

EFEK METODE PENGOLAHAN DAN PENYIMPANAN TERHADAP KADAR SENYAWA FENOLIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

*Octavia Trisna Mahardani dan Lenny Yuanita**

*Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya*

Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

** Corresponding author, email: lenny.yuanita@hotmail.co.id*

Abstrak. Senyawa fenolik merupakan hasil metabolit sekunder tanaman dengan banyak manfaat seperti antioksidan, antiinflamasi, antidiabetik, imunoregulasi, antikanker, antimikrobia, dan sebagainya. Kelemahan dari senyawa ini adalah kestabilannya yang rendah terutama ketika proses pengolahan dan penyimpanan. Oleh karenanya diperlukan pengetahuan tentang efek pengolahan dan penyimpanan terhadap kadar senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan untuk mengetahui pengolahan dan penyimpanan yang tepat. Pengolahan umumnya dilakukan dengan perebusan, fermentasi, iradiasi UV C, penambahan enzim, pasteurisasi, dan pengeringan dengan oven. Dalam pengolahan dan penyimpanan, senyawa fenolik dapat mengalami peningkatan maupun penurunan bergantung suhu, lama, tingkat oksigen, paparan cahaya dan enzim yang digunakan. Hasilnya, proses pengolahan yang disarankan untuk mempertahankan senyawa fenolik adalah steam, vakum, sonikasi, blanching, pasteurisasi, freezing, fermentasi, dan perkecambahan. Untuk proses penyimpanan yang disarankan adalah penyimpanan dengan suhu dan kadar oksigen yang rendah serta terhindar dari cahaya. Stabilitas senyawa fenolik juga tidak selalu berbanding lurus dengan aktivitas antioksidannya, penurunan senyawa fenolik tidak selalu menghasilkan penurunan nilai aktivitas antioksidan. Hal tersebut karena adanya kemungkinan senyawa antioksidan lain yang ikut terdeteksi sebagai nilai aktivitas antioksidan.

Kata kunci : Senyawa fenolik, pengolahan, penyimpanan, aktivitas antioksidan

Abstract. Phenolic compounds are the result of plant secondary metabolites with many benefits such as antioxidants, anti-inflammatory, antidiabetic, immunoregulatory, anticancer, antimicrobial, and so on. The weakness of this compound is its low stability, especially during processing and storage. Therefore, it is necessary to know about the effects of processing and storage on the levels of phenolic compounds and antioxidant activity to determine the proper processing and storage. Processing is generally carried out by boiling, fermentation, UV C irradiation, adding enzymes, pasteurization, and oven drying. In processing and storage, phenolic compounds can increase or decrease depending on temperature, duration, oxygen levels, light exposure and the enzymes used. As a result, the recommended treatment processes for maintaining phenolic compounds are steam, vacuum, sonication, blanching, pasteurization, freezing, fermentation, and germination. The recommended storage process is storage with low temperature and oxygen levels and avoiding light. The stability of phenolic compounds is also not always directly proportional to their antioxidant activity, a decrease in phenolic compounds does not always result in a decrease the value of antioxidant activity. This is due to the possibility of other antioxidant compounds being detected as a value of antioxidant activity.

Key words: Phenolic compounds, processing, storage, antioxidant activity

PENDAHULUAN

Buah dan sayur segar mengandung banyak senyawa bioaktif tetapi dapat mengalami penurunan nutrisi setelah proses pemanenan. Pengolahan umumnya dilakukan untuk mempertahankan atau meningkatkan mutu dan

memperpanjang masa simpan. Proses pengolahan dapat tanpa atau menggunakan suhu tinggi. Menurut penelitian [1], kenaikan $\pm 10^{\circ}\text{C}$ menyebabkan reaksi enzimatis dan non enzimatis meningkat dua kali lipat. Pemanasan

menyebabkan denaturasi protein, menghancurkan vitamin, dan merusak senyawa bioaktif yang rentan suhu tinggi. Penelitian [2] menunjukkan pemanasan tanaman *hawthorn* menyebabkan penurunan senyawa fenolik dari 3124,96 menjadi 51,53 mgGAE/100 g DW. Meskipun demikian, proses pemanasan menjadikan olahan buah dan sayur lebih panjang masa simpannya karena kadar air berkurang sehingga produk tidak mudah busuk oleh mikroorganisme.

Selain pengolahan, proses penyimpanan juga mempengaruhi mutu produk. Penyimpanan dipengaruhi beberapa faktor seperti suhu, oksigen, cahaya dan lama proses penyimpanan [3]. Faktor tersebut berpengaruh terhadap kuantitas senyawa fenolik karena suhu tinggi dan cahaya serta adanya oksigen akan mengoksidasi senyawa fenolik akibat adanya ikatan tak jenuh dalam struktur molekulnya, sehingga semakin lama proses penyimpanannya, peluang reaksi akan semakin besar. Selain cahaya, oksigen, suhu dan lama penyimpanan, senyawa fenolik yang ada pada buah dan sayur berhubungan dengan terbentuknya reaksi pencoklatan (*browning*). Pembentukan warna coklat ini umumnya tidak diinginkan karena menunjukkan berkurangnya senyawa fenolik pada buah yang berubah menjadi kuinon.

Senyawa fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan dengan ciri memiliki cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil. Senyawa ini berguna sebagai antioksidan, anti kanker, antiinflamasi, antimikrobia, melindungi dari penyakit jantung, dan lain sebagainya [4]. Dalam peranannya sebagai antioksidan, senyawa fenolik mampu menurunkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) karena memiliki banyak gugus hidroksil (polifenol) dimana gugus hidroksil (-OH) tersebut akan bereaksi sebagai antioksidan dengan memutus rantai radikal bebas.

Dalam industri makanan, penelitian tentang stabilitas bahan pangan dilakukan untuk mempelajari degradasi dan dampak relatifnya pada kualitas bahan pangan. Degradasi senyawa fenolik terjadi selama pemrosesan serta penyimpanan bahan yang mengalami pengeringan dan ekstraksi [5]. Jika stabilitas bahan pangan pada kondisi lingkungan beragam diketahui, maka akan memudahkan untuk menentukan kondisi penyimpanan yang tepat agar kualitasnya dapat dipertahankan secara optimal. Review ini akan difokuskan pada pembahasan efek proses

pengolahan dan penyimpanan terhadap kadar senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan. Beberapa hal yang menjadi fokus utama adalah senyawa fenolik, proses pengolahan, proses penyimpanan, dan hubungan senyawa fenolik sebagai antioksidan

SENYAWA FENOLIK

Senyawa fenolik merupakan hasil metabolit sekunder dari tanaman dengan kombinasi antara mono dan polisakarida yang berikatan dengan satu atau lebih gugus fenolik, atau sebagai turunan ester atau metil ester [6]. Senyawa ini merupakan senyawa aromatik dengan strukturnya diturunkan dari benzena sehingga memiliki cincin aromatik serta adanya satu atau lebih gugus hidroksil (OH). Senyawa fenolik cenderung larut dalam air, umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida dan berada dalam vakuola sel. Keragaman struktur senyawa fenolik yang telah diidentifikasi saat ini diketahui mencapai lebih dari 8.000 struktur.

Secara spesifik senyawa fenolik terbagi menjadi banyak klasifikasi, namun umumnya bisa diwakili oleh 3 kelas yakni (a) mengandung cincin benzena tunggal (C_6) seperti katekol, hidrokuinon, floroglusinol, dan arbutin; (b) mengandung cincin benzena dengan karbon terlampir (C_6-C_n) seperti asam salisilat, asam galat, asam siringat, asam vanilin, asam klorogenat, asam kafein, kumarin, isokumarin, naptokuinon ; (c) mengandung kompleks benzena ($C_6C_nC_6$) seperti xantonoid, stilbenoid, antrakuinon, tanin, kuersetin, flavonoid [7].

Gugus-gugus OH pada struktur senyawa fenolik menyumbangkan atom H sebagai donor radikal bebas sehingga umumnya menjadikan senyawa fenolik memiliki berbagai manfaat diantaranya: antioksidan, antiinflamasi, antidiabetik, imunoregulasi, antikanker, antimikrobia, melindungi dari penyakit jantung dan sebagainya [4][8]. Menurut penelitian [9], ekstrak *Pistacia atlantica* mengandung total fenolik sebesar 269 mgGAE/g dengan kemampuan menghambat proliferasi sel kanker AGS (karsinoma lambung manusia) dengan nilai IC50 sebesar $\mu\text{g} / \text{mL}$ / (CI95%: 339,1-430,9), dan sel kanker HeLa (adenokarsinoma) dengan nilai IC50 sebesar $332,3 \mu\text{g} / \text{mL}$ (CI95%: 293,8-375,9). Pada penelitian [10] senyawa fenolik berupa kuersetin, asam kafein, asam kumarin, asam tanin dan katekol efektif menghambat

pertumbuhan mikroorganisme berupa *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*.

EFEK PENGOLAHAN TERHADAP KADAR SENYAWA FENOLIK

Ada beberapa tahap penanganan produk hortikultura yakni panen, perlakuan pasca panen, dan penyimpanan pasca panen. Selain proses panen, tahap pasca panen merupakan tahap yang sangat menentukan kualitas produk karena di tahap inilah produk panen ditangani sebelum sampai ke konsumen. Produk hasil panen ada yang langsung didistribusikan secara segar adapula yang masuk proses pengolahan untuk dijadikan olahan baru salah satunya untuk meningkatkan mutu dan mempertahankan kualitas dalam jangka waktu yang lebih lama. Umumnya pengolahan yang dilakukan adalah dengan pemanasan, tanpa pemanasan, pendinginan, dan perusakan mekanik. Secara spesifik proses yang bisa digunakan adalah pasteurisasi, pengeringan oven, vakum, *blanching*, pasteurisasi, *freezing*, fermentasi, dan perkecambahan. Metode pemrosesan yang lebih baik untuk mendapatkan kadar asam fenolik yang tinggi antara lain pasteurisasi, pengalengan dan pembekuan jika dibandingkan dengan penggorengan, pemanggangan, perebusan dan pengukusan. Penyimpanan dengan suhu rendah menunjukkan kadar senyawa fenolik yang lebih baik dibandingkan penyimpanan suhu ruang.

Perebusan

Perebusan merupakan proses pengolahan sederhana yang banyak dilakukan. Perebusan ini dilakukan untuk meningkatkan rasa, warna, hingga aroma sehingga membuat bahan cocok dikonsumsi. Penggunaan suhu tinggi dengan waktu yang relatif lama merubah sifat fisikokimia, menjadi perhatian para peneliti karena dapat merusak senyawa dalam bahan terutama fenolik yang rentan suhu tinggi. Panas dapat menyebabkan penguapan beberapa senyawa fenolik hingga dekomposisi likopen, vitamin C dan A. Penelitian [11] menunjukkan bahwa merebus tomat berpengaruh dalam penurunan asam askorbat, total fenolik dan aktivitas antioksidannya.

Penelitian [12] menghasilkan data berupa kenaikan total fenolik ketika tomat direbus pada suhu 98°C selama 10 menit (11,59 ke 18,82 mgGAE/g), namun menurun secara signifikan saat memasuki menit ke 20 dan 30 (18,82 ke 9,36

mgGAE/g). Kenaikan total fenol saat 10 menit pertama disebabkan senyawa fenolik dari sel yang berbeda mengalami lisis sehingga konsentrasinya dapat meningkat. Berbeda saat menit ke 20 dan 30 mengalami penurunan karena dekomposisi yang terjadi. Hal yang hampir serupa terjadi pada sayuran berupa bawang putih, daun bawang, terong dan lada yang telah direbus pada suhu 100°C ±20 menit menghasilkan penurunan total fenolik yang signifikan, namun *zucchini* meningkat secara signifikan [13]. Hal tersebut menunjukkan perebusan tidak selalu menurunkan kadar senyawa fenolik dalam bahan, namun ada juga yang meningkatkan.

Meski demikian, lisis sel saat perebusan juga dapat terjadi pada proses ekstraksi bahan yang tidak mengalami proses perebusan, sehingga hasil total fenol yang didapatkan juga akan meningkat. Perbedaannya terletak pada bahan yang melalui perlakuan perebusan 10 menit, memiliki kemungkinan lisis sel yang tidak semaksimal bahan yang langsung diekstraksi (tanpa perebusan) karena bentuk bahan yang diekstraksi umumnya telah dihancurkan dahulu sehingga luas permukaannya lebih besar dibanding yang melalui perebusan. Perbedaan lain juga ada pada larutan yang digunakan, umumnya perebusan hanya menggunakan air sedangkan ekstraksi menggunakan larutan yang memiliki kepolaran sama dengan senyawa fenolik sehingga hasilnya akan lebih optimal, sedangkan perebusan dengan air memiliki kemungkinan senyawa fenolik justru ikut larut dan terbuang bersama air rebusan.

Kenaikan dan penurunan kadar senyawa fenolik saat proses perebusan bergantung pada kestabilan jenis senyawa fenolik yang ada di dalamnya. Seperti diketahui bahwa senyawa fenolik umumnya tidak tahan pada suhu tinggi sehingga dapat mengalami degradasi termal dan polimerisasi [14]. Suhu panas saat perebusan juga dapat menghidrolisis senyawa polifenol menjadi senyawa fenolik yang lebih sederhana serta waktu perebusan juga berpengaruh, karena dalam waktu yang tidak lama, kemungkinan sel-sel dalam bahan yang mengandung senyawa fenolik justru akan mengalami kerusakan dan senyawa fenolik di dalamnya dapat keluar sehingga kandungan senyawa fenoliknya dapat meningkat. Meskipun demikian, konsumsi bahan tanpa melalui pemanasan akan lebih dianjurkan karena kadar fenolnya lebih tinggi dibanding bahan yang dimasak. Senyawa fenolik pada bahan yang

dimasak memiliki kemungkinan larut dalam cairan pengolah, teroksidasi, dan terdegradasi [15].

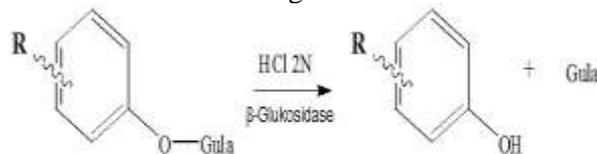
Namun karena adanya bahan makanan yang memerlukan proses masak untuk meningkatkan rasa dan tekstur, perebusan dalam waktu singkat dianjurkan untuk buah dan sayur yang rentan kerusakan. Metode tersebut dinamakan *blanching*. Menurut [16] *blanching* sayuran dengan hasil terbaik dilakukan pada suhu 90° selama 5 menit, setelah dilakukan proses penghalusan bahan menggunakan blender yang sebelumnya telah diblanching dan dijemur agar kering lalu diekstraksi dengan metanol. Hal tersebut karena hasil pengujian dengan metode *Folin Ciocalteu* menunjukkan peningkatan senyawa fenolik yang signifikan. Adanya kenaikan senyawa fenolik yang didapatkan setelah *blanching* dikarenakan adanya hidrolisis pada senyawa polifenol menjadi senyawa fenol yang lebih sederhana sehingga terdeteksi saat pengujian senyawa fenolik dan jumlahnya menjadi meningkat.

Meski demikian, ada juga penelitian yang menyatakan bahwa *blanching* dapat menurunkan senyawa fenolik secara drastis seperti penelitian [17]. Menurut penelitian tersebut, *blanching* selama 10 menit dalam suhu 100°C dapat menurunkan kadar senyawa fenolik tergantung kelarutan dan stabilitas senyawa fenolik dalam air mendidih.

Fermentasi

Fermentasi umum dilakukan untuk meningkatkan rasa, tekstur dan aroma. Secara tidak langsung, proses ini diketahui dapat meningkatkan nilai gizi suatu produk. Peningkatan tersebut sebagian besar disebabkan oleh kerusakan dinding sel suatu bahan dan aktivitas enzim selanjutnya yang mengarah pada pembebasan senyawa-senyawa terikat seperti fenol. [18] melaporkan bahwa senyawa bioaktif katekin, asam galat dan kuersetin meningkat setelah fermentasi pada sebuah penelitian tentang efek fermentasi biji-bijian-sorgum. Peningkatan tersebut dijelaskan karena adanya pelepasan senyawa bioaktif setelah fermentasi dengan *strain Lactobacillus*. Peningkatan total senyawa fenolik juga terjadi selama fermentasi biji-bijian-jagung [19], hal tersebut dikarenakan aktivitas β -glukosidase dengan asam yang mampu menghidrolisis glikosida fenolik untuk menghasilkan gula dan aglikon (fenolat bebas)

yang hasilnya bisa dibuktikan dengan peningkatan kadar fenolik tersebut. Berikut contoh reaksi hidrolisis glikosida fenolik:



Gambar 1. Reaksi hidrolisis glikosida fenolik menghasilkan fenolat bebas dan gula

Adanya bantuan mikroorganisme dalam proses fermentasi juga memberikan alasan yang kuat dalam kenaikan fenolik. Aktivitas mikroorganisme tersebut selama fermentasi dapat menginduksi kerusakan struktur dinding sel sehingga berbagai senyawa bioaktif didalamnya dapat keluar [20]. Peran protease, amilase, xilanase, dan enzim reduktase lain yang berasal dari mikroorganisme fermentasi juga berkontribusi terhadap modifikasi butiran dan distorsi ikatan kimia yang mengakibatkan pelepasan fenolat dikaitkan dengan reaksi dekarboksilasi, hidrolisis dan esterifikasi yang dapat terjadi [21]. Contohnya enzim vinyl fenol redutase yang akan membentuk 4-vinil fenol akibat dekarboksilasi asam sinamat (asam ferulat dan asam kaumarat).

Beberapa penelitian lain juga telah dilakukan untuk mengetahui efek fermentasi terhadap senyawa fenolik diantaranya [5] dengan hasil penelitian peningkatan total senyawa fenolik setelah fermentasi dikaitkan dengan aktivitas β -glukosidase yang mampu menghidrolisis fukosida fenolik untuk melepaskan fenolik bebas; [20] yang menyatakan fermentasi meningkatkan kadar senyawa fenolik terlarut dan terikat. Peningkatan fenolik terlarut disebabkan oleh pengasaman, produksi enzim hidrolitik oleh BAL yang merusak struktur dinding utama sel; [22] menyatakan total senyawa fenolik dari fermentasi gandum, beras merah, jagung dan oat meningkat kecuali jagung. Perbedaan pada jagung hasil fermentasi *Rhizopus oligisporus* ini dikaitkan dengan spesifitas *strain* atau spesies bakteri juga komposisi sampel.

Dari penelitian-penelitian yang telah ada dapat disimpulkan bahwa fermentasi dapat meningkatkan senyawa fenolik dalam suatu produk. Hal itu juga dapat dikaitkan dengan proses yang tidak melibatkan suhu tinggi sehingga senyawa fenolik yang rentan suhu tinggi menjadi lebih stabil dalam pengolahannya. Selain itu fermentasi yang menggunakan waktu cukup

lama dalam prosesnya juga menyebabkan kesempatan interaksi antar senyawa menjadi lebih tinggi sehingga memungkinkan pembentukan senyawa fenolik baru dari hasil pecahan senyawa makromolekul dalam suatu bahan.

Iradiasi UV C

Sejumlah pengolahan lain pada hasil panen dilakukan untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang meningkat, antara lain iradiasi sinar UV. Iradiasi sinar UV C telah diuji sebagai perlakuan pascapanen untuk menunda pertumbuhan jamur, pembusukan dan menunda pematangan tanpa menggunakan suhu tinggi sehingga meningkatkan total senyawa fenolik pada buah tomat [23]. [24] berhipotesis bahwa perlakuan iradiasi UV C dapat mempengaruhi metabolisme sekunder dan meningkatkan sintesis fitokimia dengan aktivitas *neutraceutical* pada produk segar. [25][26] menyatakan iradiasi UV C meningkatkan total senyawa fenolik serta kapasitas antioksidan dan cenderung meningkatkan umur simpan produk hortikultura seperti mangga dan nanas.

Iradiasi UV C dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan mencegah dekomposisi bahan akibat jamur. Selain itu, iradiasi UV C juga dapat menyebabkan stres oksidatif pada jaringan tanaman sehingga dapat meningkatkan respon fisiologi seperti sintesis senyawa fenolik, antioksidan dan senyawa metabolit sekunder lain [27]. [28] menyatakan bahwa penerapan iradiasi UV C pada buah dan sayur meningkatkan senyawa fenolik di dalamnya. Peningkatan senyawa fenolik akibat iradiasi UV C ini disebabkan sinar UV C mampu merusak dinding sel dalam suatu bahan sehingga senyawa fenolik di dalamnya dapat keluar, selain itu proses ini tidak menggunakan bahan tambahan lain sehingga kontaminasi senyawa fenolik dengan senyawa lain yang dapat merubah strukturnya bisa dihindari. Penelitian [29] menyebutkan bahwa perlakuan iradiasi UV C dengan dosis 10, 20, 30 kJ/m² pada daun roket yang disimpan pada suhu 5°C dalam kondisi tanpa cahaya dapat menghambat degradasi kandungan total senyawa fenolik dibuktikan dengan penurunan yang tidak signifikan dari kontrol yang berkisar dari 2.0 hingga 2.2 mg CAEq/g FW. Begitu pula penelitian [30] yang menyatakan iradiasi UV C cenderung meningkatkan kadar senyawa fenolik dalam satuan µg g⁻¹ FW berupa asam galat (12.98±0.37

ke 14.04±0.37), katekin (1.83±0.10 ke 1.94±0.27), asam klorogenat (8.44±0.36 ke 9.23±0.51) dan asam kafein (0.24±0.02 ke 0.27±0.01) dari buah tomat.

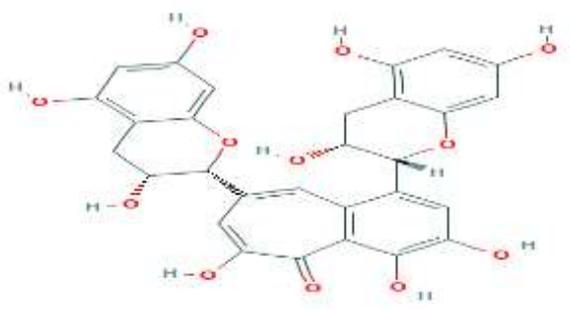
Hasil berbeda berupa penurunan senyawa fenolik pada penelitian [30] justru nampak pada senyawa asam siringat (4.28±0.19 ke 3.85±0.29), asam kumarin (2.69±0.09 ke 2.36±0.08), dan kuersetin (0.72±0.02 ke 0.59±0.04). Hal tersebut bisa terjadi karena tidak semua jenis senyawa fenolik mampu menerima paparan sinar UV C. Penurunan kadar senyawa fenolik akibat iradiasi UV C ini bisa terjadi karena semakin tinggi dosis UV C yang diberikan serta semakin lama waktu iradiasinya, menyebabkan senyawa fenolik rentan cahaya yang terpapar langsung akan terdegradasi karna reaksi fisi hoomolitik. Meskipun demikian dibandingkan dengan iradiasi menggunakan UV B, hasil iradiasi dengan UV C pada 3.6 kJ/m² sampel anggur mendapatkan hasil lebih baik untuk peningkatan senyawa fenolik tetapi dosis dan waktu yang digunakan harus tepat. Hasilnya berupa senyawa asam klorogenat (UV B: 5.82±0.76 ; UV C: 11.98±0.30), asam galat (UV B: 11.81±0.91 ; UV C: 16.33±0.38), kuersetin (UV B: 93.02±9.21 ; UV C: 127.27±8.98), dan rutin (UV B: 151.83±10.71 ; UV C: 207.69±16.06) [31].

Penambahan Enzim

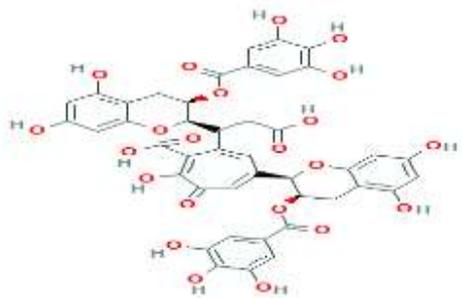
Proses pengolahan lain yang tidak menggunakan suhu tinggi adalah pemrosesan dengan enzim. Buah-buahan hasil panen banyak dikomersilkan sebagai produk jus. [32] mengatakan bahwa proses pembuatan jus beri secara konvensional, senyawa fenolik diekstraksi dari kulit menjadi jus dengan bantuan enzim maserasi seperti pektinase, selulase, hemiselulase dan cutinase dalam berbagai rasio. Enzim maserasi dapat membantu mendegradasi sel sehingga memudahkan proses hidrolisis beberapa senyawa fenolik di dalamnya menjadi aglikon yang sesuai tergantung profil aktivitas dari enzim tersebut. Enzim akan menghasilkan kandungan senyawa fenolik yang tinggi dalam jus [33]. Pada penelitian [34], pelepasan senyawa fenolik dari bahan menjadi lebih signifikan mencapai 2 kali lipat pada proses pembuatan jus *blackcurrent* dengan bantuan enzim pektinase 714L dari *Aspergillus* sp dibandingkan proses tanpa enzim. Hal tersebut dikarenakan jus *blackcurrent* yang dihasilkan berkorelasi kuat dengan asam hidrosinamik sehingga derivatnya yakni asam

kafein, asam p -kumarin dan asam ferulin dapat dihasilkan lebih banyak.

Dalam degradasi oksidatif senyawa fenolik, terdapat dua enzim yang berperan didalamnya, yakni polifenol oksidase (PPO) dan peroksidase (POD) karena mengarah pada pembentukan melanin atau polimer coklat. Pembuatan teh merupakan contoh aktivitas enzim oksidatif dapat meningkatkan warna coklat kehitaman karena polifenol mengalami oksidasi oleh enzim PPO menjadi senyawa ortokuinon dan terpolimerisasi membentuk theflavin dan thearubigin. PPO bertindak sebagai promotor POD akibat pembentukan hidrogen peroksida selama oksidasi senyawa fenolik menjadi kuinon. Hal ini akan menyebabkan penurunan senyawa fenolik.



Gambar 2. Struktur Theflavin



Gambar 3. Struktur Thearubigin

Penelitian [35] tentang pengaruh penambahan enzim pektinase dalam proses pembuatan jus *Strychnos cocculoides*. Hasilnya enzim pektinase memberikan sedikit penurunan kandungan asam kafeoilkuinat (namun tidak signifikan), tetapi justru meningkatkan asam kafein akibat hidrolisis asam kafeoilkuinat. Peningkatan dilihat dari nilai tanpa penambahan enzim sebesar $<10 \mu\text{g/g DW}$ dan setelah penambahan enzim menjadi $> 200 \mu\text{g/g DW}$. Kebanyakan enzim mampu menghidrolisis senyawa makromolekul hingga supramolekul lalu

terpecah menjadi senyawa yang lebih sederhana dan ada yang membentuk senyawa fenolik.

Pasteurisasi

Pasteurisasi melibatkan suhu tinggi dan waktu bervariasi untuk membunuh bakteri perusak makanan seperti *Mycobacterium tuberculosis*, *Coxiella burnetti*; mengurangi aktivitas enzimatik yang merusak karakteristik sensorik; menghancurkan ragi, jamur dan mikroorganisme lain sehingga memperpanjang umur simpan. 3 metode pasteurisasi yang umum dilakukan yakni LTLT (*Low Temperature, Long Time*) dengan suhu $\pm 61^\circ\text{C}$ selama 30 menit; HTST (*High Temperature Short Time*) dengan suhu $\pm 71,7-75^\circ\text{C}$ selama 15 detik; UHT (*Ultra High Temperature*) dengan pemanasan pada suhu $\pm 131^\circ\text{C}$ selama 0,5 detik.

Pasteurisasi merupakan metode yang menyebabkan kehilangan senyawa fenolik paling tinggi, terutama dengan peningkatan suhu dan waktu. Pada jus yang dipasteurisasi dengan suhu yang lebih tinggi, menunjukkan kenaikan tingkat pencoklatan ditunjukkan oleh peningkatan nilai NEB (*Non Enzymatic Browning*) dari 0,045 (90°C) ke 0,047 (95°C) karena adanya reaksi Maillard antara gula hasil hidrolisis glikosida fenolik dengan asam amino yang ada [36].

Penelitian [37] menghasilkan pasteurisasi pada suhu $145 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 8 detik menyebabkan penurunan asam ferulin dan p -kumarin pada sampel biji gandum. Asam ferulin mengalami penurunan setelah melalui proses pasteurisasi yakni dari semula 448 turun ke $343 \mu\text{g/g}$, sedangkan p -kumarin mengalami penurunan dari 109 ke $90 \mu\text{g/g}$. Hal tersebut dikarenakan pemanasan mendorong dekarboksilasi asam ferulin dan p -kumarin yang menghasilkan senyawa volatil 4-vinylguaiacol dan 4-vinylphenol yang masing-masing menyebabkan pengurangan kandungan asam fenolik [38].

Hasil berbeda didapat [39] yang menunjukkan bahwa pasteurisasi pada suhu $95-97^\circ\text{C}$ selama 30 detik pada jus *blackcurrant* menyebabkan peningkatan senyawa fenolik berupa asam hidroksibenzoat terutama protokatekuat, asam kafein, asam ferulin dan asam kumarin. Hal ini disebabkan pemanasan yang meningkatkan pelepasan senyawa antosianin melalui hidrolisis beberapa polimer di fraksi kulit karena asam hidroksibenzoat merupakan produk degradasi antosianin. Selain itu, [40] juga menyatakan bahwa pasteurisasi jus *cranberry*

meningkatkan kandungan myricetin dan kuersetin. Pasteurisasi 90°C selama 60 detik pada jus strawberry juga tidak mengubah kuersetin yang dimiliki [41], serta pada jus anggur justru meningkatkan kadar katekin dan piroisianidin [42].

Secara umum, peningkatan dan penurunan kadar senyawa fenolik suatu bahan akibat pasteurisasi disebabkan beberapa hal namun sangat tergantung pada suhu dan waktu pasteurisasi. Pemilihan suhu tinggi akan efektif membunuh mikroorganisme namun merusak senyawa fenolik dalam bahan, tetapi suhu yang tidak cukup tinggi menjadi tidak efektif dalam membunuh mikroorganisme namun kerusakan senyawa fenolik dapat dihindari. Meski demikian, suhu yang tidak cukup tinggi akan kurang efektif dalam menghancurkan dinding sel bahan sehingga senyawa fenolik yang ada di dalamnya tidak dapat keluar. Oleh karenanya penentuan suhu terbaik biasanya diimbangi dengan waktu pasteurisasi. Waktu yang singkat biasanya digunakan untuk penggunaan suhu tinggi agar meminimalisir kerusakan senyawa fenolik, dan waktu yang lebih lama digunakan untuk penggunaan suhu lebih rendah agar proses terjadi lebih optimal.

Pengeringan dengan Oven

Pengolahan dengan suhu panas berupa pengeringan mampu mengurangi kadar air dalam bahan sehingga menurunkan resiko kerusakan bahan akibat mikroorganisme. Beberapa metode pengeringan ada berbagai macam seperti pengeringan dengan sinar matahari, pengeringan dalam suhu ruang, dan pengeringan dengan oven. Pada pengeringan dengan sinar matahari dan suhu ruang kelebihannya lebih efisien biaya namun suhu yang tidak dapat dikontrol dan kemungkinan kontaminasi merupakan kekurangan metode ini. Oleh karenanya dilakukan pengeringan dengan oven agar suhu bisa dikendalikan dan kemungkinan kontaminasi bisa diminimalisir.

Banyak penelitian menunjukkan bahwa pengeringan oven dapat menurunkan senyawa-senyawa fenolik yang ada dalam bahan. Beberapa diantaranya adalah [43] yang mendapatkan hasil bahwa setelah pengeringan oven pada beras hitam dengan suhu diatas 60°C terjadi penurunan kandungan fenolik bebas berupa asam vanilat, asam ferulin dan asam ρ -kumarin. Hal tersebut dikarenakan suhu dapat mempengaruhi pelepasan fenolat terikat matriks, polimerisasi

atau oksidasi senyawa fenolik, serta degradasi atau transformasi termal menjadi senyawa fenolik yang lebih sederhana. Selama proses pemanasan, senyawa fenolik juga dapat berinteraksi dengan komponen struktural seperti protein menjadi kompleks lain [44]. [45] melaporkan bahwa asam kafein dan kumarin memiliki interaksi lebih tinggi dengan protein karena adanya gugus o-dihidroksi, namun umumnya yang mungkin terjadi pada pengeringan diatas 60°C adalah degradasi senyawa fenolik. Hasil serupa didapatkan [46] dimana pengeringan mint menggunakan oven menunjukkan jumlah senyawa fenolik terendah ($12,0 \pm 0,5$ mg/g) dibandingkan pengeringan beku ($34,6 \pm 1,9$ mg/g), dan pengeringan *microwave* ($18,9 \pm 0,2$ mg/g).

[47] melaporkan adanya peningkatan asam galat, 3,4-dihidroksibenzoat, trans-sinamat, asam ρ -kumarin dan kuersetin pada pengeringan kiwi dengan oven. Hal itu dikaitkan dengan konsentrasi senyawa akibat penguapan kelembaban sehingga senyawa fenolik tertahan dalam bahan dan kandungannya meningkat. Pernyataan ini juga didukung penelitian [48] yang mengamati bahwa pengeringan oven meningkatkan asam klorogenat, katekin, epikatekin, kaempferol-3-O-glukosida, rutin, kuersetin-3-O-glukosida dalam buah kering dibanding buah segar. Peningkatan yang terjadi karena kerusakan dinding sel oleh panas atau efek gelombang makro yang memudahkan pelepasan dan ekstraksi senyawa fenolik selama proses rehidrasi [49].

Selain keenam proses yang telah dijelaskan di atas, masih ada proses pengolahan lain yang dapat mempengaruhi stabilitas senyawa fenolik. Contohnya penelitian [50] yang melakukan pengolahan dengan *foam mat drying* pada jus jambolan menghasilkan data berupa flavonol tidak mengalami banyak perubahan baik oleh pengaruh suhu maupun waktu, hanya mengalami sedikit penurunan saat disimpan pada hari ke 120 (4%) dikarenakan reaksi oksidasi dan heterogenitas struktur bahan kering serta polimerisasi struktur monomer karna penyerapan air selama penyimpanan.

EFEK PENYIMPANAN TERHADAP KADAR SENYAWA FENOLIK

Setelah dipanen dan melewati proses pengolahan, umumnya bahan akan melalui proses penyimpanan sampai waktu tertentu. Pemilihan

penyimpanan termasuk hal penting untuk mempertahankan kualitas bahan. Hal tersebut dikarenakan banyak faktor yang berpengaruh dalam proses penyimpanan seperti kondisi oksigen, cahaya, suhu, wadah, dan lama penyimpanan.

Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan

Penyimpanan secara umum dapat dilakukan di berbagai suhu namun akan memberikan hasil berbeda tergantung senyawa yang disimpan. Penelitian [51] menunjukkan bahwa penyimpanan senyawa yang mudah berubah akibat oksidasi dapat dicegah dengan penyimpanan pada suhu dingin (5°C) karena dapat menurunkan setengah dari kecepatan reaksi metabolisme. Buah dan sayur segar juga dapat mengalami pembusukan oleh bakteri *Erwinia carotovora* dan fungi *Rhizopus nigricans*. Salah satu peran suhu rendah ini mampu menghambat kerja mikroorganisme seperti bakteri *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas fluorescens*, *Clostridium* dan *Lactobacillus spp* yang aktivitasnya dipengaruhi oleh suhu serta mencegah pertumbuhan ragi yang memiliki suhu optimum pertumbuhan $28\text{-}38^{\circ}\text{C}$ dan jamur dengan suhu optimum pertumbuhan $20\text{-}35^{\circ}\text{C}$. Kegunaan suhu rendah lain yakni menginaktivasi enzim-enzim dalam bahan seperti enzim polifenol oksidase (PPO) yang berperan dalam pembentukan kuinon dengan senyawa fenolik sebagai substratnya. Reaksi ini rentan terjadi pada buah dan sayur terutama jika sudah terjadi kerusakan mekanik seperti goresan, pengupasan, pemotongan, hingga penghancuran bahan [52].

Penyimpanan suhu rendah tergantung pada derajat suhu rendah yang digunakan seperti suhu rendah lemari pendingin ($\pm 4^{\circ}\text{C}$), dan suhu freezer (mulai $\pm 18^{\circ}\text{C}$). Pada suhu 4°C , penelitian [53] menyatakan bahwa senyawa fenolik berupa asam klorogenat, asam galat, asam sinapat, dan asam elagik dari kentang yang disimpan selama 30 dan 60 hari secara stabil mengalami kenaikan, sedangkan pada [54] asam galat, kuersetin-3-rutinol-7-rhamnosa, piroksianidin A2, asam ferulin dan rutin dari jus leci yang disimpan selama 7 hari tidak mengalami perubahan yang signifikan. Begitu pula untuk penelitian [3] dan [55].

Pada suhu freezer (-22°C) juga didapati hasil penelitian [56] untuk senyawa fenolik dari *Raspberry* dan *Blackberry* berupa kenaikan asam

ferulin, asam kafein, *p*-asam kumarin pada penyimpanan 6 bulan. Kenaikan itu dikarenakan senyawa tersebut memiliki stabilitas yang lebih baik dibanding senyawa fenol lain; pelepasan yang lebih baik dari matriks; adanya degradasi struktur fenolik kompleks seperti tanin dan flavonoid menjadi asam ferulin; beberapa senyawa fenol sederhana meningkat akibat degradasi struktur supramolekul yang mengandung gugus fenolik.

[57] pada penelitiannya menyatakan penyimpanan pada suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ memberi dampak penurunan senyawa fenolik, suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$ memberi efek kestabilan senyawa fenolik, dan suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ memberi efek peningkatan senyawa fenolik. Pada suhu penyimpanan tinggi, kemungkinan senyawa fenolik rusak menjadi tinggi karena peluang terjadinya oksidasi lebih besar, selain itu senyawa fenolik dapat terdegradasi dan terpolimerisasi menjadi senyawa kompleks dengan polimer lain [58]. Pernyataan tersebut didukung penelitian [37] yang menyatakan bahwa penyimpanan biji gandum pada suhu 40°C mengurangi konsentrasi asam ferulin dan *p*-kumarin. Lebih jelasnya dapat dibandingkan antara suhu rendah dan suhu tinggi pada penelitian [55] dimana total fenol dari bubuk tongkol jagung ungu mengalami penurunan yang signifikan saat disimpan pada suhu 30°C dibandingkan penyimpanan 4°C . Begitu pula penelitian [59][50] yang membandingkan penyimpanan suhu rendah dengan tinggi dan mendapatkan hasil penyimpanan senyawa fenolik lebih stabil pada suhu rendah.

Pada umumnya, suhu dan lama penyimpanan dapat menyebabkan kenaikan atau penurunan kadar senyawa fenolik karena beberapa hal. Contohnya kenaikan disebabkan degradasi senyawa kompleks menjadi senyawa fenolik sederhana, lepasnya senyawa fenolik dari dinding sel bahan, polimerisasi senyawa-senyawa lain menjadi senyawa fenolik. Untuk penurunan disebabkan rusaknya senyawa fenolik akibat suhu tinggi seperti terdegradasinya senyawa fenolik menjadi molekul-molekul lebih kecil.

Pengaruh Paparan Cahaya dan Tingkat Oksigen Penyimpanan

Selain suhu, cahaya merupakan faktor lain yang mempengaruhi stabilitas senyawa fenolik saat proses penyimpanan. [60] melakukan pengujian senyawa fenolik yakni *hydroxychavicol*, *eugenol* dan *isoeugenol* pada ekstrak sirih dan [3] pada ekstrak *strawberry*,

blackberry dan *raspberry* dengan cahaya sebagai variabel manipulasi. Hasilnya, seluruh sampel yang terkena paparan cahaya memiliki hasil total fenol lebih rendah dibanding sampel yang tidak terpapar cahaya.

Cahaya dapat menurunkan kualitas antioksidan karena komponen utama cahaya adalah UV (Ultra Violet) yang memiliki sifat oksidatif bereaksi dengan oksigen membentuk fotooksidasi atau reaksi oksidasi yang diinduksi cahaya. Radiasi sinar UV menyebabkan reaksi fisi homolitik senyawa hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi spesies radikal bebas hidroksil ($OH\bullet$) yang sangat reaktif. Selain itu radiasi sinar UV juga dapat memicu terbentuknya ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) melalui perubahan struktur elektronik molekul oksigen yang ada di sekitar dari posisi triplet menjadi singlet. O_2 pada posisi singlet memiliki energi yang lebih tinggi dibanding posisi triplet sehingga sifatnya menjadi tidak stabil dan menjadi radikal. Senyawa radikal yang terbentuk inilah yang kemudian akan mengoksidasi senyawa fenolik. Kendati demikian, ada sedikit perbedaan dengan iradiasi UV C, karena proses iradiasi UV C memang sengaja dilakukan dengan dosis, waktu dan tujuan tertentu sehingga dampak negatifnya dapat dikontrol.

Pembentukan ROS paling banyak disebabkan sinar UV. Paparan UV berarti terdapat transmisi foton energik melalui lapisan matriks dan diabsorpsi molekul sel kromofor atau *photosensitizer* sehingga timbul efek biologik. UV bereaksi dengan *photosensitizer* atau kromofor pada kulit, seperti sitokrom, riboflavin, heme dan porfirin. Kromofor menyerap energi dari panjang gelombang UV. Energi dilepaskan sehingga stabil dengan mentransfer molekul oksigen dan terbentuk *singlet oxygen* dan ROS lain.

Terbentuknya ROS tidak lepas dari adanya oksigen di sekitar. Tingkat oksigen pada proses penyimpanan ikut mempengaruhi kestabilannya seperti dibuktikan oleh [61] yang menyatakan bahwa senyawa fenol berupa asam galat, asam p-kumarin, asam ferulin, asam kafein, asam siringat, katekin dan kuersetin dalam beras merah mengalami oksidasi paling rendah dengan pengemasan yang disimpan pada kondisi oksigen lebih rendah dibanding yang lain saat penyimpanan $37^\circ C$ selama 180 hari. Hal yang serupa disampaikan [62] yang menyatakan bahwa penyimpanan bahan dengan kondisi rendah

oksigen berpengaruh signifikan dalam kestabilan senyawa fenolik terutama dalam penyimpanan jangka panjang.

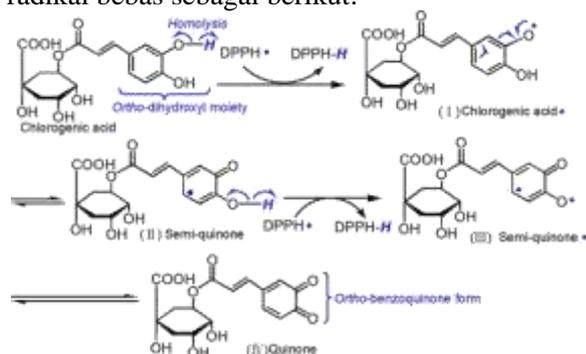
SENYAWA FENOLIK SEBAGAI ANTIOKSIDAN

Seperti diketahui senyawa fenolik merupakan senyawa antioksidan yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak. Struktur molekul dari senyawa ini dapat memberi elektronnya pada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Dalam kemampuannya menangkalkan radikal bebas, senyawa fenolik termasuk antioksidan primer yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya dengan melepas hidrogen sehingga disebut donor hidrogen atau *scavenger* radikal bebas [6] namun ada juga yang termasuk antioksidan sekunder dengan menangkap radikal bebas kemudian mengubahnya menjadi lebih stabil, umumnya dengan mengkhelat ion atau meredam pembentukan oksigen singlet.

Kerja antioksidan dibutuhkan dalam pencegahan stres oksidatif yang terjadi akibat menurunnya jumlah oksigen dan nutrisi. Akibatnya akan terjadi kerusakan mikrovaskular dan kerusakan jaringan karena produksi radikal bebas berlebihan. Radikal bebas berlebihan ini akan menyebabkan terjadinya mutasi gen dimana jaringan tubuh yang sehat akan mengalami kerusakan sehingga dapat memicu penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, penyakit jantung, dan lain lain. Pada saat inilah peran antioksidan akan menambahkan atau menghilangkan satu elektron untuk menetralkan ROS, sehingga radikal bebas menjadi stabil dan menghambat proses oksidasi [63].

Kemampuan antioksidan senyawa fenolik terbentuk karena adanya hubungan aktifitas atau *structure-activity relationship* (SAR), jumlah dan posisi gugus hidroksil, adanya ikatan rangkap dan glikosilasi [64]. Struktur senyawa fenolik akan menentukan efektivitas peredaman oksigen reaktif contohnya dengan mengkhelat ion Fe^{2+} dan Cu^+ [65]. Mekanisme antioksidan senyawa fenolik dengan radikal peroksil ($ROO\bullet$) melibatkan perpindahan kation hidrogen dari fenol ke radikal sehingga membentuk transisi ikatan H-O dengan 1 elektron. Contohnya pada senyawa asam klorogenat yang termasuk senyawa

fenolik, memiliki mekanisme antioksidan pada radikal bebas sebagai berikut:



Gambar 4. Reaksi asam klorogenat dalam menstabilkan radikal bebas DPPH [66]

Hubungan Stabilitas Senyawa Fenolik dengan Aktivitas Antioksidan

[67] menyatakan bahwa total senyawa fenolik berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan sampel. Pernyataan tersebut didukung penelitian [67][68][69] yang mendapatkan hasil serupa yakni tingginya aktivitas antioksidan disebabkan tingginya kadar senyawa fenolik dalam sampel. Ketika terjadi penurunan total senyawa fenolik saat proses penyimpanan, maka aktivitas antioksidannya juga mengalami penurunan.

Selain itu, penelitian lain juga banyak yang menyebutkan bahwa total fenolik tidak selalu berbanding lurus dengan aktivitas antioksidannya. Hal tersebut dibuktikan oleh [60][55][59][70] yang menunjukkan bahwa tidak selalu kenaikan total senyawa fenolik menyebabkan aktivitas antioksidan juga ikut naik, begitu pula penurunan total senyawa fenolik, tidak selalu diimbangi dengan penurunan aktivitas antioksidannya. Umumnya hal tersebut dikarenakan adanya senyawa antioksidan lain selain senyawa fenolik yang keberadaannya lebih stabil dalam pemrosesan ataupun penyimpanan.

Hal tersebut dibuktikan oleh penelitian [59] yang mengalami penurunan total fenolik pada penyimpanan jus lengkeng pericarp. Penurunan total fenol tersebut tidak diimbangi dengan aktivitas antioksidannya yang justru semakin naik, dimana adanya senyawa antioksidan lain berupa antosianin yang totalnya meningkat selama penyimpanan ikut terdeteksi saat pengujian aktivitas antioksidan. Pengujian antioksidan dilakukan dengan mengukur kemampuan senyawa dalam meredam radikal bebas, sehingga selama senyawa tersebut mampu meredam radikal bebas, meskipun bukan senyawa

fenolik, maka hasilnya akan terbaca sebagai aktivitas antioksidan. Beberapa senyawa selain senyawa fenolik yang biasanya ikut berperan adalah vitamin C, E dan golongan flavonoid.

Metode pengujian aktivitas antioksidan juga diketahui ikut mempengaruhi hubungan stabilitas senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan. Contohnya pengujian dengan DPPH (*2,2,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), ketika radikal DPPH bereaksi dengan antioksidan, aktivitasnya dapat berkurang akibat paparan cahaya, oksigen dan tipe pelarut saat proses pengujian. Penurunan aktivitas antioksidan akibat kadar air pelarut melebihi batas tertentu terjadi karena DPPH mengalami koagulasi [71]. Selain itu uji dengan ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) mampu menguji antioksidan hipofilik dan lipofilik sehingga memungkinkan adanya senyawa lain selain senyawa fenolik yang ikut terdeteksi aktivitas antioksidannya yang menyebabkan hasil kadar senyawa fenolik tidak linier dengan aktivitas antioksidannya.

KESIMPULAN

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang mudah mengalami kerusakan akibat oksidasi dan degradasi saat proses pengolahan hingga penyimpanan. Beberapa faktor yang berperan penting dalam stabilitas senyawa fenolik adalah waktu, suhu, cahaya, oksigen dan enzim. Oleh karenanya, proses pengolahan yang disarankan untuk mempertahankan senyawa fenolik adalah *steam*, *blanching*, pasteurisasi, *freezing* dan fermentasi. Untuk proses penyimpanan yang disarankan untuk mempertahankan senyawa fenolik adalah penyimpanan dengan suhu dan kadar oksigen yang rendah serta terhindar dari cahaya. Meski dikatakan bahwa senyawa fenolik adalah senyawa antioksidan, namun kandungan senyawa fenolik tidak selalu berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan karena ada senyawa antioksidan lain dalam bahan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Leny Yuanita, M.Kes selaku dosen pembimbing skripsi yang berkenan mengarahkan dan membimbing saya menyelesaikan artikel ini. Kepada Prof. Dr. Sari Edi C, M.Si. dan Dr. Prima Retno W, M.Si. selaku reviewer artikel saya, terima kasih atas kritik dan saran yang membangun demi terselesaikannya artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] S. Czaplicki, "Effect Of Heat And Enzyme Treatment On Yield , Phenolic Content And Antioxidant Capacity Of Juices," no. January 2009, 2014.
- [2] Li, X. Chen, J. Deng, D. Ouyang, D. Wang, Y. Liang, Y. Chen, Y. Sun., "Effect of thermal processing on free and bound phenolic compounds and antioxidant activities of hawthorn," *Food Chem.*, vol. 332, p. 127429, 2020, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127429.
- [3] B. Radovanović, A. Radovanović, V. Nikolić, N. Manojlović, and J. Dimitrijević, "Storage effect on phenolic content and antioxidant activity in selected fruit extracts," *Bulg. Chem. Commun.*, vol. 49, no. 4, pp. 879–883, 2017.
- [4] P. Terry, J. Lagergren, H. Hansen, A. Wolk, and O. Nyrén, "Fruit and vegetable consumption in the prevention of oesophageal and cardia cancers," *Eur. J. Cancer Prev.*, vol. 10, no. 4, pp. 365–369, 2001, doi: 10.1097/00008469-200108000-00010.
- [5] I. Ioannou, I. Hafsa, S. Hamdi, C. Charbonnel, and M. Ghoul, "Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behaviour," *J. Food Eng.*, vol. 111, no. 2, pp. 208–217, 2012, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.02.006.
- [6] Á. Guinda, J. M. Castellano, J. M. Santos-Lozano, T. Delgado-Hervás, P. Gutiérrez-Adán, and M. Rada, "Determination of major bioactive compounds from olive leaf," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 64, no. 1, pp. 431–438, 2015, doi: 10.1016/j.lwt.2015.05.001.
- [7] D. Tsimogiannis and V. Oreopoulou, "Classification of Phenolic Compounds in Plants," *Polyphenols in Plants*, pp. 263–284, 2019, doi: 10.1016/b978-0-12-813768-0.00026-8.
- [8] P. G. Anantharaju, P. C. Gowda, M. G. Vimalambike, and S. V. Madhunapantula, "An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers," *Nutr. J.*, vol. 15, no. 1, pp. 1–16, 2016, doi: 10.1186/s12937-016-0217-2.
- [9] L. Hashemi, M. Asadi-Samani, M.-T. Moradi, and S. Alidadi, "Anticancer Activity and Phenolic Compounds of Pistacia atlantica Extract Anticancer Activity and Phenolic Compounds of," *eIJPR*, vol. 7, no. 2, pp. 26–31, 2017, doi: 10.24896/eijpr.2017725.
- [10] B. Tyagi, A. Dubey, A. K. Verma, and S. Tiwari, "Antibacterial activity of phenolics compounds against pathogenic bacteria," *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, vol. 35, no. 1, pp. 16–18, 2015.
- [11] E. Sahlin, G. P. Savage, and C. E. Lister, "Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 17, no. 5, pp. 635–647, 2004, doi: 10.1016/j.jfca.2003.10.003.
- [12] W. B. Hans, N. H. Serge, M. N. Ghislain, N. M. Audrey Therese, and N. Eric Serge, "Effect of Boiling on the Phenolic Content and Antioxidant Activity of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruits," *J. Food Stab.*, vol. 1, no. 1, pp. 28–35, 2018, doi: 10.36400/j.food.stab.1.1.2018-0003.
- [13] M. Ali, M. Mahsa, and J. B. Mehrzad, "Effect of boiling cooking on antioxidant activities and phenolic content of selected iranian vegetables," *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.*, vol. 6, no. 3, pp. 636–641, 2015.
- [14] J. Leyva-Corral, A. Q. Ramos, A. C. Dávila, M. A. de Jesús Zazueta, P. J. Aguilar, G. E. Ruiz, P. M. G. Meléndez, A. C. O. de Jesús Ruiz, Teresita, "Polyphenolic compound stability and antioxidant capacity of apple pomace in an extruded cereal," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 65, pp. 228–236, 2016, doi: 10.1016/j.lwt.2015.07.073.
- [15] Aisyah, Yuliani, Rasdiansyah, Muhaimin., "Pengaruh Pemanasan terhadap Aktivitas Antioksidan pada Beberapa Jenis Sayuran," *J. Teknol. dan Ind. Pertan. Indones.*, vol. 6, no. 2, pp. 0–4, 2014, doi: 10.17969/jtipi.v6i2.2063.
- [16] O. Bamidele, M. Fasogbon, O. Adebowale, and A. Adeyanju, "Effect of Blanching Time on Total Phenolic, Antioxidant Activities and Mineral Content of Selected Green Leafy Vegetables," *Curr. J. Appl. Sci. Technol.*, vol. 24, no. 4, pp. 1–8, 2017, doi: 10.9734/cjast/2017/34808.
- [17] E. S. Adithya, M. S. Lakshmi, and K. A.

- Krishnakumar, "A Study on the Effect of Blanching on Phenolic Content and Antioxidant Activity of Amaranthus tricolor L. Leaf and Stem," vol. 5, no. 12, pp. 5265–5268, 2012.
- [18] O. A. Adebo, P. B. Njobeh, J. A. Adebiyi, and E. Kayitesi, "Co-influence of fermentation time and temperature on physicochemical properties, bioactive components and microstructure of ting (a Southern African food) from whole grain sorghum," *Food Biosci.*, vol. 25, pp. 118–127, 2018, doi: 10.1016/j.fbio.2018.08.007.
- [19] R. K. Salar, M. Certik, and V. Brezova, "Modulation of phenolic content and antioxidant activity of maize by solid state fermentation with *thamnidium elegans* CCF 1456," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, vol. 17, no. 1, pp. 109–116, 2012, doi: 10.1007/s12257-011-0455-2.
- [20] Y. Wang, D. Compaoré-Séréme, H. Sawadogo-Lingani, R. Coda, K. Katina, and N. H. Maina, "Influence of dextran synthesized in situ on the rheological, technological and nutritional properties of whole grain pearl millet bread," *Food Chem.*, vol. 285, no. January, pp. 221–230, 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.126.
- [21] O. A. Adebo and I. G. Medina-Meza, "Impact of fermentation on the phenolic compounds and antioxidant activity of whole cereal grains: A mini review," *Molecules*, vol. 25, no. 4, pp. 1–19, 2020, doi: 10.3390/molecules25040927.
- [22] T. Bhanja Dey and R. C. Kuhad, "Upgrading the antioxidant potential of cereals by their fungal fermentation under solid-state cultivation conditions," *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 59, no. 5, pp. 493–499, 2014, doi: 10.1111/lam.12300.
- [23] S. L. Jagadeesh, M. T. Charles, Y. Garipey, B. Goyette, G. S. V. Raghavan, and C. Vigneault, "Influence of Postharvest UV-C Hormesis on the Bioactive Components of Tomato during Post-treatment Handling," *Food Bioprocess Technol.*, vol. 4, no. 8, pp. 1463–1472, 2011, doi: 10.1007/s11947-009-0259-y.
- [24] L. Cisneros-Zevallos, "The Use of Controlled Postharvest Abiotic Stresses as a Tool for Enhancing the Nutraceutical Content and Adding-Value," *Concise Rev. Hypotheses Food Sci.*, vol. 68, no. 5, pp. 1560–1565, 2003.
- [25] Y. Shen, Y. Sun, L. Qiao, J. Chen, D. Liu, and X. Ye, "Postharvest Biology and Technology Effect of UV-C treatments on phenolic compounds and antioxidant capacity of minimally processed Satsuma mandarin during refrigerated storage," *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 76, pp. 50–57, 2013, doi: 10.1016/j.postharvbio.2012.09.006.
- [26] L. K. Sari, S. SETHA, and M. Naradisorn, "Effect of UV-C irradiation on postharvest quality of 'Phulae' pineapple," *Sci. Hortic. (Amsterdam)*, vol. 213, pp. 314–320, 2016, doi: 10.1016/j.scienta.2016.09.049.
- [27] M. H. Park and J. G. Kim, "Low-dose UV-C irradiation reduces the microbial population and preserves antioxidant levels in peeled garlic (*Allium sativum* L.) during storage," *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 100, pp. 109–112, 2015, doi: 10.1016/j.postharvbio.2014.09.013.
- [28] T. Jiang, M. M. Jahangir, Z. Jiang, X. Lu, and T. Ying, "Influence of UV-C treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and texture of postharvest shiitake (*Lentinus edodes*) mushrooms during storage," *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 56, no. 3, pp. 209–215, 2010, doi: 10.1016/j.postharvbio.2010.01.011.
- [29] D. R. Gutiérrez, A. R. Chaves, and S. del C. Rodríguez, "UV-C and ozone treatment influences on the antioxidant capacity and antioxidant system of minimally processed rocket (*Eruca sativa* Mill.)," *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 138, no. 9, pp. 107–113, 2018, doi: 10.1016/j.postharvbio.2017.12.014.
- [30] C. Hong Liu, L. Yun Cai, X. Ying Lu, X. Xu Han, and T. Jin Ying, "Effect of Postharvest UV-C Irradiation on Phenolic Compound Content and Antioxidant Activity of Tomato Fruit During Storage," *J. Integr. Agric.*, vol. 11, no. 1, pp. 159–165, 2012, doi: 10.1016/S1671-2927(12)60794-9.
- [31] K. Sheng, H. Zheng, S. S. Shui, L. Yan, C. Liu, and L. Zheng, "Comparison of postharvest UV-B and UV-C treatments

- on table grape: Changes in phenolic compounds and their transcription of biosynthetic genes during storage,” *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 138, no. November 2017, pp. 74–81, 2018, doi: 10.1016/j.postharvbio.2018.01.002.
- [32] J. M. Koponen, A. M. Happonen, S. K. Auriola, B. Hanna, P. Johanna, T. Kaisa S. A. Riitta, “Characterization and fate of black currant and bilberry flavonols in enzyme-aided processing,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 9, pp. 3136–3144, 2008, doi: 10.1021/jf703676m.
- [33] O. A. Laaksonen, L. Mäkilä, M. A. Sandell, J. P. Salminen, P. K. Liu, Heikki P. B. Yang, “Chemical-Sensory Characteristics and Consumer Responses of Blackcurrant Juices Produced by Different Industrial Processes,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 7, no. 10, pp. 2877–2888, 2014, doi: 10.1007/s11947-014-1316-8.
- [34] L. Mäkilä, O. Laaksonen, A. L. Alanne, M. Kortensniemi, H. Kallio, and B. Yang, “Stability of Hydroxycinnamic Acid Derivatives, Flavonol Glycosides, and Anthocyanins in Black Currant Juice,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 64, no. 22, pp. 4584–4598, 2016, doi: 10.1021/acs.jafc.6b01005.
- [35] R. T. NgadzE, R. Verkerk, L.K. Nyanga, V. Fogliano, R. Ferracane, A.D. Troise, A. R. Linnemann, “Effect of heat and pectinase maceration on phenolic compounds and physicochemical quality of *Strychnos cocculoides* juice,” *PLoS One*, vol. 13, no. 8, pp. 1–13, 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0202415.
- [36] A. K. Bhattacharjee, D. K. Tandon, A. Dikshit, and S. Kumar, “Effect of pasteurization temperature on quality of aonla juice during storage,” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 48, no. 3, pp. 269–273, 2011, doi: 10.1007/s13197-010-0171-5.
- [37] J. Kaur, A. Whitson, J. Ashton, L. Katopo, and S. Kasapis, “Effect of ultra high temperature processing and storage conditions on phenolic acid, avenanthramide, free fatty acid and volatile profiles from Australian oat grains,” *Bioact. Carbohydrates Diet. Fibre*, vol. 15, pp. 21–29, 2018, doi: 10.1016/j.bcdf.2016.09.002.
- [38] D. Arrieta-Baez, D. L. Álvarez, M. R. Torres, Z. G. Vallejo, J. M. E. Flores, O. A. Moreno, A. G. Ozores, “Effect of thermal sterilization on ferulic, coumaric and cinnamic acids: Dimerization and antioxidant activity,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 92, no. 13, pp. 2715–2720, 2012, doi: 10.1002/jsfa.5695.
- [39] F. A. Tomás-Barberán and J. C. Espín, “Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 81, no. 9, pp. 853–876, 2001, doi: 10.1002/jsfa.885.
- [40] B. L. White, L. R. Howard, and R. L. Prior, “Impact of different stages of juice processing on the anthocyanin, flavonol, and procyanidin contents of cranberries,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 59, no. 9, pp. 4692–4698, 2011, doi: 10.1021/jf200149a.
- [41] I. Odriozola-Serrano, R. Soliva-Fortuny, and O. Martín-Belloso, “Phenolic acids, flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity of strawberry juices processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments,” *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 228, no. 2, pp. 239–248, 2008, doi: 10.1007/s00217-008-0928-5.
- [42] T. Fuleki and J. M. Ricardo-Da-Silva, “Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 3, pp. 640–646, 2003, doi: 10.1021/jf020689m.
- [43] G. H. Lang, I. da S. Lindemann, C. D. Ferreira, J. F. Hoffmann, N. L. Vanier, and M. de Oliveira, “Effects of drying temperature and long-term storage conditions on black rice phenolic compounds,” *Food Chem.*, vol. 287, no. February, pp. 197–204, 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.02.028.
- [44] T. Ozdal, E. Capanoglu, and F. Altay, “A review on protein-phenolic interactions and associated changes,” *Food Res. Int.*, vol. 51, no. 2, pp. 954–970, 2013, doi: 10.1016/j.foodres.2013.02.009.
- [45] P. J. Tsai and C. H. She, “Significance of phenol-protein interactions in modifying the antioxidant capacity of peas,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 22, pp. 8491–8494, 2006, doi: 10.1021/jf061475y.
- [46] A. Orphanides, V. Goulas, and V. Gekas,

- “Effect of drying method on the phenolic content and antioxidant capacity of spearmint,” *Czech J. Food Sci.*, vol. 31, no. 5, pp. 509–513, 2013, doi: 10.17221/526/2012-cjfs.
- [47] M. M. Özcan, F. Al Juhaimi, I. A. M. Ahmed, N. Uslu, E. E. Babiker, and K. Ghafoor, “Effect of microwave and oven drying processes on antioxidant activity, total phenol and phenolic compounds of kiwi and pepino fruits,” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 57, no. 1, pp. 233–242, 2020, doi: 10.1007/s13197-019-04052-6.
- [48] A. Slatnar, U. Klancar, F. Stampar, and R. Veberic, “Effect of drying of figs (*Ficus carica* L.) on the contents of sugars, organic acids, and phenolic compounds,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 59, no. 21, pp. 11696–11702, 2011, doi: 10.1021/jf202707y.
- [49] P. J. Szychowski, K. Lech, S. E. Nadal, F. Hernández, A. Figiel, A. Wojdyło, B. Carbonell, Ángel A., “Kinetics, biocompounds, antioxidant activity, and sensory attributes of quinces as affected by drying method,” *Food Chem.*, vol. 255, pp. 157–164, 2018, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.02.075.
- [50] I. M. de C. Tavares, B. R. Sumere, A. S. Gómez, E. Gomes, H. I. Gutiérrez, D. R. Silva, V. Lago, S. Ellen., “Storage stability of the phenolic compounds, color and antioxidant activity of jambolan juice powder obtained by foam mat drying,” *Food Res. Int.*, vol. 128, p. 108750, 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2019.108750.
- [51] A. Asgar, “Pengaruh Suhu Penyimpanan dan Jumlah Perforasi Kemasan Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Brokoli (*Brassica oleracea* var . Royal G) Fresh-Cut [The Effect of Storage Temperatures and Perforations on Physical and Chemical Characteristics of Fresh-Cut,” *J. Hort.*, vol. 27, no. 2000, pp. 127–136, 2017.
- [52] G. Genova, P. Iacopini, M. Baldi, A. Ranieri, P. Storchi, and L. Sebastiani, “Temperature and storage effects on antioxidant activity of juice from red and white grapes,” *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 47, no. 1, pp. 13–23, 2012, doi: 10.1111/j.1365-2621.2011.02801.x.
- [53] R. R. Acharya and J. G. Talati, “Effect of Storage Temperature on Vitamin C , Total Phenolics , UPLC Phenolic Acid Profile and Antioxidant Capacity of Eleven Potato (*Solanum tuberosum*) Varieties,” *Hortic. Plant J.*, vol. 3, no. 2, pp. 73–89, 2017, doi: 10.1016/j.hpj.2017.07.004.
- [54] D. Su, Z. Wang, L. Dong, F. Huang, R. Zhang, X. Jia, G. Wu, M. Zhang., “Impact of thermal processing and storage temperature on the phenolic profile and antioxidant activity of different varieties of lychee juice,” *Lwt*, vol. 116, no. April, p. 108578, 2019, doi: 10.1016/j.lwt.2019.108578.
- [55] C. Kapcum and J. Uriyapongson, “Effects of storage conditions on phytochemical and stability of purple corn cob extract powder,” *Food Sci. Technol.*, vol. 38, pp. 301–305, 2018, doi: 10.1590/1678-457x.23217.
- [56] C. Türkben, E. Sar, and C. Demir, “Effect of Freezing and Frozen Storage on Phenolic Compounds of Raspberry and Blackberry Cultivars,” pp. 144–153, 2010, doi: 10.1007/s12161-009-9102-3.
- [57] J. Zhang, C. Zhang, X. Chen, and S. Quek, “Effect of spray drying on phenolic compounds of cranberry juice and their stability during storage,” *J. Food Eng.*, p. 109744, 2019, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.109744.
- [58] C. Rodríguez-Pérez, A. Segura-Carretero, and M. del Mar Contreras, “Phenolic compounds as natural and multifunctional anti-obesity agents: A review,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 59, no. 8, pp. 1212–1229, 2019, doi: 10.1080/10408398.2017.1399859.
- [59] M. Deng, Y. Deng, L. Dong, Y. Ma, L. Liu, F. Huang, Z. Wei, Y. Zhang, M. Zhang, R. Zhang., “Effect of storage conditions on phenolic profiles and antioxidant activity of Litchi pericarp,” *Molecules*, vol. 23, no. 9, pp. 2–13, 2018, doi: 10.3390/molecules23092276.
- [60] A. Ali, C. H. Chong, S. H. Mah, L. C. Abdullah, T. S. Y. Choong, and B. L. Chua, “Impact of storage conditions on the stability of predominant phenolic constituents and antioxidant activity of dried piper betle extracts,” *Molecules*, vol. 23, no. 2, 2018, doi: 10.3390/molecules23020484.

- [61] H. Huang, T. Belwal, L. Li, Y. Wang, H. Aalim, and Z. Luo, "Effect of modified atmosphere packaging of different oxygen levels on cooking qualities and phytochemicals of brown rice during accelerated aging storage at 37 °C," *Food Packag. Shelf Life*, vol. 25, no. June, 2020, doi: 10.1016/j.fpsl.2020.100529.
- [62] A. Bílková, K. Baďurová, P. Svobodová, R. Vávra, P. Jakubec, P. Chocholouš, F. Švec, H. Sklenářová,, "Journal of Food Composition and Analysis Content of major phenolic compounds in apples: Benefits of ultra-low oxygen conditions in long-term storage," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 92, no. July, p. 103587, 2020, doi: 10.1016/j.jfca.2020.103587.
- [63] R. J. Zeman, W. A. Bauman, X. Wen, N. Ouyang, J. D. Etlinger, and C. P. Cardozo, "Improved functional recovery with oxandrolone after spinal cord injury in rats," *Neuroreport*, vol. 20, no. 9, pp. 864–868, 2009, doi: 10.1097/WNR.0b013e32832c5cc2.
- [64] Y. Jin, P. Li, and F. Wang, "β-glucans as potential immunoadjuvants: A review on the adjuvanticity, structure-activity relationship and receptor recognition properties," *Vaccine*, vol. 36, no. 35, pp. 5235–5244, 2018, doi: 10.1016/j.vaccine.2018.07.038.
- [65] D. L. Katz, K. Doughty, and A. Ali, "Cocoa and chocolate in human health and disease," *Antioxidants Redox Signal.*, vol. 15, no. 10, pp. 2779–2811, 2011, doi: 10.1089/ars.2010.3697.
- [66] X. Li, Q. Hu, S. Jiang, F. Li, J. Lin, L. Han, Y. Hong, W. Lu, Y. Gao, D. Chen., "Flos Chrysanthemi Indici protects against hydroxyl-induced damages to DNA and MSCs via antioxidant mechanism," *J. Saudi Chem. Soc.*, vol. 19, no. 4, pp. 454–460, 2014, doi: 10.1016/j.jscs.2014.06.004.
- [67] F. Saci, L. Meziat, and H. Louaileche, "Effect of Storage Time and Temperature on the Health-Promoting Substances and Antioxidant Activity of Two Commercial Fruit," vol. 1, no. 2, pp. 118–122, 2015.
- [68] F. Pasini, Y. Riciputi, M. Fiorini, and M. F. Caboni, "Effect of the storage time and packaging material on the antioxidant capacity and phenols content of organic grape juice stabilized by high hydrostatic pressure," *Chem. Eng. Trans.*, vol. 75, no. December 2018, pp. 235–240, 2019, doi: 10.3303/CET1975040.
- [69] P. Jin, S. Y. Wang, C. Y. Wang, and Y. Zheng, "Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries," *Food Chem.*, vol. 124, no. 1, pp. 262–270, 2011, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.06.029.
- [70] P. Thanajiruschaya, W. Doksaku, P. Rattanachaisit, and J. Kongkiattikajorn, "Effect of storage time and temperature on antioxidant components and properties of milled rice," *KKU Res. J.*, vol. 15, no. 9, pp. 843–851, 2010, [Online]. Available: http://resjournal.kku.ac.th/article/15_09_843.pdf.
- [71] Molyneux P, "The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating anti-oxidant activity," *Songklanakarini J. Sci. Technol.*, vol. 26, no. May, pp. 211–219, 2004.