Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 13, No. 2, 2008, halaman 79 - 85
Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 49/DIKTI/Kep/2003

ISSN : 1410 – 0177

Pengaruh Perbandingan Etanol-Air Sebagai Pelarut Ekstraksi Terhadap Perolehan Ekstaktif, Kadar Senyawa Fenolat Dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* Linn.)

Harrizul Rivai[1,*], Hazli Nurdin[2], Hamzar Suyani[2] dan Amri Bakhtiar[1]

[1] Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang
[2] Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Andalas, Padang

Diterima tanggal : 8 Juli 2009 disetujui : 31 Juli 2008

Abstract

An effect of ethanol-water ratio as extraction solvent in gaining an extract, phenolic content and antioxidant activity of *Psidium guajava* Linn. leaves have been investigated. The ethanol-water ratio tested were 100:0, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50 and 40:60 respectively. Results revealed that the ethanol-water ratio had significant effect on extractive obtainability, phenolic content and antioxidant activity ($p<0,05$). Among the ethanol-water ratio tested, the best result was obtained by ethanol-water ratio 50:50 as extraction solvent for *Psidium guajava* Linn. leaves.

Keywords : Antioxidant, *Psidium guajava* Linn., extraction solvent, phenolic compounds.

Pendahuluan

Jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) adalah salah satu tumbuhan obat Indonesia yang telah lama digunakan secara turun-temurun untuk pengobatan berbagai penyakit seperti antidiare, astringens dan menghentikan perdarahan (Ditjen POM, 1989), disentri, haid tidak lancar, keputihan, mencret, pencernaan tidak baik pada anak-anak, radang usus, sariawan usus, panu (obat luar) dan sakit kulit (obat luar) (Sudibyo, 1998). Daun jambu biji telah terbukti mempunyai berbagai efek farmakologis, antara lain analgesik (Lutterodt & Malique, 1988; Shaheen *et al.*, 2000; Ojewole, 2006), antiinflamasi (Ojewole, 2005), antimutagenik (Grover & Bala, 1993), antidiare (Almeida *et al.*, 1995; Lutterodt *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2003; Goncalves *et al.*, 2005; Salgado *et al.*, 2006; Belemtougri *et al.*, 2006; Kamath *et al.*, 2008), antibatuk (Jaiarj *et al.*, 1999), antibakteri (Jaiarj *et al.*, 1999; Lutterodt *et al.*, 1999; Nascimento *et al.*, 2000; Vieira *et al.*, 2001; Arima & Danno, 2002; Holetz *et al.*, 2002; Limsuwan *et al.*, 2005; Voravuthikunchai & Kitpipit, 2005; Akinpelu & Onakoya, 2006; Rattanachaikunsopon & Phumkhachorn, 2007; Nair & Chanda, 2007; Chansue *et al.*, 2007; Kamath *et al.*, 2008), antijamur (Sato *et al.*, 2000), antiplak gigi (Razak *et al.*, 2006), menekan inotropisme otot jantung (Garcia *et al.*, 2003), antidiabetes (Oh *et al.*, 2005; Ojewole, 2005; Kamath *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2009), anticestoda (Tangpu & Yadav, 2005, 2006), antihipertensi (Ojewole, 2005; Belemtougri *et al.*, 2006; Olatunji-Bello *et al.*, 2007), hepatoprotektif (Roy *et al.*, 2006; Kamath *et al.*, 2008), antikoagulan (Hsieh *et al.*, 2007) dan antioksidan (Qian & Nihorimbere, 2004; Abreu *et al.*, 2006; Tachakittirungrod *et al.*, 2007a,b; Chen & Yen, 2007; Wang *et al.*, 2007; Ayoola *et al.*, 2008; Kamath *et al.*, 2008). Malahan daun jambu biji telah terbukti secara klinis menghambat pertumbuhan rotavirus yang menyebabkan enteritis pada anak-anak (Wei *et al.*, 2000) dan menyembuhkan kejang dan penyakit diare akut (Lozoya *et al.*, 2002).

Efek farmakologis tersebut disebabkan oleh berbagai kandungan kimia dalam daun jambu biji seperti senyawa fenolat, flavonoid, karotenoid, terpenoid dan triterpen (Gutierrez *et al.*, 2008; Kamath *et al.*, 2008). Ekstrak kental daun jambu biji mengandung kuersitrin, minyak atsiri, tanin, β-sitosterol dan asam guaiakolat (Badan POM, 2004). Selain itu berbagai kajian fitokimia telah menemukan kandungan kimia daun jambu biji yang lebih rinci, antara lain senyawa fenolat total 575,3 mg/g daun kering (Qian & Nihorimbere, 2004), kuersetin 0,181 – 0,393% (El Sohafy *et al.*, 2009), morin, morin-3-O-liksosida, morin-3-O-arabinosa, kuersetin dan kuersetin-3-0-arabinosida (Arima & Danno, 2002; Rattanachaikunsopon & Phumkhachorn, 2007), guaijavarin (Arima & Danno, 2002), guajadial (Yang *et al.*, 2007), asam ferulat (Chen & Yen, 2007)

Karena pentingnya daun jambu biji dalam pengobatan, maka mutu, keamanan dan kemanfaatannya harus ditingkatkan melalui penelitian dan pengembangan. Untuk meningkatkan

mutu, keamanan dan kemanfaatan daun jambu biji sebagai obat bahan alam Indonesia, perlu dilakukan standardisasi terhadap bahan bakunya, baik yang berupa simplisia maupun yang berbentuk ekstrak atau sediaan galenik. Salah satu faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak tumbuhan obat adalah konsentrasi pelarut yang digunakan untuk ekstraksi (Gaedcke *et al.*, 2003). Pelarut yang dapat digunakan untuk membuat ekstrak daun jambu biji adalah campuran etanol dan air (Badan POM, 2004). Namun perbandingan pelarut dan air untuk ekstraksi belum dioptimasi. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menentukan perbandingan etanol dan air yang cocok untuk ekstraksi senyawa fenolat dari daun jambu biji sehingga didapat ekstrak yang bermutu baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan pelarut etanol dan air yang cocok untuk memperoleh ekstrak daun jambu biji yang bermutu baik. Paramater mutu ekstrak daun jambu biji yang diukur adalah perolehan ekstraktif (rendemen ekstrak), kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidannya (Ditjen POM, 2000).

Metode Penelitian

- **Bahan Tumbuhan**

  Daun jambu biji dikumpulkan dari daerah sekitar kampus Universitas Andalas, Limau Manih, Padang pada bulan Juli 2009. Tumbuhan ini diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas dan spesimennya disimpan di Laboratorium Kimia Farmasi, Universitas Andalas dengan Nomor Koleksi HR-20090702.

- **Bahan Kimia**

  Natrium karbonat p.a. (Merck), asam galat (Sigma), etanol p.a (Merck), Reagen Folin-Ciocalteau (Merck), DPPH (Sigma), etanol p.a. (Merck), metanol p.a. (Merck) dan air suling.

- **Alat**

  Seperangkat alat rotary evaporator (Buchi®), oven (Memmert®), timbangan analitik (Shimadzu® AUX 220) dan alat spektrofotometer UV–Visibel (Shimadzu® 1240).

- **Pengeringan daun jambu biji**

  Daun jambu biji dicuci dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu ± 40 °C sampai kadar air < 10%. Pengeringan daun jambu biji dalam oven pada suhu 40 °C adalah cara pengeringan yang terbaik sesuai dengan penelitian terdahulu.

- **Ekstraksi daun jambu biji dengan pelarut etanol-air.**

  Bagian-bagian daun jambu biji kering ditimbang masing-masing 5 gram dan direndam masing-masing dengan 50 mL campuran etanol-air dengan perbandingan masing-masing 100:0, 80:20, 70:30, 60:40, dan 50:50 selama 24 jam sambil sekali-sekali diaduk. Maserat dipisahkan dan sisanya dimaserasi lagi dengan pelarut yang sama sampai tersari sempurna. Masing-masing maserat digabung lalu diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu <50°C sampai kental. Sebelum dianalisis, masing-masing ekstrak dilarutkan dalam labu ukur sampai 50 mL dengan campuran air suling : metanol (1:1).

- **Penentuan kadar ekstraktif (rendemen)**

  Penentuan kadar ekstraktif (rendemen ekstrak) yang diperoleh dengan berbagai perbandingan pelarut etanol-air di atas dilakukan menurut metode WHO (1998) sebagai berikut: Larutan ekstrak yang telah disiapkan dengan cara di atas dipipet sebanyak 10 mL ke dalam piring penguap yang telah ditara. Pelarutnya diuapkan di atas penangas air sampai kering. Sisanya dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang segera. Pengeringan dan penimbangan diulangi beberapa kali sampai diperoleh bobot konstan. Kadar ekstraktif (rendemen) dinyatakan sebagai mg ekstrak per gram simplisia kering (mg/g).

- **Penentuan kadar senyawa fenolat total**

  Kadar senyawa fenolat total dalam larutan ekstrak daun jambu biji ditentukan dengan pereaksi Folin-Ciocalteau menggunakan prosedur yang dipakai Pourmorad *et al.* (2006). Larutan encer masing-masing ekstrak daun jambu biji (0,5 mL, ekstrak 1:10) atau larutan asam galat (senyawa fenolat standar) dicampur dengan pereaksi Folin-Ciocalteau (5 mL, diencerkan 1:10 dengan air suling) dan larutan natrium karbonat (4 mL, 1 M). Campuran tersebut dibiarkan selama 15 menit dan kadar senyawa fenolat ditentukan dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 765 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kurva standar dibuat dengan menggunakan larutan standar asam galat dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 125 µg/mL dalam metanol-air (1:1). Kadar senyawa fenolat total dinyatakan sebagai mg setara asam galat per gram simplisia kering (mg/g).

- **Pengukuran Aktivitas Antioksidan**

  Aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji ditentukan dengan metode DPPH yang

digunakan oleh Mosquera *et al.* (2009). Masing-masing ekstrak encer daun jambu biji sebanyak 1 mL dicampur dengan 2 mL larutan DPPH (20 mg/L) yang baru dibuat. Masing-masing campuran itu dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar di tempat gelap. Kemudian serapan masing-masing campuran itu diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Sebagai blanko, digunakan larutan yang dibuat dengan mencampurkan 1 mL metanol-air (1:1) dengan 2 ml larutan DPPH (20 mg/L). Untuk meniadakan serapan ekstrak pada panjang gelombang ini, sampel blanko dibuat dengan mencampurkan 1 ml ekstrak dengan 2 ml metanol-air (1:1). Persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$Aktivitas\ Antioksidan(\%) = \frac{A_{kontrol} - A_{ekstrak}}{A_{kontrol}} x100\%$$

Di sini $A_{kontrol}$ adalah serapan larutan DPPH tanpa ekstrak, $A_{ekstrak}$ adalah serapan ekstrak uji yang sama dengan serapan ekstrak tumbuhan obat + DPPH dikurangi dengan serapan ekstrak blanko tanpa DPPH.

Nilai IC_{50} ekstrak tumbuhan obat ditentukan dengan mengukur persentase aktivitas antioksidan larutan ekstrak tumbuhan dengan konsentrasi 100, 50, 25, 12,5 dan 6,76 mg/mL melalui analisis regresi linear. Nilai IC_{50} dihitung sebagai kadar (mg/mL) larutan ekstrak tumbuhan obat yang menyebabkan aktivitas antioksidan sebesar 50%.

- **Analisis Statistika**

  Data percobaan dianalisis dengan menggunakan analisis variansi satu arah dan perbedaan antar rata-rata setiap perlakuan ditentukan dengan uji rentang berganda Duncan dengan menggunakan program komputer *SPSS for Windows Version 10.0*. Nilai P kecil dari 0,05 dianggap mempunyai perbedaan yang signifikan secara statistik

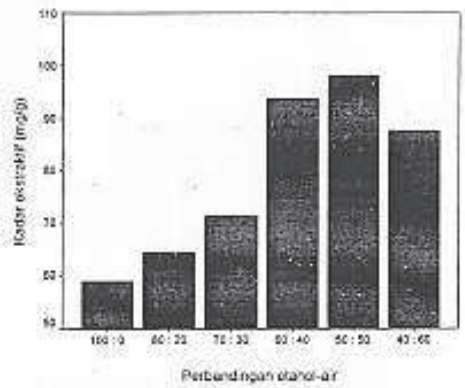
Hasil Dan Diskusi

- **Validasi metode analisis senyawa fenolat total**

  Pengukuran kadar senyawa fenolat total dalam ekstrak daun jambu biji kering dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteau yang telah digunakan sebelumnya oleh Pourmorad *et al.* (2006) untuk penentuan kadar senyawa fenolat dalam tumbuhan obat di Iran. Agar metode itu dapat dipakai dalam penelitian ini, unjuk kerja dan validasi metode tersebut harus dievaluasi terlebih dahulu karena sampel yang dipakainya berbeda dari yang dipakai dalam penelitian ini. Kriteria yang digunakan untuk mengevaluasi metode analisis disebut *figures of merit* (Mitra dan Brukh, 2003). Hasil evaluasi dan validasi metode tersebut menunjukkan persamaan regresi hubungan antara serapan (y) dan kadar senyawa fenolat (x) sebagai y = 0,0158 + 0,0064 x, dengan koefisien korelasi r = 0,9967, rentang linearitas 25 – 125 µg/mL, batas deteksi 11,172 µg/mL, batas kuantisasi 37,240 µg/mL, perolehan kembali 97% dan simpangan baku relatif 0,24%. Hasil evaluasi tersebut menunjukkan bahwa metode analisis untuk menentukan kadar senyawa fenolat secara spektrofotometri dengan pereaksi Folin-Ciocalteau mempunyai ketepatan dan ketelitian yang tinggi sesuai dengan batas-batas unjuk kerja yang baik (Harmita, 2004).

- **Pengaruh perbandingan pelarut etanol-air terhadap perolehan kadar ekstraktif dari daun jambu biji**

  Tabel I memperlihatkan kadar ekstraktif yang diperoleh dari daun jambu biji kering yang diekstraksi dengan berbagai perbandingan etanol-air. Penurunan perbandingan etanol-air sampai 50:50 menyebabkan peningkatan kadar ekstraktif sampai 97,87 ± 1,01 mg/g. Namun demikian, penurunan perbandingan etanol-air lebih lanjut sampai 40:60 akan menurunkan kembali perolehan kadar ekstraktif menjadi 87,57 ± 2,78mg/g. Uji statistik menunjukkan bahwa perbandingan pelarut etanol-air berpengaruh nyata ($p<0,05$) terhadap perolehan kadar ekstraktif dari daun jambu biji. Namun demikian perbandingan etanol-air 60:40 tidak berbeda nyata dengan perbandingan etanol-air 50:50 ($p>0,05$). Karena itu, perbandingan pelarut etanol-air yang optimum untuk memperoleh kadar ekstraktif yang tertinggi dari daun jambu biji adalah 50:50 (lihat Gambar 1).

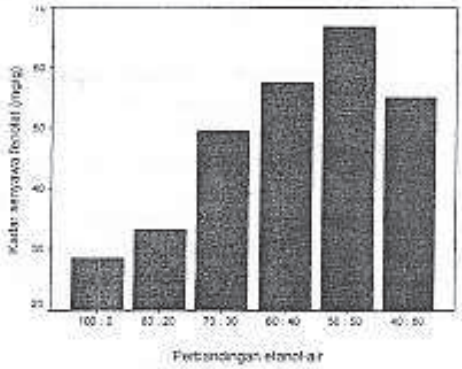


Gambar 1. Pengaruh perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi terhadap perolehan kadar ekstraktif dari daun jambu biji

Tabel 1. Pengaruh perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi terhadap perolehan kadar ekstraktif, kadar senyawa fenolat total dan aktivitas antioksidan dari daun jambu biji

Perbandingan etanol-air	Kadar ekstraktif (mg/g)*	Kadar Fenolat (mg/g)*	IC50 (mg/mL)
100 : 0	$58,97 \pm 4,85^a$	$28,53 \pm 0,30^a$	7,702
80 : 20	$64,23 \pm 1,50^b$	$33,16 \pm 0,12^b$	7,503
70 : 30	$71,27 \pm 1,21^c$	$49,44 \pm 0,30^c$	7,313
60 : 40	$93,80 \pm 1,97^d$	$57,60 \pm 1,18^d$	7,287
50 : 50	$97,87 \pm 1,01^d$	$66,88 \pm 0,43^e$	7,033
40 : 60	$87,57 \pm 2,78^e$	$55,06 \pm 0,09^f$	7,917

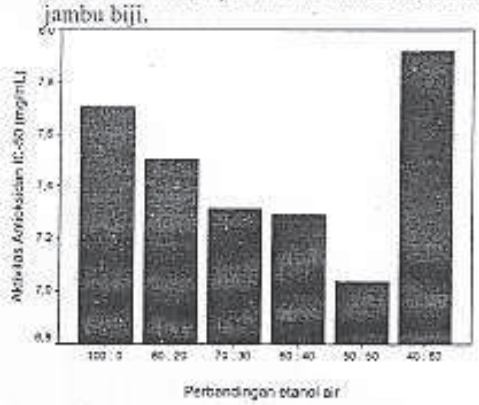
* Kadar dihitung dalam satuan mg per g berat kering, nilai rata-rata ± SD, n = 3; nilai yang mempunyai angka superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)



Gambar 2. Pengaruh perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi terhadap perolehan kadar senyawa fenolat dari daun jambu biji

- **Pengaruh perbandingan pelarut etanol-air terhadap aktivitas antioksidan dari daun jambu biji**

Tabel I memperlihatkan perbandingan pelarut etanol-air terhadap aktivitas antioksidan daun jambu biji.



Gambar 3. Pengaruh perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari daun jambu biji

Pengurangan perbandingan etanol-air dari 100:0 menjadi 80:20 sebagai pelarut untuk ekstraksi daun jambu biji menyebabkan peningkatan aktivitas antioksidan dari IC_{50} 7,702 mg/mL menjadi 7,503 mg/mL.

Semakin tinggi angka IC_{50} semakin rendah aktivitas antioksidan. Pengurangan perbandingan etanol-air lebih lanjut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan, namun perbandingan etanol-air yang optimum adalah 50:50 (Gambar 3).

Kesimpulan

Perbandingan etanol-air sebagai pelarut ekstraksi untuk daun jambu biji mempunyai pengaruh yang nyata ($p<0.05$) terhadap perolehan ekstraktif, kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan. Perbandingan etanol-air yang optimum untuk memperoleh kadar ekstraktif, kadar senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan yang tertinggi dari daun jambu biji adalah 50:50. Perbandingan etanol-air 60:40 tidak berbeda nyata ($p>0,05$) pengaruhnya terhadap perolehan ekstraktif dengan perbandingan etanol air 50:50 sebagai pelarut ekstraksi.

Daftar Pustaka

Abreu, P.R.C., Almeida, M.C., Bernardo, R.M., Bernardo, L.C., Brito, L.C., Garcia, E.A.C., Fonseca, A.S., and Bernardo-Filho, M., 2006, Guava extract (*Psidium guajava*) alters the labelling of blood constituents with technetium-99m, *J. Zhejiang Univ. Science B*, 7(6), 429-435

Akinpelu, D.A., and Onakoya, T.M., 2006, Antimicrobial activities of medicinal plants used in folklore remedies in south-western, *Afr. J. Biothenol.*, 5(11), 1078-1081

Almeida, C.E., Karnikowski, M.G.O., Foleto, R., and Baldisserotto, B., 1995, Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in

popular medicine, *Rev. SaudePublica*, 29(6), 428-433

Arima, H., and Danno, G., 2002, Isolation of antimicrobial compounds from guava (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66(8), 1727-1730

Ayoola, G.A., Coker, H.A.B., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A.A., Obaweya, K., Wzennia, E.C., and Atangbayila, T.O., 2008, Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria, *Trop. J. Pharm. Res.*, 7(3), 1019-1024

Badan POM, 2004, *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Volume 1, Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.

Belemtougri, R.G., Constantin, B., Cognard, C., Raymond, G., and Sawadago, L., 2006, Effects of two medicinal plants *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) and *Diospyros mespiliformis* L. (Ebenaceae) leaf extracts on rat skeletal muscle cells in primary culture, *J. Zhejiang Univ. Science B*, 7(1), 56-63

Chansue, N., Aroonseang, S., Assawawongkasem, N., and Tangtongpirot, J., 2007, Antimicrobial effects of guava leaf (*Psidium guajava* Linn.) extract against *Aeromonas hydrophila* in fancy carp (*Cyprinus carpio*), *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 29(Suppl.1), 69-81

Chen, H.Y., and Yen, G.C., 2007, Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves, *Food Chemistry*, 101(2), 686-694

Ditjen POM, 1989, *Vademikum Bahan Obat Alam*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia

Ditjen POM, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia

El Sohafy, S.M., Metwalli, A.M., Harraz, F.M., and Omar, A.A., 2009, Quantification of flavonoids of *Psidium guajava* L. preparations by planar chromatography (HPTLC), *Pheog Mag.*, 4(17), 61-66

Gaedcke, F., Steinhoff, B. and Blasius, H., 2003, *Herbal Medicinal Products: Scientific and Regulatory Basis for Development, Quality Assurance and Marketing Authorisation*, Stuttgart: Medpharm Scientific Publisher

Garcia, E.A., Nascimento, V.T., and Santos, A.B.S., 2003, Inotropic effects of extracts of *Psidium guajava* L. (guava) leaves on the guinea pig atrium, *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 36, 661-668

Goncalves, J.L.S., Lopes, R.C., Olivera, D.B., Costa, S.S., Miranda, M.M.F.S., Romanos, M.T.V., Santos, N.S.O., and Wigg, M.D., 2005, In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea, *J. Ethnopharmacol.*, 99, 403-407

Grover, I.S., and Bala, S., 1993, Studies on antimutagenic effect of Guava (*Psidium guajava*) in *Salmonella typhimurium*, *Mutat. Res.*, 300(1), 1-3

Gutierrez, P.M.P., Mitchell, S., and Solis, R.V., 2008, *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology, *J. Ethnopharmacol.*, 117(1), 1-27

Harmita, 2004, Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117-135

Holetz, F.B.H., Pessini, G.L., Sanches, N.R., Cortez, D.A.G., Nakamura, C.V., and Filho, B.P.D., 2002, Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 97, 1-5

Hsieh, C.L., Lin, Y.C., Yen, G.C., and Chen, H.Y., 2007, Preventive effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaves and its active compounds against α-dicarbonyl compounds-induced blood coagulation, *Food Chemistry*, 103(2), 528-535

Jaiarj, P., Khoohaswan, P., Wongkrajang, Y., Peungvicha, P., Suriyawong, P., Saraya, M.L.S., and Ruangsomboon, O., 1999, Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract, *J. Ethnopharmacol.*, 67(2), 203-212

Kamath, J.V., Rahul, N., Kumar, C.K.A., and Lakshmi, S.M., 2008, *Psidium guajava* L: a review, *Int. J. Green Pharmacy*, 2(1), 9-12

Limsuwan, S., Vanmanee, S., and Voravuthikunchai, S., 2005, Effect of Thai medicinal plant extracts on cell aggregation of *Escherichia coli* O157:H7, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 27(Suppl. 2), 545-554

Lozoya, X., Reyes-Morales, H., Chavez-Soto, M.A., Martinez-Garcia, M.C., Soto-Gonzales, Y., and Doubova, S.V., 2002, Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease, *J Etnopharmacol.*, 83(1-2), 19-24

Lutterodt, G.D., and Maleque, A., 1988, Effects on mice locomotor activity of a narcotic-like principle from *Psidium guajava* leaves, *J. Ethnopharmacol.*, 24(2-3), 219-231

Lutterodt, G.D., Ismail, A., Basheer, R.H., and Baharudin, H.M., 1999, Antimicrobial effects of *Psidium guajava* extract as one mechanism of its antidiarrhoeal action, *Malaysian J. Med. Sci.*, 6(2), 17-20

Mitra, S., and Brukh, R., 2003, Sample Preparation: An Analytical Perspective, in *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, (Ed: Mitra, S.), New York: John Wiley & Sons, Inc., 1-36

Mosquera, O. M., Correa, Y.M., and Nino, J., 2009, Antioxidant activity of plants extract from Colombian flora, *Braz. J. Pharmacogn.*, 19(2A), 382-387

Nair, R., and Chanda, S., 2007, *In-vitro* antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. leaf extracts against clinically important pathogenic microbial strains, *Brazilian J. Microbiol.*, 38, 452-458

Nascimento, G.G.F., Locatelli, J.L., Freitas, P.C., and Silva, G.L., 2000, Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria, *Brazilian J. Microbiol.*, 31, 247-256

Oh, W.K., Lee, C.H., Lee, M.S., Bae, E.Y., Sohn, C.B., Oh, H., Kim, B.Y., and Ahn, J.S., 2005, Antidiabetic effects of extracts from *Psidium gyajava*, *J. Ethnopharmacol.* 96(3), 411-415

Ojewole, J.A., 2005, Hypoglycemic and hypotensive effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 27(10), 689-695

Ojewole, J.A.O., 2006, Anti-inflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava* Linn. (Mysrtaceae) leaf aqueous extracts in rats and mice, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 28(7), 441

Olatunji-Bello, I.I., Odusanya, A.J., Raji, I., and Ladipo, C.O., 2007, Contractile effect of the aqueous extract of *Psidium guajava* leaves on aortic rings in rat, *Fitoterapia*, 78(3), 241-243

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajd, N., 2006, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants, *Afr. J. Biotechnol.*, 5(11),1142-1145

Qian, H., and Nihorimbere, V., 2004, Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf, *J. Zhejiang Univ. Sci.*, 5(6), 676-683

Rattanachaikunsopon, P., and Phumkhachorn, P., 2007, Bacteriostatic effect of flavonoids from leaves of *Psidium guajava* on fish pathogens, *Fitoterapia*, 78(6), 434-436

Razak, F.A., Othman, R.Y., and Rahim, Z.H.A., 2006, The effect of *piper betle* and *Psidium guajava* extracts on the cell-surface hydrophobicity of selected early settlers of dental plaque, *J. Oral Sci.*, 48(2), 71-75

Roy, C.K., Kamath, J.V., and Asad, M., 2006, Hepatoprotective activity of *Psidium guajava* Linn. leaf extract, *Indian J. Exp. Biol.*, 44(4), 305-311

Salgado, H.R.N., Roncari, A.F.F., Michelin, D.C., and Moreira, R.R.D., 2006, Evaluation of antidiarrhoeal effects of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) aqueous leaf extract in mice, *J. Bas. Appl. Pharm. Sci.*, 27(1), 89-92

Sato, J., Goto, K., Nanjo, F., Kawai, S., and Murata, K., 2000, Antifungal activity of plant extracts against *Arthroninum sacchari* and *Chaetomium funicola*, *J. Biosci. Bioeng.*, 90(4), 442-446

Shaheen, H.M., Ali, B.H., Alqarawi, A.A., and Bashir, A.K., 2000, Effect of *Psidium guajava* leaves on some aspects of the central nervous system in mice, *Phytother Res.*, 14(2), 107-111

Sudibyo, M., 1998, *Alam Sumber Kesehatan: Manfaat dan Kegunaan*, Jakarta: Balai Pustaka

Tachakittirungrod, S., Okonogi, S., and Chowwanapoonpohn, S., 2007a, Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract, *Food Chemistry*, 103(2), 381-388

Tachakittirungrod, S., Ikegami, F., and Okonogi, S., 2007b, Antioxidant active principles isolated from *Pidium guajava* grown in Thailand, *Sci. Pharm.*, 75, 179-193

Tangpu, T.V., and Yadav, A.K., 2005, Anticestodal efficacy of folklore medicinal plants of Naga Tribes in North-East India, *Afr. J. Trad. CAM*, 2(2), 129-133

Tangpu, T.V., and Yadav, A.K., 2006, Anticestodal efficacy of *Psidium guajava* against experimental *Hymenolepis diminuta* infection in rats, *Indian J. Pharmacol.*, 38(1), 29-32

Vieira, R.H.S.F., Rodrigues, D.P., Goncalves, F.A., Menezes, F.G.R., Aragao, J.S., and Sousa O.V., 2001, Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* Linn. and *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children, *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 43(3), 145-148

Voravuthikunchai, S., and Kitpipit, L., 2005, Antibacterial activity of crude extracts of Thai medicinal plants against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylicoccus aureus*, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 27(Suppl. 2), 525-534

Wang, B., Jiao, S., Liu, H., and Hong, J., 2007, Study on antioxidative activities of *Psidium guajava* Linn. leaves extracts, *Wei Sheng Yan Jiu*, 36(3), 298-300

Wei, L., Li, Z., and Chen, B., 2000, Clinical study on treatment of infantile rotaviral enteritis

with *Psidium guajava* L., *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 20(12), 893-895

WHO, 1998, *Quality control Methods for medicinal plant materials*, Geneva : World Health Organization.

Wu, J.W., Hsieh, C.L., Wang, H.Y., and Chen, H.Y., 2009, Inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extracts and its active compounds on the glycation process of protein, *Food Chemistry*, 113(1), 78-84

Yang, X.L., Hsieh, K.L., and Liu, J.K., 2007, Guajadial: an unusual meroterpenoid from guava leaves *Psidium guajava*, *Organic Letters*, 9(24), 5135-5138

Zhang, W.J., Chen, B.T., Wang, C.Y., Zhu, Q.H., and Mo, Z.X., 2003, Mechanism of quercetin as an antidiarrheal agent, *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 23(10), 1029-1031