

Penentuan kandungan total flavonoid dan fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji

Lolyta Sari br Tampubolon, Enny Fachriyah*, Ngadiwiyan, Ismiyarto, dan Purboswatiningrum

Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto SH, Tembalang, Semarang, Indonesia

*Corresponding author: email: enny.fachriyah@live.undip.ac.id

Abstrak: Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung flavonoid, tanin, saponin, minyak atsiri, triterpenoid dan alkaloid. Flavonoid dan fenolik pada daun jambu biji dipengaruhi oleh lokasi dan lingkungan tumbuhnya. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi tentang kandungan metabolit sekunder, kadar total flavonoid, kadar total fenolik, dan aktivitas antioksidan daun jambu biji yang berasal dari daerah kabupaten Asahan, Sumatera Utara menggunakan pelarut air, etil asetat, dan n-heksana. Kadar total flavonoid ditentukan dengan Kolorimetri AlCl₃, kadar total fenolik ditentukan dengan Folin-Ciocalteu, aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan daun jambu biji mengandung saponin, tanin, kuinon, steroid, triterpenoid, dan flavonoid. Kadar total flavonoid ekstrak etil asetat dan air masing-masing 28,7055 mg QE/g dan 10,6624 mg QE/g. Kadar total fenolik ekstrak etil asetat dan air masing-masing 160,4550 mg GAE/g dan 179,8201 mg GAE/g. Ekstrak etil asetat daun jambu biji memiliki nilai IC₅₀ sebesar 66,23 ppm dan ekstrak air memiliki nilai IC₅₀ sebesar 46,81 ppm. Ekstrak air daun jambu biji memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata kunci: daun jambu biji, flavonoid, fenolik, antioksidan

Determination of flavonoids and phenolics total and antioxidant activity contained in extract guava leaves

Abstract: Guava leaves (*Psidium guajava* L.) is a plant that contains flavonoids, tannins, saponins, essential oils, triterpenoids, and alkaloids. The location and growing environment influence flavonoids and phenolics in guava leaves. This study aimed to obtain information on the content of secondary metabolites, total flavonoid and phenolic content, and antioxidant activity of guava leaves from Asahan district, North Sumatra, using water, ethyl acetate, and n-hexane as solvents. The total flavonoid content was determined by AlCl₃ colorimetry, Folin-Ciocalteu determined the total phenolic content, and the antioxidant activity was determined by the DPPH method. The results of the phytochemical screening test show that guava leaves contain saponins, tannins, quinones, steroids, triterpenoids, and flavonoids. The total flavonoid contents of ethyl acetate and water extract are 28.7055 mg QE/g and 10.6624 mg QE/g. The phenolic contents of ethyl acetate and water extracts are 160.4550 mg GAE/g and 179.8201 mg GAE/g. The IC₅₀ of antioxidation activity is ethyl acetate extract 66.23 ppm and water extract 46.81 ppm. Guava leaf water extract has an extreme antioxidant activity.

Keywords: guajava leaves, flavonoids, phenolics, antioxindants

How to Cite (APA 7th Style): Tampubolon, L. S. br., Fachriyah, E., Ngadiwiyan, Ismiyarto, & Purbowatineringrum. (2023). Penentuan kandungan total flavonoid dan fenolik ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. *Jurnal Penelitian Saintek*, 28(1), 41-49. <https://doi.org/10.21831/jps.v1i1.58488..>

PENDAHULUAN

Jambu biji (*Psidium guajava* L.) adalah tanaman yang mengandung alkaloid, fenolik, steroid, flavonoid, terpenoid, kuinon, dan saponin (Raj, Menon, & Sharma, 2020). Daun jambu biji bermanfaat sebagai antidiabetes (Guspratiwi, Mursyida, & Yulinar, 2019); antioksidan (Bintarti, 2014); antibakteri (Afifi, 2018); dan antidiare (Mazumdar, Akter, & Talukder, 2015). Flavonoid dan fenolik adalah senyawa yang berperan sebagai antioksidan (Hartati, Nadifan, & Fidrianny, 2020). Camarena-Tello *et al.* (2018) melaporkan daun jambu biji memiliki kadar total flavonoid pada ekstrak air sebesar $108,54 \pm 3,54$ mg QE/g, ekstrak aseton sebesar $239,45 \pm 11,32$ mg QE/g, ekstrak kloroform sebesar $107,48 \pm 13,30$ mg QE/g. Kadar total fenolik ekstrak air sebesar $242,10 \pm 13,33$ mg GAE/g, ekstrak aseton sebesar $314,03 \pm 8,05$ mg GAE/g, dan ekstrak kloroform sebesar $71,69 \pm 3,69$ mg GAE/g. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa aktivitas antioksidan disebabkan oleh adanya gugus hidroksil yang bebas yang terkonjugasi seperti pada kuersetin, rutin, asam tanat, dan asam galat (Materska, 2008). Bouchoukh, Hazmoune, Boudelaa, Bensouici, dan Zellagui (2019) melaporkan nilai IC_{50} ekstrak etil asetat daun jambu biji sebesar $4,26 \pm 0,05$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. Simamora, Paramita, Azreen, Santoso, dan Timotius (2019) melaporkan bahwa ekstrak air daun jambu biji memiliki nilai IC_{50} sebesar $74,77 \pm 5,26$ $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Kandungan metabolit sekunder pada daun jambu biji dipengaruhi oleh lokasi dan lingkungan tumbuhnya tanaman. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak etil asetat daun jambu biji yang diambil dari daerah Cianjur, Jawab Barat memiliki kadar total flavonoid sebesar 96,8 mg QE/g dan kadar total fenolik sebesar 84,9 mg GAE/g (Hartati *et al.*, 2020). Daun jambu biji yang diambil dari daerah Meixian, China memiliki kadar total flavonoid pada ekstrak air sebesar 5,12 mg QE/g (Li *et al.*, 2019). Zeng *et al.* (2019) melaporkan bahwa daun jambu biji yang diambil dari daerah Meixian, China memiliki kadar total fenolik pada ekstrak air sebesar 59,82 mg GAE/g. Pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi terhadap daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang bersumber dari daerah kabupaten Asahan, Sumatera Utara. Ekstraksi akan dilakukan menggunakan berbagai pelarut yaitu n-heksana, etil asetat, dan air untuk menentukan kadar total flavonoid dan fenolik serta menguji aktivitas antioksidannya. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi pada pemanfaatan daun jambu biji sebagai sumber flavonoid, fenolik, dan antioksidan.

METODE

Bahan yang digunakan yaitu serbuk simplisia daun jambu biji, akuades, etil asetat teknis, n-heksana teknis, kloroform (Merck), metanol (Merck), alumunium klorida (Merck), feri klorida (Merck), asam klorida (Merck), asam sulfat (Merck), reagen Mayer, reagen Dragendorff, reagen Folin-Ciocalteu (Merck), ammonia (Merck), amil alkohol (Merck), natrium hidroksida (Merck), eter (Merck), anhidrida asetat (Merck), natrium karbonat (Merck), natrium asetat (Merck), logam Mg (Merck), kuersetin (Sigma-Aldrich), asam galat (Sigma-Aldrich), DPPH 1,1-difenil-2-pikrihidrazil *p.a.* (Sigma-Aldrich).

Peralatan yang digunakan yaitu seperangkat alat dekoktasi, *rotary evaporator* RE 100-Pro, *freeze dryer*, spektrofotometer UV-Vis Genesys 10 S, *Water bath* DKS-100, *hot plate* Maspion S-301, timbangan analitik Ohaus PA323, seperangkat alat gelas, spatula, cawan porselen, krus porselen, *rubber bulb*, *aluminium foil*, kain flanel, kertas saring.

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dideterminasi di Laboratorium Ekologi dan Biosistematika Departemen Biologi Universitas Diponegoro. Sampel daun jambu biji diambil

*Penentuan kandungan total flavonoid (*Tampubolon*, L. S. br., dkk.)*

dari daerah kabupaten Asahan, Sumatera Utara. Daun terlebih dahulu dikumpulkan, dicuci, dikeringkan. Sampel yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga diperoleh sebanyak 1800 g serbuk simplisia.

Tahap pembuatan ekstrak sebagai berikut. Sebanyak 600 g simplisia dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana, kemudian residu dikering-anginkan, dan dimaserasi kembali menggunakan pelarut etil asetat. Penggantian pelarut dilakukan setiap 24 jam dengan sesekali diaduk. Sebanyak 500 g simplisia didekoktasi dengan akuades pada suhu 90°C selama 30 menit. Hasil dekoktasi disaring dengan kain flanel, kemudian diambil filtratnya. Filtrat dibekukan dengan *freeze dryer*. Skrining fitokimia meliputi uji saponin, tanin/ fenolik, kuinon, steroid/ terpenoid, flavonoid, dan alkaloid.

Penentuan kadar total flavonoid dilakukan dengan prosedur sebagai berikut. Sebanyak 1 mL ekstrak diambil dan dituangkan ke labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 3 mL metanol *p.a*, 0,2 mL A1C₁, 10%, 0,2 mL CH₃COONa 1M, dan akuades hingga tanda batas, dihomogenkan. Larutan diinkubasi di dalam ruangan gelap selama 30 menit. Larutan diukur absorbansinya pada λ 430 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimum diperoleh dari hasil pengukuran pada rentang 300-600 nm (Fachriyah *et al.*, 2020).

Penentuan kadar total fenolik dilakukan dengan prosedur sebagai berikut. Sebanyak 0,5 mL ekstrak diambil dan dituangkan ke botol vial kemudian ditambahkan 2,5 mL akuades, 2,5 mL reagen Folin-Ciocalteu, dihomogenkan, diinkubasi selama 15 menit di dalam ruangan gelap. Larutan ditambah 2 mL Na₂CO₃, 7,5%, dihomogenkan, diinkubasi kembali selama 30 menit di dalam ruangan gelap. Larutan diukur absorbansinya pada λ 764 nm, merupakan panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari hasil pengukuran pada rentang 400-800 nm (Fachriyah *et al.*, 2020).

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan prosedur sebagai berikut. Sebanyak 1 mL ekstrak dari setiap konsentrasi yang berbeda dituangkan ke botol vial. Pada masing-masing botol vial ditambahkan 3 mL DPPH 0,1mM, dihomogenkan, diinkubasi selama 30 menit di dalam ruangan gelap. Larutan diukur absorbansinya pada λ 516 nm. λ 516 digunakan sebagai panjang gelombang optimum yang diperoleh dari hasil pengukuran panjang gelombang pada rentang 400-800 nm. Konsentrasi larutan uji mereduksi 50% aktivitas radikal bebas DPPH ditentukan dengan nilai IC₅₀ (Fachriyah dkk., 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan mengetahui kebenaran identitas suatu tanaman. Melalui determinasi kekeliruan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tanaman merupakan jambu biji dengan species *Psidium guajava* L..

Sampel dikeringkan dengan cara dikering-anginkan bertujuan mengurangi kadar air simplisia untuk mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur pada saat penyimpanan. Sampel kering dihaluskan dengan tujuan untuk memudahkan penarikan senyawa oleh pelarut. Simplisia inilah yang nantinya akan diekstraksi dengan metode maserasi dan dekoktasi.

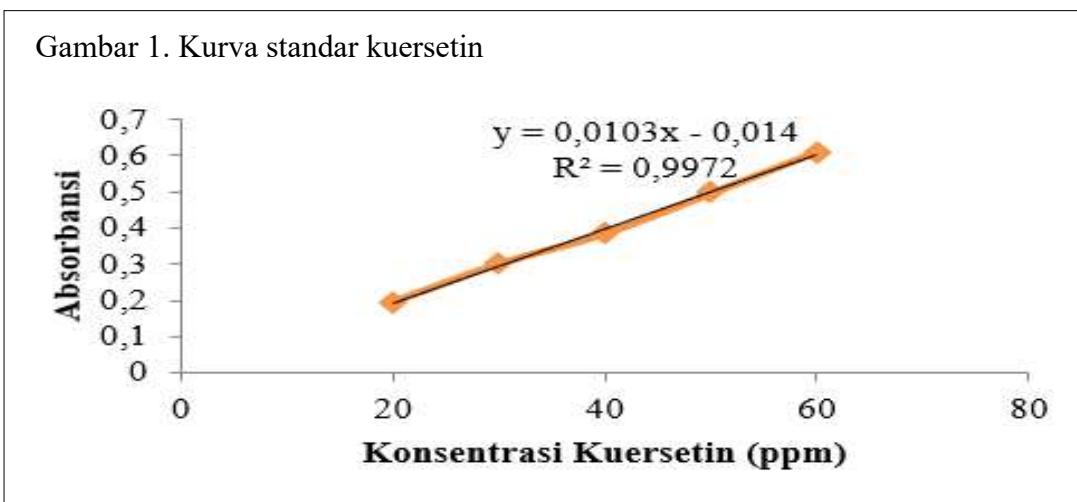
Rendemen hasil ekstraksi simplisia daun jambu biji dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan air masing-masing sebesar 1,58; 5,38; dan 4,58%. Hasil ini dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada masing-masing ekstrak dan didukung oleh hasil skrining fitokimia. Hasil skrining fitokimia simplisia dan ekstrak daun jambu biji dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1
Hasil skrining fitokimia pada simplisia dan ekstrak daun jambu biji

Uji Simplisia	Hasil			
	Simplisia	n-Heksana	Ekstrak Kental	Air
Saponin	+	-	-	+
Tannin/ fenolik	+	-	+	+
Kuinon	+	-	-	-
Steroid	+	-	+	-
Triterpenoid	+	+	-	-
Flavonoid	+	-	+	+
Alkaloid Mayer	-	-	-	-
Dragendroff	-	-	-	-

Prinsip metode AlCl_3 adalah pembentukan senyawa kompleks yang stabil antara reagen AlCl_3 dan gugus keto atom C-4 dan juga gugus hidroksi atom C-3 atau C-4 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. AlCl_3 membentuk senyawa kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa flavonoid golongan flavon dan flavonol. Standar yang digunakan pada penentuan kadar total flavonoid adalah kuersetin dikarenakan penyebarannya yang luas sehingga mudah ditemukan pada berbagai tumbuhan dan merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang membentuk kompleks dengan AlCl_3 (Kelly, 2011). Pembentukan kompleks mengakibatkan adanya pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) yang ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi lebih kuning. Penambahan CH_3COONa bertujuan menghasilkan pergeseran serapan dan intensitas puncak absorbansi yang lebih kuat (Pękal & Pyrzynska, 2014). Kurva standar kuersetin dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil penentuan kadar total flavonoid ekstrak etil asetat dan ekstrak air masing-masing $28,7055 \pm 0,34$ mg QE/g dan $10,6624 \pm 0,29$ mg QE/g. Kadar total flavonoid daun jambu biji yang lebih tinggi diperoleh dari ekstrak etil asetat. Hal ini disebabkan golongan flavonoid

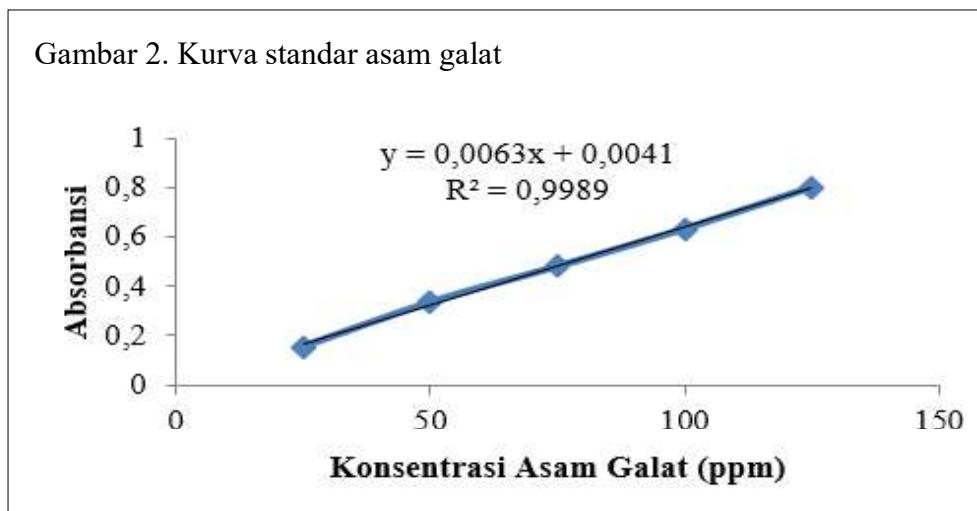


yang terdapat dalam daun jambu biji adalah flavon (Maulana, Asih, & Arsa, 2016) dan flavonol (Rivai, Putriani, & Mahyuddin, 2010). Flavon dan flavonol merupakan aglikon yang kurang polar sehingga cenderung lebih mudah larut dalam pelarut kurang polar seperti etil asetat. Hasil pada penelitian ini lebih rendah dari penelitian Hartati *et al.* (2020). Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan metode ekstraksi yang digunakan. Metode ekstraksi yang digunakan oleh Hartati *et al.* (2020) adalah refluks. Refluks merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya. Pemanasan dapat meningkatkan tumbuhan sehingga memudahkan penarikan senyawa dari sampel yang diekstraksi.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara merendam sampel menggunakan pelarut di dalam wadah tertutup selama jangka waktu tertentu (Srivastava *et al.*, 2021). Ekstraksi dengan maserasi tidak melalui proses pemanasan. Kadar total flavonoid ekstrak air ($10,6624 \pm 0,29$ mg QE/g) pada penelitian ini lebih tinggi dari hasil Li dkk. (2019). Hal ini kemungkinan terjadi oleh karena adanya perbedaan lokasi tumbuhnya tanaman yang digunakan sebagai sampel. Sampel pada penelitian ini diambil dari daerah kabupaten Asahan, Sumatera Utara yang berada pada ketinggian 20 mdpl dengan suhu rata-rata 31°C . Sampel pada penelitian Li dkk. (2019) diambil dari daerah Meixian, China yang berada pada ketinggian 1273 mdpl dengan suhu rata-rata 27°C . Kondisi lingkungan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi biosintesis metabolit sekunder tanaman (Utomo, 2020). Berbagai faktor lingkungan yang mempengaruhi di antaranya seperti serangan hama, ketinggian (Utomo, 2020), nutrisi (Larsson dkk., 1986). Ketinggian merupakan salah satu cekaman abiotik dengan adanya perubahan faktor lingkungan seperti curah hujan, suhu rata-rata, karakteristik tanah dan tekanan atmosfer (Zidorn, 2010). Semakin tinggi cekaman suhu pada lingkungan, maka semakin tinggi pula kadar total flavonoid dan fenolik yang dihasilkan oleh tanaman (Utomo, 2020). Hal itu merupakan proses dari adaptasi tanaman untuk bertahan hidup di lingkungan yang merugikan.

Sampel yang ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu menghasilkan warna kuning yang menunjukkan adanya senyawa fenolik. Standar yang digunakan pada penentuan kadar total fenolik adalah asam galat dikarenakan asam galat merupakan salah satu fenolik alami, stabil, dan banyak ditemukan pada tanaman. Selain itu, asam galat juga termasuk dalam senyawa fenolik dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenolik sederhana (Sembiring dkk., 2018). Kurva standar asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.

Kadar total fenolik ekstrak etil asetat dan ekstrak air masing-masing $160,4550 \pm 2,56$ mg GAE/g dan $179,8201 \pm 4,92$ mg GAE/g. Kadar total fenolik daun jambu biji pada penelitian ini jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kadar total flavonoidnya. Hal ini dikarenakan flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik sehingga flavonoid juga ikut terakumulasi dalam penentuan kadar total fenoliknya. Kadar total fenolik ekstrak daun jambu biji lebih tinggi diperoleh dari ekstrak air. Hal ini kemungkinan senyawa fenolik yang diperoleh dari daun jambu biji adalah asam galat, asam klorogenat, dan kuersetin (Zeng dkk., 2019), avicularin, kaempferol, asam protokatekuat (Le dkk., 2021). Senyawa-senyawa tersebut memiliki gugus hidroksil dan karboksil sehingga meningkatkan kelarutannya dalam air. Kadar total fenolik ekstrak etil asetat pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan penelitian Hartati dkk. (2020). Kadar total fenolik ekstrak air pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Simamora dkk. (2018). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya perbedaan lokasi tumbuhnya tanaman yang digunakan sebagai sampel. Sampel pada penelitian ini berasal dari daerah dengan ketinggian yang lebih rendah dibandingkan dengan sampel pada Hartati dkk. (2020) dan Simamora dkk.



(2018). Sampel pada penelitian ini diambil dari daerah kabupaten Asahan, Sumatera Utara yang berada pada ketinggian 20 mdpl dengan suhu rata-rata 31°C. Hartati dkk. (2020) menggunakan daun jambu biji yang bersumber dari Cianjur, Indonesia pada ketinggian 392 mdpl dengan suhu rata-rata 28°C. Simamora dkk. (2018) menggunakan daun jambu biji yang bersumber dari Merawang, Indonesia pada ketinggian 31 mdpl dengan suhu rata-rata 24°C. Ketinggian merupakan salah satu cekaman abiotik dengan adanya perubahan faktor lingkungan seperti curah hujan, suhu rata-rata, karakteristik tanah dan tekanan atmosfer (Zidorn, 2010). Semakin tinggi cekaman suhu yang berada pada lingkungan, maka semakin tinggi pula kadar total flavonoid dan fenolik yang dihasilkan oleh tanaman (Utomo, 2020). Hal itu merupakan proses dari adaptasi tanaman untuk bertahan hidup di lingkungan yang merugikan.

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH. Standar yang digunakan pada penelitian ini adalah kuersetin. Nilai IC₅₀ dari kuersetin adalah 6,93 ppm. Nilai IC₅₀ yang kecil menandakan bahwa kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Pada penelitian ini, ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ 66,34 ppm dan ekstrak air memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 46,81 ppm.

Sejumlah penelitian telah menunjukkan pengaruh kadar total flavonoid dan fenolik terhadap aktivitas antioksidan. Maulana dkk. (2016) melaporkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun jambu biji, maka semakin tinggi pula %peredaman radikal DPPH. Blois (1958) melaporkan bahwa antioksidan dikatakan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ < 50 mg/L, kuat apabila nilai IC₅₀ sebesar 50-100 mg/L, dan lemah apabila nilai IC₅₀ > 150 mg/L. Pengaruh kadar total flavonoid dan fenolik terhadap aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat (66,23 ppm) pada penelitian ini lebih lemah dibandingkan dengan hasil Bouchoukh dkk. (2019). Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh kadar total fenolik pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan kadar total fenolik pada penelitian Bouchoukh dkk. (2019). Ekstrak air pada penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan penelitian Simamora dkk. (2018) Hal ini kemungkinan disebabkan karena kadar total fenolik pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan Simamora dkk. (2018). Hasil ini mengungkapkan bahwa daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan dapat menjadi kandidat yang baik untuk pengembangan antioksidan alami.

*Penentuan kandungan total flavonoid (*Tampubolon*, *L. S. br.*, dkk.)*

Tabel 2

Pengaruh kadar total flavonoid dan fenolik terhadap aktivitas antioksidan

Sampel	Kadar Total Flavonoid (mg QE/g)	Kadar Total Fenolik (mg GAE/g)	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak etil asetat	28,7055 ± 0,34	160,4550 ± 2,56	66,23
Ekstrak etil asetat*	269,57 ± 0,10	931,15 ± 0,06	4,26 ± 0,05
Ekstrak air	10,6624 ± 1,15	179,8201 ± 4,92	46,81
Ekstrak air**	-	114,81 ± 8,25	74,77

Sumber: *Bouchoukh dkk. (2019)

**Simamora dkk. (2018)

SIMPULAN

Daun jambu biji mengandung saponin, tanin, kuinon, steroid, triterpenoid, dan flavonoid. Kadar total flavonoid ekstrak etil asetat dan air masing-masing 28,7055 mg QE/g dan 10,6624 mg QE/g. Kadar total fenolik ekstrak etil asetat dan air masing-masing 160,4550 mg GAE/g dan 179,8201 mg GAE/g. Ekstrak air daun jambu biji memiliki nilai IC₅₀ sebesar 46,81 ppm dan ekstrak etil asetat memiliki nilai IC₅₀ sebesar 66,23 ppm. Melalui penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak air daun jambu biji memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifi, R. (2018). Uji anti bakteri ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap zona hambat bakteri jerawat *propionibacterium acnes* secara in vitro. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husalatarbda: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 17(2), 321-330.
- Bintarti, T. (2014). Skrining fitokimia dan uji kemampuan sebagai antioksidan dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Ilmiah PANNMED (Pharmacist, Analyst, Nurse, Nutrition, Midwivery, Environment, Dentist)*, 9(1), 40-44.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, 1199-1200
- Bouchoukh, I., Hazmoune, T., Boudelaa, M., Bensouici, C., & Zellagui, A. (2019). Anticholinesterase and antioxidant activities of foliar extract from a tropical species: *Psidium guajava* l.(myrtaceae) grown in Algeria, *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 32(3), 160-167
- Camarena-Tello, J. C., Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, Ma. G., Padilla-Ramírez, J. S., Saavedra-Molina, A., Alvarez-Cortes, O., Bartolomé-Camacho, M. C., & Rodiles-López, J. O. (2018). Quantification of phenolic compounds and in vitro radical scavenging abilities with leaf extracts from two varieties of *Psidium guajava* L. *Antioxidants*, 7(3), 34. DOI: 10.3390/antiox7030034.
- Fachriyah, E., Kusrini, D., Haryanto, I. B., Wulandari, S. M. B., Lestari, W. I., & Sumariyah, S. (2020). Phytochemical test, determination of total phenol, total flavonoids and antioxidant activity of ethanol extract of *Moringa* leaves (*Moringa oleifera* Lam). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 23(8), 290-294.

- Guspratiwi, R., Mursyida, E., & Yulinar, Y. (2019). Pengaruh ekstrak etanol 96% daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap kadar gula darah tikus wistar jantan (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi aloksan, *Collaborative Medical Journal (CMJ)*, 2(3), 106-116.
- Hartati, R., Nadifan, H. I., & Fidrianny, I. (2020). Crystal guava (*Psidium guajava* L.“Crystal”): Evaluation of in vitro antioxidant capacities and phytochemical content. *The Scientific World Journal*, 2020, 1-7.
- Kelly, S. G. (2011). Alternative medicine review’. *Journal Quersetin*, 16(2), 172-194.
- Larsson, S., Wirén, A., Lundgren, L., dan Ericsson, T. (1986). Effects of light and nutrient stress on leaf phenolic chemistry in *Salix dasyclados* and susceptibility to *Galerucella lineola* (Coleoptera), *Oikos*, 205-210
- Le, T. B., Le, T. D., Nguyen, T. T., Do, X. C., Du Lam, C., Bui, N. A., Nguyen, H. T. L, Tran, N. G. H & Bui, T. B. H. (2021). Chemical composition and antioxidant activity of *Psidium guajava* L. leaves. *Can Tho University Journal of Science*, 13(3), 66-70
- Leszczyński, B., Warchoł, J., dan Niraz, S. (1985). The influence of phenolic compounds on the preference of winter wheat cultivars by cereal aphids, *International Journal of Tropical Insect Science*, 6(2), 157-158
- Li, J., Wu, C., Li, F., Yu, R., Wu, X., Shen, L., Liu, Y., & Zeng, W. (2019). Optimization of ultrasound-assisted water extraction of flavonoids from *Psidium guajava* leaves by response surface analysis. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49(1), 21-29.
- Materska, M. (2008). Quercetin and its derivatives: Chemical structure and bioactivity-a review. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 58(4), 407-413.
- Maulana, E. A., Asih, I. A., & Arsa, M. (2016). Isolasi dan uji aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* Linn), *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 10(1), 161-168.
- Mazumdar, S., Akter, R., & Talukder, D. (2015). Antidiabetic and antidiarrhoeal effects on ethanolic extract of *Psidium guajava* (L.) Bat. leaves in wister rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1), 10-14.
- Raj, A., Menon, V., & Sharma, N. (2020). Phytochemical screening, antimicrobial, antioxidant and cytotoxic potential of different extracts of *Psidium guajava* leaves. *Vegetos*, 33(4), 750-758.
- Pękal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay, *Food Analytical Methods*, 7, 1776-1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>.
- Rivai, H., Putriani, L., & Mahyuddin, M. (2010). Karakterisasi flavonoid antioksidan dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Farmasi Higea*, 2(2), 127-136. <http://dx.doi.org/10.52689/higea.v2i2.34>.
- Sembiring, E. N., Elya, B. dan Sauriasari, R. (2018). Phytochemical screening, total flavonoid and total phenolic content and antioxidant activity of different parts of *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb, *Pharmacognosy journal*, 10(1), 123-127.
- Simamora, A., Paramita, L., Azreen, N., Santoso, A. W., dan Timotius, K. H. (2018). In vitro antidiabetic and antioxidant activities of aqueous extract from the leaf and fruit of *Psidium guajava* L. *The Indonesian Biomedical Journal*, 10(2), 156-164.
- Srivastava, N., Singh, A., Kumari, P., Nishad, J. H., Gautam, V. S., Yadav, M., Bharti, R., Kumar, D., & Kharwar, R. N. (2021). Advances in extraction technologies: Isolation and

*Penentuan kandungan total flavonoid (*Tampubolon*, *L. S. br.*, dkk.)*

- purification of bioactive compounds from biological materials. Dalam R. P. Sinha & D-P. Hader (Eds.), *Natural bioactive compounds* (pp. 409-433). Academic Press.
- Utomo, D. S., Kristiani, E. B. E., dan Mahardika, A. (2020). Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid, Fenolik, Klorofil, Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*), *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 22(2), 143-149
- Zeng, W., Li, F., Wu, C., Ge, Y., Yu, R., Wu, X., Shen, L., & Li, J. (2019). Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction of polyphenols from *Psidium guajava* leaves using response surface methodology. *Separation Science and Technology*, 55(4), 728-738.
- Zidorn, C. (2010). Altitudinal variation of secondary metabolites in flowering heads of the Asteraceae: trends and causes, *Phytochemistry reviews*, 9(2), 197-203.