

Analisis Residu 2-Fenilfenol dan 4-Fenilfenol dalam Buah Sitrus Menggunakan Kaedah Pengekstrakan Mikro Cecair-Cecair Tersebar (DLLME) dan Spektrofotometri Ultraungu-Boleh Nampak (UV-VIS)
(Analysis of 2-Phenylphenol and 4-Phenylphenol Residues in Citrus Fruits Using Dispersed Liquid-Liquid Micro-Extraction (DLLME) and Ultraviolet-Visible Spectrophotometry (UV-VIS))

NUR ALIFFAH ANISSA BINTI MOHD FAUZI, NADHIRATUL-FARIHIN BINTI SEMAIL* & FAIQ HAFIY BIN ROZEMAN

Jabatan Sains Kimia, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 18 Mei 2026/Diterima: 16 Ogos 2026

ABSTRAK

Antioksidan fenol merupakan antara unsur yang banyak terdapat dalam buah-buahan yang memberikan pelbagai manfaat kesihatan kepada pengguna. Bagi menentukan kandungan dan taburan 2- dan 4-fenilfenol dalam lima jenis jus buah sitrus, satu kaedah yang pantas, sensitif serta mesra alam iaitu pengekstrakan mikro cecair-cecair secara serakan (DLLME) telah digunakan di bawah keadaan optimum pH 5, 1.5 g NaCl, 1.5 mL isopropanol sebagai pelarut penyebar dan 1.2 mL diklorometana sebagai pelarut pengekstrak. Analisis preliminari menggunakan kromatografi lapisan nipis (TLC) dengan menggunakan toluena dan aseton (8:2) sebagai pelarut fasa bergerak telah dijalankan bagi penvisualisasi 2 dan 4-fenilfenol di bawah cahaya ultraungu. Namun begitu, disebabkan kedua-dua analit mempunyai kepekatan yang sangat rendah, ia tidak dapat dikesan melalui kaedah TLC. Ujian DPPH tidak menunjukkan perubahan warna yang signifikan, yang menunjukkan bahawa kepekatan antioksidan dalam sampel sitrus mungkin terlalu rendah untuk dinilai secara berkesan menggunakan kaedah ini tanpa proses prapekatan sampel. Oleh itu, kaedah kuantifikasi menggunakan DLLME dan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 245 dan 287 nm telah dijalankan. Jus lemon menunjukkan kepekatan 2- dan 4-fenilfenol yang tertinggi antara kelima-lima sampel buah dengan nilai 0.0212 dan 0.0371 mg/mL masing-masing bagi 2 dan 4-fenilfenol. Keputusan menunjukkan kedua-dua analit mempunyai pekali kolerasi linear (R^2) 0.9917 dan 0.9899. Had pengesanan (LOD) dan had pengkuantifikasian (LOQ) masing-masing adalah 0.00119 dan 0.00408 bagi 2-fenilfenol manakala 0.00127 dan 0.00436 bagi 4-fenilfenol. Peratusan penghasilan semula adalah dari 85.92 sehingga 105.5% bagi 2-fenilfenol dan 90.30 sehingga 114.8% bagi 4-fenilfenol dengan sisihan piawai relatif harian (RSD) 0.1977 hingga 0.5189. Kaedah ini telah berjaya digunakan untuk analisis sampel sebenar jus buah dan membuktikan bahawa teknik ini adalah teknik yang ringkas, pantas dan praktikal serta mesra alam.

Kata kunci: Antioksidan fenol; buah sitrus; DLLME; UV-Vis; TLC

ABSTRACT

Phenolic antioxidants are among the many compounds found in fruits that offer various health benefits to consumers. To determine the content and distribution of 2- and 4-phenylphenol in five types of citrus fruit juices, a rapid, sensitive, and environmentally friendly method, dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) was employed under optimized conditions: pH 5, 1.5 g of NaCl, 1.5 mL of isopropanol as the disperser solvent, and 1.2 mL of dichloromethane as the extractant solvent. A preliminary analysis was conducted using thin-layer chromatography (TLC) with toluene and acetone (8:2) as the mobile phase solvent to visualize 2- and 4-phenylphenol under ultraviolet light. However, due to the very low concentrations of both analytes, they could not be detected by TLC. The DPPH assay also did not exhibit a significant colour change, suggesting that the antioxidant compounds in the citrus sample may be present at concentrations too low for effective detection using this method without prior sample pre-concentration. Therefore, quantification was carried out using UV-Vis spectrophotometry at wavelengths of 245 and 287 nm. Lemon juice showed the highest concentrations among the five fruit juice samples, with values of 0.0212 and 0.0371 mg/mL for 2- and 4-phenylphenol, respectively. The results showed that both analytes had linear correlation coefficients (R^2) of 0.9917 and 0.9899. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were 0.00119 and 0.00408 for 2-phenylphenol, and 0.00127 and 0.00436 for 4-phenylphenol, respectively. The recovery percentages ranged from 85.9 to 105.5% for 2-phenylphenol and 90.3 to 114.8% for 4-phenylphenol, with daily relative standard deviations (RSD) ranging from 0.1977 to 0.5189. This method was successfully applied to the

analysis of real fruit juice samples and demonstrated that it is a simple, rapid, practical, and environmentally friendly technique.

Keywords: Citrus fruit; DLLME; phenolic antioxidant; TLC; UV-Vis

PENGENALAN

Sebatian fenol merupakan metabolit sekunder dengan berat molekul rendah yang memainkan peranan penting dalam sistem pertahanan tumbuhan serta interaksi dengan persekitaran. Dalam kumpulan ini, 2-fenilfenol dan 4-fenilfenol semakin mendapat perhatian kerana penggunaannya secara meluas sebagai bahan pengawet, racun kulat dan agen antimikrob dalam sektor pertanian, pemprosesan makanan dan industri pembasmian kuman (Kolbe & Andersson 2006). 2-fenilfenol khususnya digunakan secara meluas dalam rawatan pascatuai buah sitrus bagi menghalang pereputan semasa penyimpanan dan pengangkutan (Ke et al. 2017). Penggunaan berskala besar ini meningkatkan kemungkinan pelepasan bahan tersebut ke dalam alam sekitar dan pemindahan residunya ke dalam produk makanan, termasuk jus sitrus komersial (MRLs buah sitrus, 5 mg/kg) (European Commission 2010).

Walaupun 2-fenilfenol dilaporkan mempunyai ketoksikan yang relatifnya rendah dan mudah terbiodegradasi, bahan ini masih dikaitkan dengan ketoksikan akut dan kronik terhadap organisma akuatik serta potensi gangguan endokrin. Selain itu, beberapa kajian toksikologi turut melaporkan kesan seperti gangguan pertumbuhan, penurunan kesuburan dan kerosakan buah pinggang dalam kajian haiwan (Australian Industrial Chemicals Introduction Scheme 2022). Kehadiran residu fenilfenol dalam makanan dan air minuman pada aras rendah mungkin tidak memberikan risiko segera kepada kesihatan manusia, namun pemantauan secara berterusan masih diperlukan bagi memastikan tahap residu berada dalam julat selamat dan mematuhi had residu maksimum (MRLs, 0.092 µg/L) (Ahmaruzzaman et al. 2024; European Food Safety Authority 2017).

Walau bagaimanapun, analisis fenilfenol dalam matriks kompleks seperti jus buah masih menjadi cabaran utama kerana kehadiran komponen semula jadi seperti gula, pigmen, asid organik dan sebatian bioaktif lain boleh menghasilkan kesan matriks yang mengganggu proses pengekstrakan dan pengesanan analit sasaran. Tambahan pula, fenilfenol lazimnya hadir pada kepekatan yang sangat rendah, sekali gus memerlukan kaedah analisis yang mempunyai sensitiviti dan selektiviti tinggi (Cafeo et al. 2026; Jiao et al. 2026; Muhammad Nur Hafiz et al. 2021). Kajian terdahulu melaporkan bahawa kebanyakan kaedah analisis bagi 2-fenilfenol menggunakan kromatografi cecair atau kromatografi gas memerlukan prosedur penyediaan sampel yang panjang, penggunaan pelarut organik dalam kuantiti

besar dan instrumen berkos tinggi (Kolbe & Andersson 2006; Mohammad Fauzan et al. 2022; Nik Nur Atiqah et al. 2020; Sadrmousavi-Dizaj et al. 2025). Selain itu, teknik konvensional seperti pengekstrakan cecair-cecair (LLE), penyulingan wap dan kromatografi kolum sering melibatkan proses yang rumit serta memerlukan masa pengekstrakan yang lama (Cablé, Le Brech & Mutelet 2022). Oleh itu, pembangunan kaedah pra-rawatan sampel yang lebih ringkas, pantas dan mesra alam masih menjadi keperluan penting dalam analisis pencemar fenol.

Sehubungan itu, kaedah pengekstrakan mikro cecair-cecair secara serakan (DLLME) telah muncul sebagai teknik mikroekstraksi alternatif yang lebih 'hijau' dan cekap untuk analisis pada aras surih (Jiao et al. 2026; Sanli, Ozkan & Şahin-Yeşilçubuk 2025). Teknik ini menawarkan beberapa kelebihan termasuk penggunaan pelarut organik dalam kuantiti mikroliter, masa pengekstrakan yang singkat, prosedur operasi yang mudah dan kos analisis yang lebih rendah berbanding teknik konvensional (Herrera-Herrera et al. 2010; Mohammad Fauzan et al. 2022; Rezaee et al. 2006). Selain itu, DLLME juga mampu memberikan faktor pengayaan yang tinggi, kecekapan pengekstrakan yang baik serta penggunaan isi padu sampel yang minimum. Keupayaan ini menjadikan teknik DLLME sangat sesuai untuk analisis bahan pencemar fenol dalam matriks makanan yang kompleks, terutamanya apabila digabungkan dengan instrumen analisis yang mudah dan kos efektif seperti spektrofotometri UV-Vis (Wang et al. 2019).

Oleh itu, kajian ini bertujuan membangunkan satu kaedah analisis yang cepat, sensitif dan mesra alam menggunakan DLLME yang digabungkan dengan spektrofotometri UV-Vis bagi kuantifikasi 2-fenilfenol dan 4-fenilfenol dalam buah sitrus. Pengoptimuman parameter pengekstrakan seperti pemilihan pelarut pengekstrakan dan pelarut pengedaran dijalankan bagi meningkatkan faktor pengayaan dan peratus penghasilan semula analit serta mengatasi cabaran pemisahan fasa dalam matriks kompleks. Kaedah yang dicadangkan berpotensi diaplikasikan sebagai alat saringan rutin untuk pemantauan residu fenol dalam jus sitrus komersial bagi memastikan keselamatan pengguna dan pematuhan terhadap piawaian keselamatan makanan.

KAEDAH KAJIAN

BAHAN KIMIA DAN PENYEDIAAN SAMPEL

Pelarut metanol, toluena, aseton dan etil asetat (gred HPLC) diperoleh daripada Fisher Chemical (Amerika Syarikat)

manakala 2-fenilfenol dan 4-fenilfenol (ketulenan $\geq 99\%$) dibeli daripada Sigma-Aldrich (Amerika Syarikat). 10 mg 2-fenilfenol dan 4-fenilfenol dilarutkan ke dalam 10 mL metanol bagi menghasilkan larutan stok dengan kepekatan 1000 ppm. Sampel buah yang digunakan adalah lemon, limau kasturi, oren navel, mandarin dan limau gedang. Isi bagi setiap buah diperah dengan menggunakan pemerah jus manual untuk penghasilan jus dan seterusnya diempas selama 15 minit pada kelajuan 4000 rpm. Lapisan yang lebih jernih dikumpul lalu ditapis dengan menggunakan set pam secara vakum. Larutan yang ditapis disimpan pada suhu 4 °C.

ANALISIS TLC DAN DPPH

Bagi kajian awal, empat sistem menggunakan nisbah yang berbeza sebagai fasa bergerak telah dinilai untuk mendapatkan pemisahan tompok yang optimum. Fasa bergerak yang digunakan ialah campuran toluena dan etil asetat dengan nisbah 9:1, 8:2, 7:3 dan 6:4 (v/v). Dua plat TLC dengan ukuran masing-masing adalah 8 × 10 dan 8 × 8 cm dipotong. Ekstrak sampel serta larutan stok yang lain dititikkan pada plat TLC dibiarkan kering. Plat TLC yang sudah kering dimasukkan ke dalam bekas tertutup dengan berhati-hati dan dibiarkan membangun sehingga mencapai 3/4 daripada plat TLC. Plat TLC tersebut dibiarkan kering dan divisualisasikan di bawah cahaya ultraungu. Aktiviti pemerangkapan radikal bebas ekstrak dinilai dengan menggunakan kaedah radikal bebas stabil difenilpikarilhidrazil (DPPH). Larutan DPPH disediakan dengan melarutkan 0.39 g DPPH dalam 10 mL metanol untuk menghasilkan larutan DPPH dengan kepekatan 0.1 M. Sebanyak 4 tiub emparan (15 mL) masing-masing diisi dengan 1 mL jus lemon. Setiap tiub emparan mempunyai nisbah sampel dan air yang berbeza (1: 1, 2:1, 3:1 dan 4: 1, v/v, mL/mL).

PENGKSTRAKAN DLLME DAN ANALISIS UV-Vis

Empat parameter bebas dengan julat yang dikaji: pH (3-7), jenis garam (NaCl, MgSO₄, KNO₃, CaCl₂, NaBr), berat garam (0.05 - 1.5 g), jenis pelarut serakan (MeOH, EtOH, aseton, asetonitril, IPA) dan isi padu pelarut pengekstrakan (400, 800 dan 1200 µL). Sampel ekstrak sebanyak 10 mL dan pH sampel ditetapkan kepada pH 5 dengan menggunakan 1.0 M NaOH dimasukkan ke dalam tiub falkon 15 mL dan 1.5 g NaCl ditambahkan ke dalam sampel. Aseton dan diklorometana diserakkan menggunakan picagari ke dalam larutan akueus sampel. Penyerapan cahaya (absorbans) bagi setiap larutan telah diukur pada panjang gelombang 254, 260 dan 287 nm untuk kuantifikasi sebatian fenol dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1900i. Setiap ujian dilakukan secara ulangan sebanyak 3 kali untuk kepekatan berbeza bagi setiap parameter (n=3).

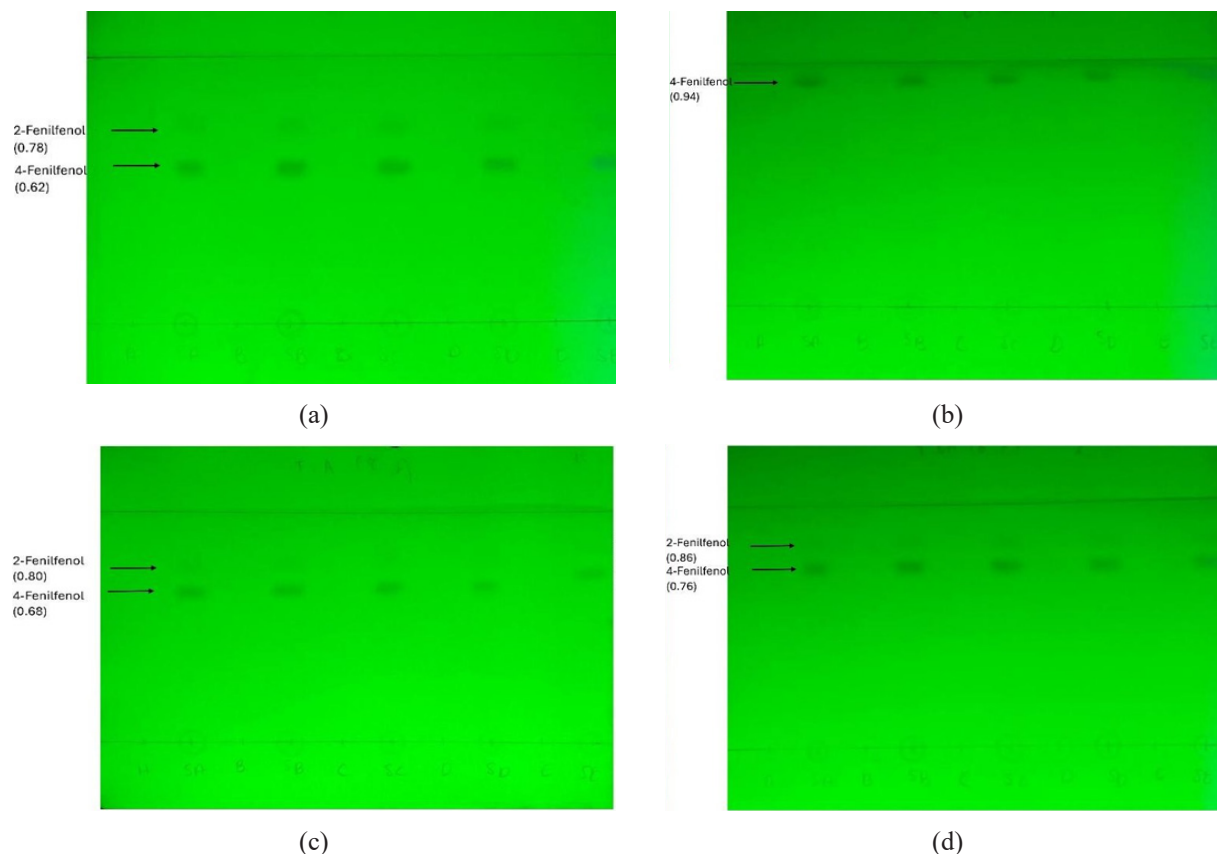
HASIL DAN ANALISIS KAJIAN

ANALISIS TLC

TLC merupakan antara kaedah paling asas dalam pemisahan sebatian daripada campuran berdasarkan kepolaran. Teknik ini boleh digunakan untuk menentukan bilangan sebatian yang terdapat dalam campuran, identiti serta ketulenan sebatian yang hadir. Analisis TLC ini dijalankan pada lima jenis buah iaitu lemon, limau kasturi, oren navel, mandarin dan limau gedang. Beberapa campuran larutan dengan nisbah yang tertentu telah digunakan bagi menentukan larutan fasa bergerak yang optimum bagi pemisahan 2- dan 4-fenilfenol dalam sampel. Campuran toluena dan aseton dengan nisbah 8:2 dipilih kerana ia menunjukkan tompok yang lebih pekat dan jelas berbanding dengan campuran larutan yang lain. Gabungan kedua-dua pelarut ini menghasilkan larutan dengan kekutuban sederhana yang sesuai bagi pemisahan 2- dan 4-fenilfenol yang juga separa berkutub dengan 4-fenilfenol lebih berkutub daripada 2-fenilfenol (Ke et al. 2017). Sampel tidak menunjukkan sebarang tompok pada plat TLC yang membuktikan bahawa tiada 2- dan 4-fenilfenol dalam kelima-lima sampel buah (Kerr, West & Kradtap Hartwell 2016). Ini menunjukkan bahawa 2-fenilfenol dan 4-fenilfenol tidak dapat dikesan secara langsung dalam sampel buah, kemungkinan kekekatannya yang terlalu rendah. Oleh itu, proses pengekstrakan dan prakepekatan menggunakan teknik DLLME adalah penting bagi meningkatkan kepekatan analit ke tahap yang boleh dikesan. Rajah 1 menunjukkan nilai faktor retensi (R_f) bagi keempat-empat fasa bergerak yang dikaji. Pada nisbah 9:1 (v/v) (Rajah 1(a)), kandungan toluena yang lebih tinggi menyebabkan fasa bergerak kurang berkutub, mengakibatkan analit bergerak dengan perlahan dan menghasilkan nilai R_f yang rendah. Sebaliknya, peningkatan kandungan etil asetat kepada 7:3 dan 6:4 (v/v) meningkatkan kepolaran fasa bergerak, menyebabkan analit bergerak lebih jauh pada plat TLC. Keadaan ini menghasilkan nilai R_f (> 0.94) yang lebih tinggi serta mengurangkan resolusi pemisahan, sehingga tompok analit menjadi terlalu rapat dan sebahagiannya bertindih (Rajah 1(b) dan 1(d)). Oleh itu, campuran 8:2 (v/v) memberikan keseimbangan kepolaran yang terbaik untuk pemisahan analit (Rajah 1(c)). Pemisahan yang lebih baik dapat dilihat bagi 2-fenilfenol dan 4-fenilfenol tanpa berlakunya pertindihan tompok, sekali gus memudahkan pemisahan kedua-dua analit.

ANALISIS DPPH

Analisis DPPH merupakan teknik yang mudah, pantas dan biasa digunakan untuk menentukan keupayaan sesuatu sebatian untuk berfungsi sebagai penghapus radikal bebas atau penderma hidrogen serta menilai



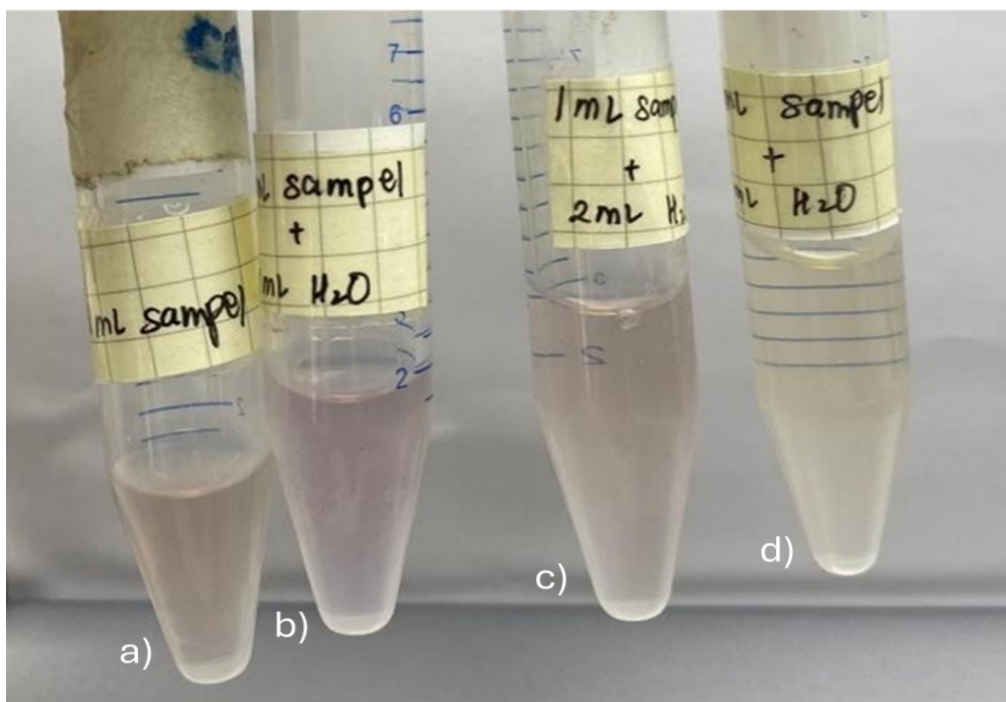
RAJAH 1. Nilai R_f bagi kajian awal 2- dan 4-fenilfenol bagi empat fasa bergerak berbeza dengan nisbah tertentu; (a) Toluena:etil asetat (9:1), (b) Kloroform:etil asetat (7:3), (c) Toluena:aseton (8:2) dan (d) Toluena:etil asetat (8:2)

aktiviti oksidan dalam makanan. Rajah 2 menunjukkan perbezaan warna sampel selepas bertindak balas dengan larutan DPPH. Berdasarkan analisis yang dijalankan, kepekatan warna ungu larutan DPPH semakin berkurang dari tiub emparan kiri (Rajah 2(a)) sehingga kanan (Rajah 2(d)). Ini bertentangan dengan konsep DPPH yang mana larutan atau sampel dengan kepekatan antioksidan tinggi akan mempunyai warna yang lebih terang berbanding warna asal DPPH iaitu ungu gelap. Larutan sampel dengan kepekatan antioksidan yang tinggi akan meneutralkan radikal DPPH dengan cara mendermakan elektron yang seterusnya mengurangkan kepekatan warna ungu larutan DPPH (Sija et al. 2019). Kegagalan ini boleh disebabkan oleh beberapa faktor antaranya adalah gangguan matriks daripada pigmen lemon yang tidak ditapis dengan bersih lalu mengganggu interaksi antioksidan dengan larutan DPPH.

PENGOPTIMUMAN TEKNIK DLLME

Terdapat lima parameter yang dikaji bagi memastikan kedua analit dapat diekstrak dengan banyak semasa proses DLLME. Parameter pertama yang dikaji adalah pH

kerana sebatian terion seperti 2- dan 4-fenilfenol boleh memberi kesan kepada kecekapan pengekstrakan dengan cara pemprotonan dan deprotonasi kumpulan hidroksil pada struktur kedua-dua analit. Berdasarkan Rajah 3(a), terdapat peningkatan penyerapan analit pada panjang gelombang 245 dan 287 nm dari pH 3 hingga pH 5 dan seterusnya menurun pada pH 6 dan pH 7. pH 5 dengan penyerapan sebanyak 0.4077 dan 0.3957 mAU bagi 2 dan 4-fenilfenol dipilih sebagai pH optimum kerana ia wujud dalam keadaan terproton yang lebih stabil dalam fasa organik berbanding fasa akueus. pK_a bagi 2 dan 4-fenilfenol adalah 9.55 (My, Din & Van Bay 2022). Seterusnya adalah jenis garam yang memainkan peranan penting bagi proses pemendakan atau 'salting out' iaitu teknik yang digunakan untuk meningkatkan kecekapan pengekstrakan analit daripada fasa larutan akueus kepada fasa organik. Agen pemendakan yang baik adalah garam yang boleh mengekstrak analit dengan tinggi ke dalam fasa organik (Wang et al. 2020). Berdasarkan Rajah 3(b), NaCl menunjukkan penyerapan paling tinggi dengan bacaan penyerapan sebanyak 0.395 dan 0.375 mAU masing-masing bagi 2 dan 4-fenilfenol kerana ia meningkatkan pemindahan analit ke dalam fasa



RAJAH 2. Perubahan warna DPPH dalam keadaan berbeza; (a) 1 mL sampel, (b) 1 mL sampel + 1 mL H₂O, (c) 1 mL sampel + 2 mL H₂O dan (d) 1 mL sampel + 3 mL H₂O

organik dengan mengurangkan keterlarutannya dalam fasa akueus. NaBr, CaCl₂, KNO₃ dan MgSO₄. NaCl meningkatkan pemindahan 2 dan 4-fenilfenol ke dalam fasa organik dengan mengurangkan keterlarutannya dalam fasa akueus. Selain itu, ia juga menjadikan pelarut pengeksrak kurang larut seterusnya membolehkan lebih banyak analit masuk ke fasa organik (Mokhtari et al. 2020). Bagi garam NaBr, ia mempunyai saiz garam yang lebih besar berbanding NaCl lalu mengurangkan jumlah luas permukaan yang terdedah untuk berinteraksi dengan analit manakala garam MgSO₄ dan CaCl₂ menghasilkan interaksi yang lemah dengan kumpulan hidroksil disebabkan ciri ion dikovalennya (Nik Nur Atiqah et al. 2020). Oleh itu, NaCl dipilih sebagai garam optimum bagi proses pengeksrak 2 dan 4- fenilfenol. Berat garam juga memberi kesan kepada pengeksrak analit daripada sampel kerana kepekatan garam yang lebih tinggi boleh mengubah ciri fizikal filem pengeksrak dan seterusnya menurunkan kadar resapan analit ke dalam fasa organik (Mohd Marsin et al. 2013, 2012). Penyerapan meningkat seiring dengan peningkatan berat garam seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 3(c) dan NaCl dengan berat 1.5 g dipilih sebagai berat optimum dengan penyerapan tertinggi iaitu sebanyak 0.468 dan 0.466 masing-masing bagi 2 dan 4-fenilfenol. Seterusnya, jenis pelarut penyebar dipilih sebagai salah satu parameter penting dalam mengoptimumkan kecekapan pengeksrak kerana ia mempengaruhi penyebaran pelarut pengeksrak dan seterusnya kecekapan

pemindahan analit dalam teknik DLLME. Pelarut penyebar mestilah mempunyai keterlarutan yang tinggi dalam kedua-dua pelarut pengeksrak dan sampel untuk membentuk larutan keruh kerana ini akan meningkatkan jumlah luas permukaan bersentuhan antara kedua-dua fasa (Mohammad Fauzan et al. 2022). Merujuk kepada Rajah 3(d), pelarut penyebar IPA mempunyai penyerapan tertinggi iaitu sebanyak 0.378 dan 0.373 mAU masing-masing bagi 2 dan 4- fenilfenol kerana ia mengaplikasikan konsep 'like dissolve like' yang mana kedua-dua analit ini larut dalam pelarut yang separa atau kurang berkutub. Walau bagaimanapun, mekanisme pengeksrak dalam DLLME bukan sahaja dipengaruhi oleh kepolaran pelarut, tetapi turut bergantung kepada kebolehcampuran pelarut dengan fasa akueus, kestabilan pembentukan emulsi serta keupayaan menghasilkan titisan halus pelarut pengeksrak dalam sampel. Oleh itu, peningkatan penyerapan tidak boleh dikaitkan sepenuhnya dengan faktor kepolaran semata-mata.

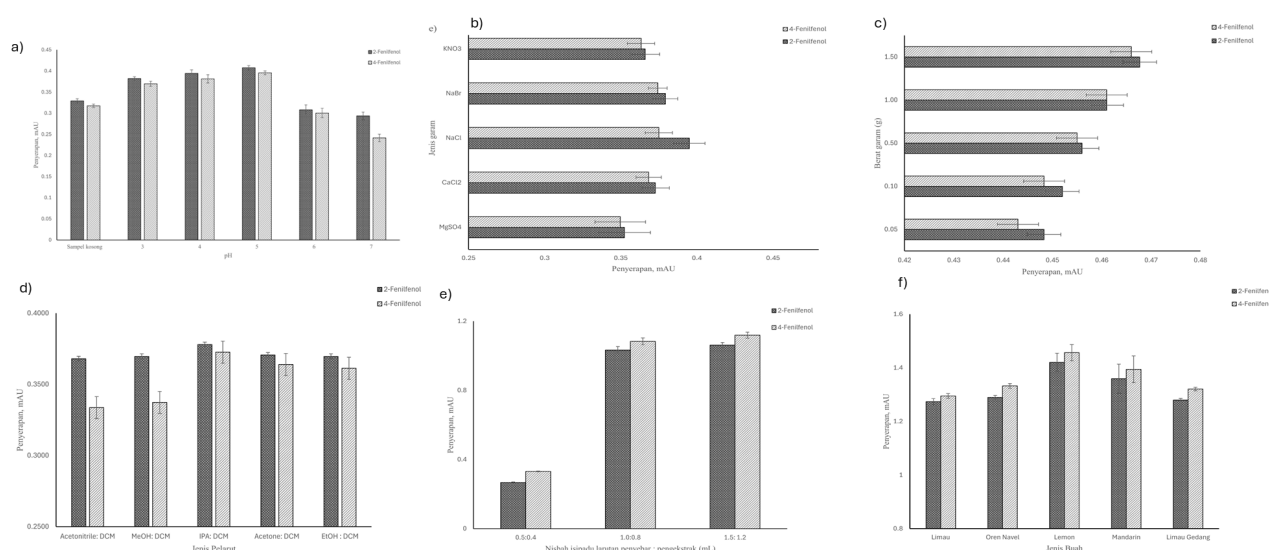
Selain itu, isi padu pelarut penyebar memainkan peranan kritikal dalam menentukan kecekapan proses DLLME kerana ia mempengaruhi pembentukan larutan keruh dan taburan pelarut pengeksrak dalam fasa akueus (Rajah 3(e)). Secara teori, peningkatan isi padu pelarut penyebar dapat meningkatkan luas permukaan sentuhan antara fasa organik dan akueus, sekali gus mempercepat pemindahan analit ke dalam pelarut pengeksrak (Mostafa & Shaaban 2018). Namun demikian, peningkatan isi padu pelarut yang berlebihan juga boleh

menyebabkan pencairan analit dalam fasa organik dan mengurangkan faktor pengayaan, seterusnya menurunkan kecekapan pengekstrakan. Oleh itu, pemilihan isi padu pelarut perlu dioptimumkan secara teliti bagi mencapai keseimbangan antara pembentukan emulsi yang stabil dan kepekatan analit yang mencukupi dalam fasa pengekstrak. IPA dan DCM dengan nisbah 1.5:1.2 dipilih sebagai isi padu pelarut yang optimum kerana ia menghasilkan penyerapan tertinggi bagi kedua-dua analit iaitu sebanyak 1.033 dan 1.083 mAU. Jus buah lemon, limau kasturi, oren navel, mandarin dan limau gedang diekstrak dengan menggunakan Teknik DLLME dan dianalisis dengan menggunakan UV-Vis. Jus lemon menunjukkan penyerapan tertinggi iaitu sebanyak 1.42 dan 1.46 mAU bagi 2- dan 4-fenilfenol diikuti dengan jus mandarin, oren navel, limau gedang dan limau kasturi. Lengkung penentuan menunjukkan kelinearan dalam julat kepekatan 10 ppm sehingga 250 ppm dan graf yang terhasil menunjukkan hubungan kelinearan yang baik dalam julat kepekatan yang dipilih.

ANALISIS SAMPEL

Jus buah lemon, limau kasturi, oren navel, mandarin dan limau gedang diekstrak dengan menggunakan teknik DLLME dan dianalisis dengan menggunakan UV-Vis. Berdasarkan Rajah 3(f), jus lemon menunjukkan penyerapan tertinggi iaitu sebanyak 1.42 dan 1.46 mAU bagi 2- dan 4-fenilfenol dengan kepekatan 0.0218 dan 0.0371 mg/mL diikuti dengan jus mandarin, oren navel, limau gedang dan limau kasturi. Kepekatan 2- dan 4-fenilfenol dalam buah limau kasturi, oren navel, mandarin dan limau gedang seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 1.

Walaupun kedua-dua analit berjaya dikesan dalam semua sampel, kepekatan yang diperoleh bagi kelima-lima buah mendapati tidak melebihi nilai had residu maksimum (MRL) yang ditetapkan, iaitu 5 mg/kg. Keadaan ini menunjukkan kemungkinan penggunaan bahan pengawet atau racun kulat berasaskan fenilfenol secara meluas dalam pengendalian pascatuai buah sitrus. Namun demikian, interpretasi keputusan ini perlu dilakukan secara berhati-hati kerana faktor matriks sampel yang kompleks boleh mempengaruhi bacaan penyerapan UV-Vis dan menyebabkan gangguan terhadap ketepatan kuantifikasi analit. Kehadiran sebatian organik lain seperti flavonoid, asid organik dan pigmen semula jadi dalam jus buah berpotensi menghasilkan pertindihan spektrum dan meningkatkan bacaan serapan. Lengkung penentuan menunjukkan kelinearan dalam julat kepekatan 0.006 mg/mL sehingga 0.1 mg/mL dan nilai bagi R^2 adalah 0.9917 dan 0.9899 bagi 2 dan 4-fenilfenol. Graf yang terhasil menunjukkan hubungan kelinearan yang kurang baik dalam julat kepekatan yang dipilih. Ini boleh disebabkan oleh cara penyediaan dan pengendalian yang tidak cekap semasa kajian dijalankan. Nilai LOD dan LOQ bagi 2- dan 4-fenilfenol masing-masing adalah 0.00119 dan 0.00127 serta 0.00408 dan 0.00436 mg/mL yang mana ia menunjukkan sensitiviti yang baik dalam mengesan sampel yang mempunyai kepekatan rendah. Nilai RSD yang rendah menunjukkan kebolehulangan kaedah yang baik, namun penambahbaikan terhadap proses penyediaan sampel dan pengoptimuman parameter instrumental masih diperlukan bagi meningkatkan ketepatan, selektiviti dan kebolehpercayaan analisis, khususnya untuk aplikasi terhadap matriks makanan yang kompleks.



RAJAH 3. Pengoptimuman parameter DLLME bagi 2,4-fenilfenol: (a) pH, (b) jenis garam, (c) jisim garam, (d) jenis pelarut, (e) nisbah pelarut dan (f) jenis sampel

JADUAL 1. Pengesanan kaedah dan aplikasi sampel bagi target analit menggunakan DLLME- UV-VIS

Analit	Julat Linear (mg/ mL)	LOD (mg/mL)	LOQ (mg/mL)	Ketepatan ($\pm$ SD, n=3)	Peratusan pemulihan (% n=3)	Faktor prapekatan (-fold)
2-fenilfenol	0.006- 0.1	0.00119	0.00408	0.1977 $\pm$ 0.00153	85.9-105.5	10
4-fenilfenol	0.006- 0.1	0.00127	0.00436	0.5189 $\pm$ 0.00153	90.3- 114.8	10
Aplikasi sampel/ Kepekatan dijumpai (mg/mL, $\pm$ SD, n=3)						
	Lemon	Limau Kasturi	Oren Navel	Mandarin	Limau Gedang	
2-fenilfenol	0.0219 $\pm$ 0.0339	0.0181 $\pm$ 0.0115	0.0185 $\pm$ 0.0070	0.0203 $\pm$ 0.0544	0.0182 $\pm$ 0.0064	10
4-fenilfenol	0.0328 $\pm$ 0.0304	0.0320 $\pm$ 0.0087	0.0322 $\pm$ 0.0086	0.0351 $\pm$ 0.0498	0.0328 $\pm$ 0.0067	10

KESIMPULAN

Kesimpulannya, kajian ini berjaya menunjukkan bahawa gabungan kaedah pengekstrakan mikrocecair-serakan (DLLME) dan spektrofotometri UV-Vis berpotensi sebagai pendekatan analisis yang cekap, sensitif dan mesra alam bagi penentuan 2-fenilfenol dan 4-fenilfenol dalam sampel buah sitrus. Keadaan pengekstrakan optimum diperoleh pada pH 5 dengan penggunaan 1.5 g NaCl sebagai agen 'salting-out', manakala 1.5 mL isopropanol (IPA) dan 1.2 mL diklorometana (DCM) masing-masing bertindak sebagai pelarut penyebar dan pelarut pengekstrak. Kedua-dua analit menunjukkan penyerapan maksimum pada panjang gelombang 245 dan 287 nm. Analisis kromatografi lapisan nipis (TLC) turut menunjukkan bahawa 2-fenilfenol dan 4-fenilfenol dapat dipisahkan dengan baik menggunakan campuran toluena:aseton (8:2, v/v) sebagai fasa bergerak. Sampel jus lemon yang dianalisis secara langsung yang mengandungi sebatian antioksidan pada kepekatan yang rendah akibat kesan pencairan atau variasi semula jadi sampel, menyebabkan keupayaan pemerangkapan radikal DPPH sukar dikesan secara visual. Kepekatan fenilfenol yang ditentukan dalam semua sampel sitrus yang dianalisis didapati jauh lebih rendah berbanding MRL yang ditetapkan, menunjukkan bahawa residu yang dikesan tidak melebihi tahap yang dibenarkan bagi produk sitrus. Hasil kajian kandungan analit dalam buah sitrus menggunakan kaedah DLLME ialah dari 0.0219 mg/mL ke 0.0371 mg/mL. Kaedah yang dibangunkan menunjukkan prestasi analitikal yang memuaskan dengan nilai had pengesanan (LOD) dan had pengkuantifikasian (LOQ) yang rendah, di samping peratus pemulihan masing-masing dalam julat 85.9-105.5% bagi 2-fenilfenol dan 90.3-114.8% bagi 4-fenilfenol. Secara keseluruhannya, hasil kajian ini mengesahkan bahawa kaedah DLLME-UV-Vis berpotensi sebagai alternatif analisis yang praktikal, ekonomi dan pantas untuk pemantauan residu fenilfenol dalam sampel makanan, khususnya dalam sektor keselamatan makanan dan kawalan kualiti produk pertanian.

PENGHARGAAN

Kami ingin merakamkan penghargaan kepada Universiti Kebangsaan Malaysia atas pembiayaan penyelidikan melalui Geran Galakan Penyelidik Muda (GGPM), nombor geran 2024-023, bagi menyokong pelaksanaan kajian ini. Kami juga mengisytiharkan bahawa tiada konflik kepentingan dalam penerbitan kajian ini.

RUJUKAN

- Ahmaruzzaman, M., Mishra, S.R., Gadore, V., Yadav, G., Roy, S., Bhattacharjee, B., Bhuyan, A., Hazarika, B., Darabdhara, J. & Kumari, K. 2024. Phenolic compounds in water: From toxicity and source to sustainable solutions - An integrated review of removal methods, advanced technologies, cost analysis, and future prospects. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 12(3): 112964. doi:10.1016/j.jece.2024.112964
- Australian Industrial Chemicals Introduction Scheme, Department of Health. 2022. *2-Phenylphenol and Salts*.
- Cablé, P.A., Brech, Y.L. & Mutelet, F. 2022. Liquid-liquid extraction of phenolic compounds from aqueous solution using hydrophobic deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids* 366: 120266. doi:10.1016/J.MOLLIQ.2022.120266.
- Cafeo, G., Russo, M., Arena, A., Zoccali, M., Dugo, P. & Mondello, L. 2026. Multi-class supercritical fluid extraction of bioactive compounds from citrus leaves: Development of a unified strategy for phenols, carotenoids, oxygen heterocyclic compounds and tocopherols. *Journal of Chromatography A* 1785: 467263. doi:10.1016/J.CHROMA.2026.467263
- European Commission. 2010. *II Amending Annex II to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as Regards Maximum Residue Levels for 2-Phenylphenol in or on Certain Products (Text with EEA Relevance)*.

- European Food Safety Authority (EFSA). 2017. *Fourth Edition Incorporating the First and Second Addenda Guidelines for Drinking-Water Quality*.
- Herrera-Herrera, A.V., Asensio-Ramos, M., Hernández-Borges, J. & Rodríguez-Delgado, M.Á. 2010. Dispersive liquid-liquid microextraction for determination of organic analytes. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 29(7): 728-751. doi:10.1016/j.trac.2010.03.016
- Jiao, P., Yu, F., Zhang, C., Zhou, Z., Wang, P., Zhang, X., Wei, Y., Yang, P. & Niu, Q. 2026. Extracting citrus peel-derived polyphenols using hydrophobic deep eutectic solvents: Mechanism, optimization, and bioactivity evaluation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 108: 104392. doi:10.1016/J.IFSET.2025.104392
- Ke, C.Z., Wang, N., Li, W.X., Shi, W.Z. & Fei, Z.H. 2017. Adsorption properties of 4-phenylphenol in aqueous solution with adsorption resins chemically modified. *Bulgarian Chemical Communications* 49(3): 635-642.
- Kerr, E., West, C. & Kradtap Hartwell, S. 2016. Quantitative TLC-image analysis of urinary creatinine using iodine staining and RGB values. *Journal of Chromatographic Science* 54(4): 639-646. doi:10.1093/chromsci/bmv183
- Kolbe, N. & Andersson, J.T. 2006. Simple and sensitive determination of O-phenylphenol in citrus fruits using gas chromatography with atomic emission or mass spectrometric detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(16): 5736-5741. doi:10.1021/jf060753q
- Mohammad Fauzan bin Mhd Himmi, Beh Shiuan Yih, Farhanini Yusoff & Noorashikin Md Saleh. 2022. Extraction of phenol from water using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with UV-VIS spectroscopy. *Journal of Analytical Chemistry* 77: 8-17. doi:10.1134/S1061934822010051
- Mohd Marsin Sanagi, Syairah Salleh, Wan Aini Wan Ibrahim, Ahmedy Abu Naim, Dadan Hermawan, Mazidatulakmam Miskam, Iqbal Hussain & Hassan Y. Aboul-Enein. 2013. Molecularly imprinted polymer solid-phase extraction for the analysis of organophosphorus pesticides in fruit samples. *Journal of Food Composition and Analysis* 32(2): 155-161. doi:10.1016/j.jfca.2013.09.001
- Mohd Marsin Sanagi, Hana Hassan Abbas, Wan Aini Wan Ibrahim & Hassan Y. Aboul-Enien. 2012. Dispersive liquid-liquid microextraction method based on solidification of floating organic droplet for the determination of triazine herbicides in water and sugarcane samples. *Food Chemistry* 133(2): 557-562. doi:10.1016/j.foodchem.2012.01.036
- Mokhtari, N., Torbati, M., Farajzadeh, M.A. & Mogaddam, M.R.A. 2020. Synthesis and characterization of phosphocholine chloride-based three-component deep eutectic solvent: Application in dispersive liquid-liquid microextraction for determination of organothiophosphate pesticides. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100(6): 2364-2371. doi:10.1002/jsfa.10203
- Mostafa, A. & Shaaban, H. 2018. Development and validation of a dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of phthalate esters in perfumes using gas chromatography-mass spectrometry. *RSC Advances* 8(47): 26897-26905. doi:10.1039/c8ra03488e
- Muhammad Nur Hafiz Rozaini, Worapon Kiatkittipong, Bahruddin Saad, Noorfatimah Yahaya, Maizatul Shima Shaharun, Sangeetha Siva Sangu, Mohamed Shuaib Mohamed Saheed, Yong Foo Wong, Mardawani Mohamad, Nonni Soraya Sambudi & Jun Wei Lim. 2021. Green adsorption-desorption of mixed triclosan, triclocarban, 2-phenylphenol, bisphenol A and 4-tert-octylphenol using MXene encapsulated polypropylene membrane protected micro-solid-phase extraction device in amplifying the HPLC analysis. *Microchemical Journal* 170: 106695. doi:10.1016/J.MICROC.2021.106695
- My, N.T., Din, N.V. & Van Bay, M. 2022. The prediction of pK_a values for phenolic compounds by the DFT theory. *The University of Danang – Journal of Science and Technology* 20(6.1): 50-57. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://media.neliti.com/media/publications/453589-the-prediction-of-pka-values-for-phenoli-b54493b5.pdf
- Nik Nur Atiqah Nik Wee, Nur Irsalina Mohd Juber, Mohd Nor Faiz Norrahman & Noorashikin M.D. Saleh. 2020. Evaluation and optimization of a new approach on phenol extraction from real water. *Sains Malaysiana* 49(10): 2477-2486. doi:10.17576/jsm-2020-4910-13
- Rezaee, M., Assadi, Y., Hosseini, M.R.M., Aghaee, E., Ahmadi, F. & Berijani, S. 2006. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A* 1116(1-2): 1-9. doi:10.1016/j.chroma.2006.03.007
- Sadrmousavi-Dizaj, A., Xu, D., Zhang, L., Gao, J., Ma, Y. & Wang, Y. 2025. Liquid-liquid equilibria and intermolecular interactions for extraction of 2-methyl phenol, 3-methyl phenol and phenol from water by a ternary hydrophobic deep eutectic solvent. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 167: 105845. doi:10.1016/J.JTICE.2024.105845
- Sanli, I., Ozkan, G. & Şahin-Yeşilçubuk, N. 2025. Green extractions of bioactive compounds from citrus peels and their applications in the food industry. *Food Research International* 212: 116352. doi:10.1016/J.FOODRES.2025.116352

- Sija, S.L., Athulya, A.S., Mahima, M.R. & Vidhya, A. 2019. Antioxidant and antimicrobial activity of different plant parts of *Anacardium occidentale* L. and *Mangifera indica* L.: A comparative study. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 11(4): 111-115. doi:10.25004/ijpsdr.2019.110401
- Wang, Q., Chen, R., Shatner, W., Cao, Y. & Bai, Y. 2019. State-of-the-art on the technique of dispersive liquid-liquid microextraction. *Ultrasonics Sonochemistry* 51: 369-377. doi:10.1016/j.ultsonch.2018.08.010
- Wang, X., Chen, A., Chen, B. & Wang, L. 2020. Adsorption of phenol and bisphenol A on river sediments: Effects of particle size, humic acid, pH and temperature. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 204: 111093. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111093

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: nadhiratulfarihin@ukm.edu.my