat menyebabkan penyakit demam thypoid pada tikus. Sehingga sering dijadikan obyek penelitian awal dalam pencegahan penyakit demam thyposa (Kundinger, 2004).

Salmonella typhimurium memproduksi labil toksin (LT). Mekanisme infeksi yang dilakukan oleh *Salmonella typhimurium* terhadap usus manusia mirip dengan mekanisme infeksi yang dihasilkan oleh *E. coli*. Labil toksin pada *Salmonella typhimurium* mengakibatkan infeksi pada usus halus melalui mekanisme yang sama dengan *E. coli*. Labil toksin yang dihasilkan dapat merangsang aktivitas siklase adenil yang terikat membran mengakibatkan perubahan ATP menjadi AMP siklik (cAMP). Jumlah AMP yang sangat kecil akan merangsang ekskresi ion Cl^- yang aktif dan menghambat penyerapan ion Na^+ , sehingga menciptakan ketidakseimbangan elektrolit diseluruh lapisan lendir usus yang menyebabkan hilangnya cairan dari usus (Volk dan Wheeler, 1990). Namun pada *Salmonella typhimurium* hanya memproduksi sedikit labil toksin (LT) karena beberapa faktor berikut, pertama adalah toksin disentri yang

dihasilkan dalam jumlah sedikit dan kedua, toksin tidak segera dilepaskan dari sel bakteri atau toksin dilepaskan setelah berada dalam lingkungan usus halus (Volk dan Wheeler, 1990).

2.6. Inhibisi Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dihambat atau dihentikan sama sekali oleh sederetan bahan kimia. Keberadaan zat-zat kimia ini dapat menyebabkan gangguan metabolisme pada bakteri bahkan dapat mematikan bakteri itu sendiri, efek ini tergantung dari konsentrasi inhibitor. Namun beberapa jenis bakteri ada yang mentolerir racun-racun umum untuk sel dan untuk metabolisme, seperti H_2S , fenol, dan CO_2 , bahkan dapat memanfaatkan zat ini sebagai sumber energi (Schlegel dan Schmidt, 1994).

Beberapa jenis mekanisme inhibisi pada pertumbuhan bakteri menurut Schegel dan Schmidt, diantaranya yaitu:

2.6.1. Perusakan pada lapis batas sel atau strukturnya

Etanol dengan kadar tinggi (70 %) menyebabkan koagulasi atau terendapkannya protein dan bersifat bakteristid (bersifat mematikan). Fenol, kresol, sabun netral dan detergen (bahan aktif permukaan) menyerang lapis batas tipis sel dan merusak semipermeabilitas membran sitoplasma.

2.6.2. Perusakan enzim dan metabolisme dasar

Beberapa logam berat seperti tembaga, perak, air raksa, dan lain-lain, baik sebagai garamnya ($HgCl_2$, $CuCl$, $AgNO_3$) maupun dalam bentuk senyawa organik dapat bekerja sebagai racun enzim yang kuat pada konsentrasi rendah ("efek

oligodinamik⁷⁷). Logam-logam ini mengikat gugus SH enzim dan dengan demikian mengadakan perubahan mendalam terhadap struktur tersier dan kuartier protein.

2.6.3. Inhibisi kompetitif

Inhibisi kompetitif disebabkan karena adanya kemiripan struktur antara zat zat inhibitor dengan komponen normal sel. Pengasupan antimetabolit oleh sel dapat beragam akibatnya terutama terhadap biosintesis.

2.6.4. Inhibisi sintesis protein oleh senyawa antibiotik

Sintesis protein pada prokariot diinhibisi oleh beberapa senyawa antibiotik secara spesifik. Penghambatan terjadi pada fungsi ribosom 70S (yang berfungsi dalam sintesis enzim yang bertanggung jawab dalam proses replikasi). Steoptomisin dan neomisin menghambat penghubungan asam-asam amino. Eritromisin menghambat pada fungsi subunit 50S yang berfungsi dalam proses sintesis enzim yang berpengaruh pada replikasi. Tetrasiklin menginhibisi persenyawaan asam amino asil-tRNA pada ribosom. Kloramfenikol digunakan dalam kemoterapi sebagai bakteriostatikum yang kuat dan juga pada penelitian biokimia sebagai inhibitor selektif untuk sintesis protein, tanpa mengganggu fungsi-fungsi metabolisme yang lain.

2.6.5. Inhibisi sintesis asam nukleat oleh senyawa antibiotik

Sintesis asam nukleat dapat dihambat oleh beberapa senyawa antibiotik. Mitomisin C menghalangi secara selektif sintesis DNA, tanpa mempengaruhi sintesis RNA dan protein. (Schlegel dan Schmidt, 1994).

2.7. Metode Difusi Cakram Kertas (Paper Disc)

Metode yang digunakan adalah metode difusi cakram kertas. Dasar percobaan ini adalah dengan membiarkan zat anti bakteri berdifusi ke dalam pembenihan padat yang telah ditanami bakteri yang akan diuji. Metode cakram kertas merupakan teknik yang paling umum dipakai untuk menetapkan kepekaan mikroorganisme terhadap zat anti bakteri. Cakram kertas saring diresapi dengan zat yang akan diuji, kemudian diletakkan pada permukaan cawan yang telah diinokulasi bakteri. Setelah inkubasi, dilakukan pengamatan terhadap adanya zona penghambatan di sekeliling cakram, yang menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan oleh adanya zat uji, yang merembes dari cakram ke media agar. Lebarnya zona hambatan menunjukkan derajat kepekaan bakteri terhadap zat anti bakteri (Pelczar dan Chan, 1988).

