

EFEK HEPAPROTEKTIF GULA AREN TERHADAP KARBON TETRAKLORIDA PADA TIKUS

Elly Juliana Suoth^{1*}, Rina Herowati² dan Gunawan Pamudji²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado
Jl. Kampus Unsrat, Kleak, Manado 95115 Sulawesi Utara

²Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

ABSTRAK

Studi ini meneliti efek gula aren, senyawa bioaktif yang diisolasi dari gula aren, terhadap kerusakan hati akibat karbon tetraklorida (CCl₄). Tikus diperlakukan secara intraperitoneal dengan 0,5 ml / kg CCl₄ dan kelompok hewan yang berbeda menerima 25, 50, 100, dan 200 mg / kg sudar palem. Pada 24 jam setelah perawatan CCl₄, kadar aminotransferase serum dan peroksidasi lipid meningkat secara signifikan, sedangkan kadar glutathione hati menurun. Perubahan ini dilemahkan oleh gula aren. Studi histologis menunjukkan bahwa gula aren menghambat peradangan portal, nekrosis sentrizonal, dan hiperplasia sel Kupffer, yang merupakan tiga karakteristik paling umum dari kerusakan hati yang diinduksi CCl₄. Tingkat serum dan mRNA ekspresi tumor necrosis factor- α secara nyata meningkat dengan pengobatan CCl₄ tetapi ditekan oleh gula aren. Level mRNA dan ekspresi protein diinduksi nitric oxide synthase dan heme oksigenase-1 meningkat secara signifikan pada 24 jam setelah perawatan CCl₄. Gula aren melemahkan peningkatan protein dan ekspresi gen diinduksi nitric oxide synthase tetapi menambah peningkatan heme oxygenase-1. Temuan ini menunjukkan bahwa gula aren melindungi hepatosit dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh CCl₄, dan perlindungan ini kemungkinan disebabkan oleh induksi ekspresi HO-1 dan penghambatan mediator proinflamasi.

Kata kunci: Gula merah, karbon tetraklorida, stress oksidatif

ABSTRACT

This study examined the effects of palm sugar, a bioactive compounds isolated from palm sugar, on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced liver injury. Mice were treated intraperitoneally with 0.5 ml/kg CCl₄ and different groups of animals received 25, 50, 100, and 200 mg/kg palm sudar. At 24 h after the CCl₄ treatment, the level of serum aminotransferases and lipid peroxidation was significantly elevated, whereas the hepatic glutathione content was decreased. These changes were attenuated by palm sugar. The histological studies showed that palm sugar inhibited the portal inflammation, centrizonal necrosis, and Kupffer cell hyperplasia, which are the three most common characteristics of CCl₄-induced liver damage. The serum level and mRNA expression of tumor necrosis factor- α were markedly increased by the CCl₄ treatment but suppressed by palm sugar. The mRNA and protein expression levels of inducible nitric oxide synthase and heme oxygenase-1 increased significantly at 24 h after the CCl₄ treatment. Palm sugar attenuated the increase in the protein and gene expression of inducible nitric oxide synthase but augmented the increase in those of heme oxygenase-1. These findings suggest that palm sugar protects hepatocytes from the oxidative damage caused by CCl₄, and this protection is likely due to the induction of HO-1 expression and the inhibition of the proinflammatory mediators.

Keywords: Palm sugar, carbon tetrachloride, oxidative stress

PENDAHULUAN

Gula aren merupakan salah satu komoditi utama di daerah Sulawesi Utara khususnya Minahasa (Minahasa Selatan, Minahasa tenggara, Tomohon) yang sampai saat ini pemasarannya tidak hanya secara lokal ataupun nasional namun telah mencapai pasar internasional. Gula aren dihasilkan dari nira pohon aren (*Arenga pinnata*) yang dipanaskan kemudian dibentuk menjadi gula aren serbuk dan juga ada yang dibentuk dengan

menggunakan cetakan batok kelapa (padatan gula aren). Gula aren banyak digunakan sebagai pemanis pada makanan dan minuman maupun digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit yang dikombinasikan dengan bahan tumbuhan alami lainnya. Salah satunya adalah gula aren yang biasa digunakan oleh Masyarakat Sulawesi Utara sebagai obat untuk mengatasi penyakit kuning atau liver. Selain digunakan secara empiris oleh masyarakat berbagai penelitian pun sudah banyak

* Korespondensi:

Telepon: +62 852-4030-8901

Email: ellysuoth@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.35799/cp.12.1.2019.27303>

dilakukan untuk mengetahui khasiat dari gula aren tersebut seperti penelitian yang dilakukan oleh Adriani dkk., (2014) yang menguji tentang pengaruh dari pemberian gula aren dan juice buah noni terhadap kadar SGOT dan SGPT pada hewan uji.

Penelitian yang ada telah membuktikan bahwa gula aren memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan stabil pada pemanasan dengan metode FRAP (Pealeu dkk., 2011) serta penelitian dari Amin dkk. (2010) yang melaporkan aktivitas antioksidan gula aren dengan metode DPPH selain itu Choong dkk., (2016) melaporkan berdasarkan hasil penelitian perbandingan aktivitas antioksidan antara gula aren dengan gula putih dimana gula aren memiliki aktivitas antioksidan sebesar 28,88 % sedangkan gula putih hanya memiliki aktivitas antioksidan sebesar 0,16 %. Aktivitas antioksidan dari gula aren kemungkinan disebabkan oleh senyawa melanoidin yang terbentuk selama pemanasan pada proses pembuatan gula tersebut. Berdasarkan hasil laboratorium menunjukkan bahwa pada gula aren selain mengandung karbohidrat juga mengandung asam-asam amino protein yang dapat bereaksi membentuk reaksi Mailard pada proses pemanasan. Selain itu berdasarkan hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan diperoleh bahwa pemberian gula aren pada hewan uji tikus putih dengan tiga variasi dosis yaitu 125 mg/kg BB, 250 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB selama dua minggu dapat menurunkan nilai AST dan ALT dari hewan uji yang di induksi dengan CCl₄. Hasil pendahuluan yang diperoleh pada kontrol negatif kadar ALT rata-ratanya yaitu 38,26 U/I sedangkan pada gula aren dosis 125 mg/kg BB kadar ALT rata-ratanya yaitu 27, 58 U/I dan 23,11 U/I serta 20,78 U/I pada dosis 250 dan 500 mg/kg BB, yang berdasarkan hasil analisis dengan statistika ketiga dosis gula aren tersebut berbeda dengan kontrol negatif yang ditunjukkan dengan nilai $P = 0,000 < 0,05$. Hal yang sama juga berlaku pada kadar AST.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gula aren serbuk yang diperoleh dari pabrik gula aren Yayasan Masarang di Tomohon, Sulawesi Utara. Bahan untuk induksi yang digunakan adalah CCl₄ 1,5 ml/kg BB dengan konsentrasi 50% dalam larutan minyak kelapa serta bahan uji untuk ALT dan AST. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, mikropipet, inkubator sentrifuge

spektrofotometer, inkubator serta alat-alat gelas lainnya yang lazim digunakan dalam laboratorium.

Perlakuan terhadap hewan uji

Tikus dipuasakan kemudian ditimbang. Pada hari pertama dilakukan pengambilan darah untuk mengukur kadar ALT dan AST dari tikus sebelum dilakukan perlakuan, kemudian pada hari itu juga diberikan gula aren sesuai dengan dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB selama 14 hari dan pada hari ke-15 diberikan larutan CCl₄ sebanyak 1,5 ml/kg BB. 24 jam setelah pemberian CCl₄ diambil kembali darah tikus untuk mengukur kadar ALT dan AST sesudah perlakuan. Pengukuran kadar ALT dan AST pada darah tikus dilakukan sebanyak 3 kali pengukuran yaitu pada 0 hari, hari ke-7 dan hari ke-16 setelah induksi CCl₄

Pengukuran kadar AST

Penetapan aktivitas AST ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatis menggunakan reagen kit Dyasis® AST (R1) TRIS pH 7,65 sebanyak 110 mmol/L, L-aspartate 320 mmol/L, MDH (malate dehidrogenase) ≥ 800 U/L dan LDH (laktate dehidrogenase) ≥ 1200 U/L; reagen AST (R2) 2-oksoglutarate 65 mmol/L dan NADH 1 mmol/L. Larutan sampel berisi campuran R1 dan R2 dengan perbandingan 4 : 1. Sebanyak 600 μ l reagen kit AST direaksikan dengan 60 μ l sampel, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit selanjutnya sampel dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm

Pengukuran kadar ALT

Penetapan aktivitas ALT ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatis menggunakan reagen kit Dyasis® ALT (RI) TRIS pH 7,15 sebanyak 140 mmol/L, L-alanine 700 mmol/L dan LDH (laktate dehidrogenase) ≥ 2300 U/L; reagen ALT (RII) 2-oksoglutarate 85 mmol/L dan NADH 1 mmol/L. Larutan sampel berisi campuran reagen I dan reagen 2 dengan perbandingan 4 : 1. Sebanyak 600 μ l reagen kit ALT direaksikan dengan 60 μ l sampel, di vortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit selanjutnya sampel dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm.

Uji histopatologi

Hewan uji dikorbankan dengan cara anestesi, diambil seluruh bagian dari organ hati

kemudian dibuat preparat histopatologi. Jaringan akan mengalami autolysis ketika terlepas dari tubuh sehingga untuk mengamati jaringan dengan struktur yang mendekati struktur ketika masih hidup maka perlu dilakukan fiksasi kemudian dilakukan pewarnaan dan pengamatan jaringan dengan mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran berat badan tikus

Pengukuran berat badan tikus dilakukan secara bertahap yang bertujuan untuk melihat ada tidaknya perubahan yang dipengaruhi oleh karena pemberian perlakuan baik itu dengan gula aren serbuk maupun dengan pemberian kontrol positif sebelum dan sesudah diinduksi dengan CCl₄.

Tabel 1. Berat badan tikus dan perubahannya

Kelompok	Berat Badan Tikus (gram)				Selisih
	0 hari	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-16	
I	195,6 ± 5,1	201,8 ± 6,0	206,4 ± 4,2	207,6 ± 4,9	12*
II	199,0 ± 6,3	206,8 ± 6,9	213,4 ± 5,6	211,2 ± 5,5	12.2*
III	197,8 ± 3,9	204,6 ± 3,5	211,6 ± 4,3	212,2 ± 4,0	14.4
IV	199,2 ± 3,0	205,6 ± 3,3	211,4 ± 3,3	210,0 ± 2,7	10.8*
V	193,6 ± 2,6	200,2 ± 1,9	205,0 ± 2,9	206,0 ± 3,3	12.4*

Tanda * menunjukkan P<0,05 dibandingkan dengan kontrol positif

Berat badan pada kelompok kontrol negatif berbeda signifikan dengan kelompok positif namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal dan kelompok gula aren dosis 200 mg/kg serta kelompok gula aren dosis 400 mg/kg. Hal tersebut menunjukkan bahwa induksi CCl₄ yang dilakukan hanya sekali dengan waktu 24 jam tidak mempengaruhi berat badan dari hewan uji.

Hasil pengukuran kadar ALT dan AST pada darah tikus

Pengukuran kadar ALT dan AST dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada awal sebelum diberikan perlakuan, hari ke 7 setelah diberikan perlakuan dan setelah diinduksi dengan CCl₄ yaitu pada hari ke-16.

Tabel 2. Hasil pengukuran kadar ALT tikus

Kelompok	ALT			
	0 Hari	Hari ke-7	Hari ke-16	Selisih
I	18,35 ± 0,4	19,42 ± 0,4	18,44 ± 0,3	0.10
II	18,35 ± 0,4	19,42 ± 0,3	37,18 ± 2,1 ^a	18.84
III	18,25 ± 0,7	20,29 ± 0,4	23,01 ± 0,6 ^{ab}	4.76
IV	17,96 ± 0,3	20,00 ± 0,2	31,84 ± 0,5 ^{abc}	13.89
V	18,35 ± 0,4	19,80 ± 0,8	26,11 ± 0,7 ^{abcd}	7.77

Keterangan huruf: a: menunjukkan p<0,05 dibandingkan dengan kontrol normal, b: menunjukkan p<0,05 dibandingkan dengan kontrol negatif, c: menunjukkan p<0,05 dibandingkan dengan kontrol positif, d: menunjukkan p<0,05 dibandingkan dengan dosis gula aren 200 mg/kgBB. Keterangan: I (kelompok normal, II (kelompok kontrol negatif), III (kelompok kontrol positif, Hepamax, IV (gula aren dosis 200 mg/kg BB) dan V (gula aren dosis 400 mg/kg BB)

Hasil pengujian pada tabel 2 menunjukkan bahwa hasil uji kadar ALT pada 0 hari tidak terdapat perbedaan pada kelima kelompok. Hal yang serupa juga terjadi pada ALT hari ke-7 dimana berdasarkan hasil statistik antar kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Tidak adanya perbedaan yang signifikan pada ALT 0 hari dan ALT hari ke-7 membuktikan

bahwa pemberian kontrol positif juga pemberian gula aren dosis 200 mg/kg BB dan gula aren dosis 400 mg/kg BB tidak memberikan pengaruh terhadap kadar ALT hewan uji yang sehat.

Kadar ALT hari ke-16 merupakan kadar ALT setelah hewan uji diinduksi dengan CCl₄ dan berdasarkan hasil uji statistika menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok. Tabel 5

menunjukkan bahwa kadar ALT hari ke-16 pada kelompok normal berbeda dengan kelompok kontrol negatif, juga dengan kelompok yang lainnya. Perbedaan kelompok normal dengan kelompok lainnya menunjukkan bahwa induksi CCl₄ yang dimaksudkan untuk merusak fungsi dari organ hati telah berhasil, dimana pada kelompok normal yang tidak diinduksi dengan CCl₄ tidak terjadi peningkatan kadar ALT.

Kadar ALT hari ke-16 pada kelompok kontrol negatif berbeda dengan kelompok yang lainnya dimana pada kelompok kontrol negatif terjadi peningkatan kadar ALT yang terbesar. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian larutan saline selama 14 hari tidak dapat melindungi kerusakan hati akibat induksi CCl₄. Kelompok kontrol positif menunjukkan kadar ALT hari ke-16 yang berbeda

dengan kelompok negatif dimana peningkatan kadar ALT hari ke-16 pada kelompok kontrol positif adalah yang terkecil. Hasil tersebut membuktikan bahwa pemberian Hepamax sebagai kontrol positif yang mengandung silimarin mampu melindungi hati dari kerusakan yang disebabkan oleh CCl₄.

Kelompok gula aren dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB menunjukkan kadar ALT pada hari ke-16 yang berbeda dengan kontrol positif juga berbeda dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok gula aren juga mampu melindungi kerusakan yang terjadi di hati walaupun tidak sebesar perlindungan yang diberikan oleh hepamax sebagai kontrol positif.

Tabel 3. Hasil pengukuran kadar AST tikus

Kelompok	AST			
	0 Hari	Hari ke-7	Hari ke-16	Selisih
I	37,21 ± 0,12	39,03 ± 0,4	38,25 ± 0,6	1.04
II	37,38 ± 0,7	38,94 ± 1,2	77,09 ± 3,6 ^a	39.71
III	37,38 ± 0,3	39,23 ± 0,6	46,31 ± 2,3 ^{ab}	8.93
IV	37,77 ± 0,6	38,26 ± 0,8	58,72 ± 1,5 ^{abc}	20.95
V	37,67 ± 0,5	38,16 ± 0,7	49,90 ± 0,6 ^{abcd}	12.23

Keterangan: a: menunjukkan p<0,05 dibandingkan dengan kontrol normal, b: menunjukkan p<0,05 dibandingkan dengan kontrol negatif, c: menunjukkan p<0,05 dibandingkan dengan kontrol positif, d: menunjukkan p<0,05 dibandingkan dengan dosis gula aren 200 mg/kgBB

Kadar AST pada 0 hari dan hari ke-7 pada tabel 3 di atas tidak menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok. Kadar AST pada hari ke-16 menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok dan perbedaan-perbedaan tersebut terjadi sama seperti yang terlihat pada kadar ALT hari ke-16

Reaksi radikal bebas yang dihasilkan dari CCl₄ pada penelitian ini dapat diredam oleh adanya pemberian Hepamax sebagai kontrol positif dan gula aren pada hewan uji. Pada Hepamax mengandung silimarin yang bersifat sebagai antioksidan sedangkan pada gula aren berdasarkan penelitian yang ada mengandung produk dari reaksi Mailard yaitu senyawa melanoidin yang bersifat sebagai antioksidan yang dapat meredam reaksi radikal bebas (Amin dkk., 2010).

Berbagai sistem yang dilakukan menyimpulkan bahwa melanoidin memiliki aktivitas sebagai penangkal radikal bebas dan sebagai pengkelat logam (Wang dkk., 2011).

Studi *in vitro* yang dilakukan terhadap isolat hepatosit dari tikus yang diinduksi dengan adriamycin untuk membentuk stres oksidatif menunjukkan bahwa pemberian melanoidin dengan konsentrasi 50 µg dapat menghambat pelepasan LDH secara signifikan dan mengurangi kerusakan lipid yang disebabkan oleh peroksidasi lipid serta dapat menjaga pengurangan kadar glutathion pada isolat hepatosit yang diinduksi adriamycin secara signifikan. Efek yang ditimbulkan oleh melanoidin tersebut diduga berkaitan dengan sifatnya sebagai antioksidan (Valls dkk., 2004).

Studi *in vivo* mengenai manfaat dari melanoidin juga sudah ada beberapa yang dilakukan diantaranya yaitu penelitian yang dilakukan terhadap senyawa melanoidin yang terdapat dalam kopi, dimana dalam penelitian tersebut diperoleh bahwa pemberian kopi yang mengandung sekitar 30% senyawa melanoidin selama 10 hari dapat meningkatkan aktivitas glutathion dalam hati tikus yang diinduksi stres

oksidatif. Hal tersebut berhubungan dengan sifat dari melanoidin sebagai penangkal radikal bebas yang struktur kimianya memiliki cincin fenol (Esposito dkk., 2002).

Hasil histopatologi Jaringan Hati Tikus

Uji histopatologi yang dilakukan pada organ hati dilakukan untuk melihat keadaan organ ini setelah diinduksi dengan CCl_4 . Pada uji histopatologi ini yang dianalisis adalah keadaan inflamasi, perlemakan pada organ hati juga nekrosis. Hasil analisis pada uji histopatologi dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

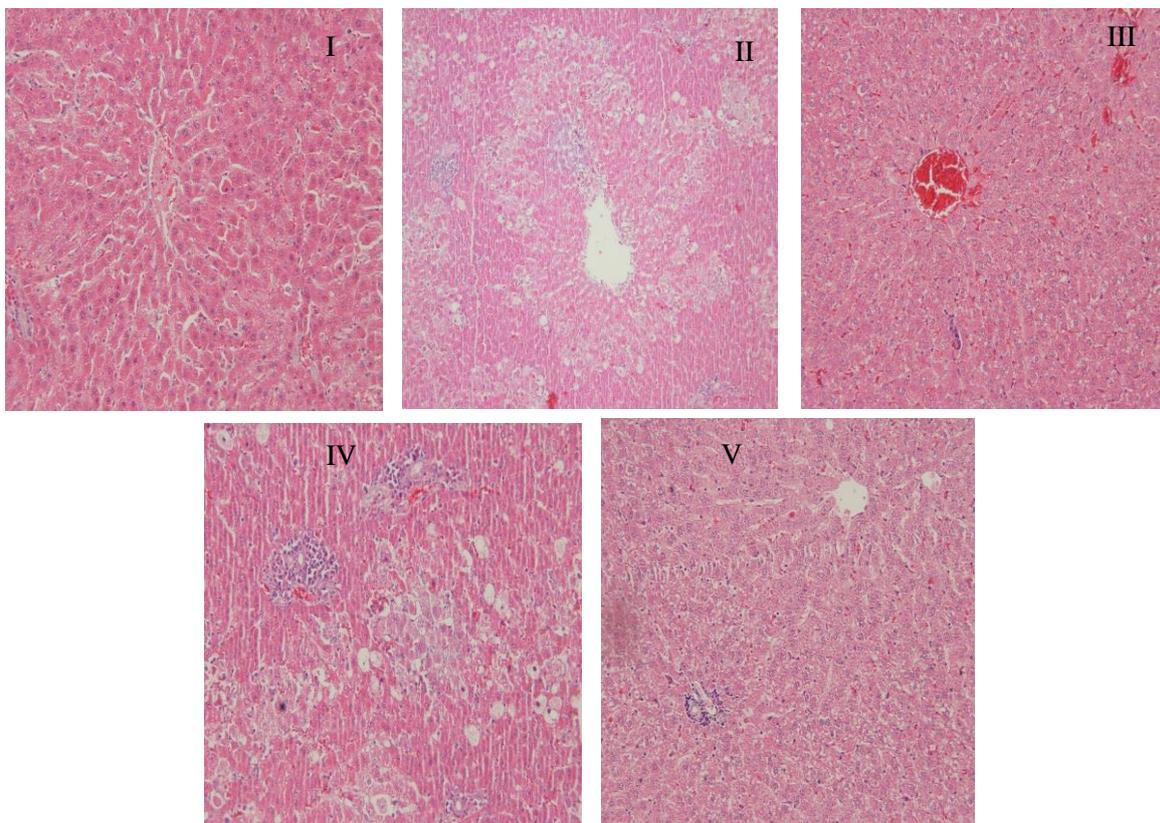
Hasil analisis dari organ hati berdasarkan pewarnaan dan pengamatan dibawah mikroskop

dapat dilihat bahwa pada kontrol normal organ hati tidak mengalami perubahan apapun sedangkan pada kelompok kontrol negatif terjadi inflamasi atau peradangan di sekitar pembuluh darah yang ditandai dengan infiltrasi sel radang baik pada limfosit maupun neutrofil di sekitar pembuluh darah hati yang sangat besar. Selain terjadi inflamasi yang sangat besar pada kontrol negatif juga terjadi perlemakan yang ditandai dengan perubahan pada sitoplasma hati dengan vakuola lemak yang berbatas jelas dan nekrosis yang ditandai dengan perubahan pada inti dan sitoplasma pada beberapa lokasi di parenkim hati di sekitar vena sentralis hati yang sangat besar.

Tabel 4. Hasil analisis uji histopatologi organ hati

Kelompok	Inflamasi	Perlemakan	Nekrosis
Normal	0	0	0
Kontrol negatif	+++	+++	+++
Kontrol positif	++	0	0
Gula aren dosis 200 mg/kg BB	++	+++	++
Gula aren dosis 400 mg/kg BB	++	0	0

Keterangan: tanda + menunjukkan adanya perubahan atau kerusakan. Semakin tinggi jumlah + menunjukkan tingkat perubahan atau kerusakan yang semakin besar.



Gambar 1. Efek gula aren terhadap perubahan histologikal dalam hati tikus yang diperlakukan dengan CCl_4 . Keterangan: I (kelompok normal), II (kelompok kontrol negatif), III (kelompok kontrol positif, hepamax, IV (gula aren dosis 200 mg/kg BB), V (gula aren dosis 400 mg/kg BB).

Hal ini sejalan dengan pemeriksaan atau identifikasi yang dilakukan terhadap serum darah tikus pada kelompok kontrol negatif dimana pada kelompok ini terjadi peningkatan kadar ALT, AST tertinggi yang mengidentifikasi bahwa telah terjadi kerusakan dan kelainan fungsi hati juga kadar kolesterol total yang tinggi.

Kelompok kontrol positif dan kelompok gula aren dosis 400 mg/kg BB menunjukkan keadaan hati yang sama. Dimana pada kedua kelompok ini juga terjadi inflamasi disekitar pembuluh darah namun tidak sebesar yang terjadi pada kontrol negatif. Pada kedua kelompok ini juga tidak menunjukkan terjadinya perlemakan dan nekrosis pada organ hati. Sedangkan pada kelompok gula aren dosis 200 mg/kg BB menunjukkan keadaan perlemakan pada hati yang sama dengan kontrol negatif namun inflamasi dan nekrosis yang terjadi pada kelompok dosis gula aren 200 mg/kg BB lebih kecil dari pada kelompok negatif yang berarti pada dosis ini tetap memberikan perlindungan pada organ hati walaupun hanya sedikit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa gula aren memiliki efek hepatoprotektif terhadap organ hati. Dosis gula aren 400 mg/kg BB menunjukkan efek terbaik dan menyerupai kontrol positif dalam hal melindungi organ hati dari kerusakan yang ditimbulkan oleh CCl₄.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, L., Rochana, A., Yulianti, A., Mushawwir, A. & Indrayani, N. 2014. Profile serum glutamate oxaloacetate transaminase (SGOT) and glutamate pyruvate transaminase (SGPT) level of broiler that was given noni juice (*Morinda citrifolia*) and palm sugar (*Arenga pinnata*). *Lucrari Stiintifice-Seria Zootenie*. 62, 101-105.
- Amin, N.A.M., Mustapha, W.A.W., Maskat, M.Y. & Ho, C.W. 2010. Antioxidative activities of palm sugar-like flavouring. *The Open Food Science Journal*. 4(1), 23-29.
- Choong, C.C., Anzian, A., Sapawi, C.W. & Hussin, A.S.M. 2016. Characterization of sugar from *Arenga pinnata* and *Saccharum officinarum* Sugars. *International Food Research Journal*. 23(4), 1642-1652.
- Esposito, F., Verde, V., & Fogliano, V. Moderate coffee consumption increases plasma glutathione but not homocysteine in healthy subjects. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 17(4), 595-601.
- Pelealu, K., Pontoh, J. & Suryanto, E. 2011. Pengaruh pemanasan terhadap aktivitas antioksidan dalam pembuatan gula aren. *Chemistry Progress*. 4(2), 60-65.
- Valls, V., Muniz, P. & Franch, P.C. 2004. The Protective effects of melanoidins in adriamycin-induced oxidative stress in rat isolated hepatocytes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84(13), 1701-1707.
- Wang, H.Y., Qian, H. & Yao, W.R. 2011. Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry*. 128(3), 573-584.