

Isolasi dan Identifikasi Flavonoid pada Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk) menggunakan Metode *High Performance Liquid Chromatografi* (HPLC)

Amanda Pratiwi Sugeha¹, Rizky Resvita R. Bahi^{2*}, Moh. Rivaldi Mappa³

^{1,2,3} Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Institut Kesehatan dan Teknologi Graha Medika, Indonesia

Open Access Freely Available Online

Dikirim: 29 Mei 2026

Direvisi: 29 Juni 2026

Diterima: 30 Juni 2026

*Penulis Korespondensi:

E-mail:

resvitabahi@gmail.com

ABSTRAK

Daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk) secara tradisional dimanfaatkan sebagai obat herbal karena mengandung senyawa bioaktif yang berperan secara farmakologis. Di Kotamobagu daun bidara digunakan untuk mengatasi diare, pusing, dan pembengkakan, serta diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang berkaitan dengan kandungan flavonoid. Namun, data ilmiah mengenai profil flavonoidnya masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis dan profil kromatogram flavonoid dalam ekstrak daun bidara menggunakan metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Tahapan penelitian meliputi metode kualitatif yaitu maserasi, skrining fitokimia, fraksinasi, KLT, kromatografi kolom, dan KLTP. Analisis kuantitatif dilakukan menggunakan HPLC dengan detektor UV-Vis (DAD) 260 nm, kolom C₁₈, dan fase gerak asam format 0,1% dalam air (90%) serta asetonitril (10%) pada laju alir 1 mL/menit secara isokratik. Hasil menunjukkan nilai %RSD 0,22% dan memenuhi syarat linearitas baik R² sebesar 0,965% pada puncak kromatogram sampel dan pembanding kuarsetin dengan sekali injeksi muncul pada waktu retensi 3,095 menit yang mendekati standar kuarsetin 3,022 menit, sehingga teridentifikasi senyawa golongan flavonoid jenis kuarsetin.

Kata kunci: Daun Bidara, Flavonoid, *High Performance Liquid Chromatography*, Kotamobagu, *Ziziphus mauritiana* Lamk

ABSTRACT

Bidara leaves (Ziziphus mauritiana Lamk) have traditionally been used as herbal medicine because they contain bioactive compounds that have pharmacological roles. In Kotamobagu, bidara leaves are used to treat diarrhea, dizziness, and swelling, and are known to have antioxidant activity related to their flavonoid content. However, scientific data on their flavonoid profile is still limited. This study aims to identify the types and chromatogram profiles of flavonoids in bidara leaf extracts using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The research steps include qualitative methods such as maceration, phytochemical screening, fractionation, TLC, column chromatography, and preparative TLC. Quantitative analysis is carried out using HPLC with a UV-Vis (DAD) 260 nm detector, C18 column, and a mobile phase of 0.1% formic acid in water (90%) and acetonitrile (10%) at a flow rate of 1 mL/min isocratically. The results showed a %RSD value of 0.22% and met the linearity requirements with an R² of 0.965% at the chromatogram peaks of the sample and quercetin standard, with a single injection appearing at a retention time of 3.095 minutes, close to the quercetin standard at 3.022 minutes, thus identifying it as a flavonoid compound of the quercetin type.

Keywords: Flavonoids, *High Performance Liquid Chromatography*, Jujube Leaves, Kotamobagu, *Ziziphus mauritiana* Lamk

PENDAHULUAN

Tanaman obat tradisional telah menjadi bagian penting dalam pengobatan tradisional yang telah diterapkan di berbagai negara, termasuk

Indonesia. Pemanfaatan tanaman untuk pengobatan di dasarkan pada kandungan senyawa bioaktif yang berperan dalam aktivitas farmakologis. Contoh tanaman yang sering

dimanfaatkan secara turun-temurun untuk pengobatan yaitu bidara. Tanaman bidara, merupakan tanaman yang tersebar luas di kawasan beriklim tropis dan telah dimanfaatkan oleh masyarakat secara empiris untuk berbagai tujuan pengobatan (Ulfa, 2024). Dibeberapa daerah, termasuk Kota Kotamobagu, Sulawesi Utara, daun bidara dimanfaatkan sebagai obat diare, pusing, dan pembengkakan, sedangkan bagian akar digunakan untuk mengatasi flu, kejang, dan gangguan pencernaan. Selain itu, buah bidara dilaporkan memiliki potensi sebagai agen antikanker dan penyembuh luka (Afiya *et al.*, 2025). Berdasarkan kajian farmakologis, daun bidara diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, antijamur, antipiretik dan antidiabetik yang mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid.

Flavonoid adalah senyawa aktif yang berfungsi penting dalam aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antimikroba yang mampu menangkal radikal bebas (Fikamilia, 2020). Dari segi struktur, flavonoid tersusun oleh dua cincin aromatik yang terhubung oleh tiga atom karbon dan menghasilkan cincin heterosiklik (cincin piran) (Alfaridz & Amalia, 2022). Senyawa flavonoid terdapat pada berbagai bagian tanaman contohnya pada akar, bunga, daun, buah serta biji pada seluruh metabolit sekunder tanaman, serta mengandung flavonoid tertinggi sekitar 0,66% yang ditemukan dalam daun bidara (Maulana, 2018). Meskipun pemanfaatan daun bidara telah digunakan secara luas oleh masyarakat, akan tetapi penggunaan daun bidara dalam pengobatan tradisional sering kali tidak dibuktikan dengan data ilmiah yang kuat terkait kandungan bioaktifnya yaitu flavonoid yang masih terbatas (Ulfa, 2024). Beberapa penelitian menyatakan bahwa ekstrak daun bidara menunjukkan aktivitas biologis yang cukup signifikan, namun senyawa flavonoid yang bertanggung jawab terhadap aktivitas tersebut belum teridentifikasi dengan baik (Maiza *et al.*, 2022). Menurut Rosydiati dan Saleh, (2019) menyatakan bahwa mengidentifikasi senyawa flavonoid dalam ekstrak daun bidara menggunakan salah satu metode yaitu, HPLC.

Metode HPLC bekerja berdasarkan perbedaan interaksi senyawa dengan fase diam dan fase gerak, sehingga setiap komponen memiliki waktu retensi yang khas. Keunggulan HPLC meliputi sensitivitas maupun selektivitas yang lebih tinggi untuk memisahkan dan mengidentifikasi senyawa flavonoid yang lebih akurat dan spesifik, durasi analisis relatif cepat, penggunaan sampel dengan volume yang minim,

kemampuan dalam melakukan karakterisasi senyawa organik dan anorganik, dengan kolom yang bersifat reversibel (Rosydiati & Saleh, 2019). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penggunaan kolom C₁₈ pada analisis flavonoid mampu menghasilkan pemisahan yang baik dengan waktu retensi mendekati standar pembanding seperti rutin, isokuersetin, dan kuersetin (Sinurat *et al.*, 2019).

Berdasarkan uraian tersebut penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid pada daun bidara (*Ziziphus mauritana* Lamk) menggunakan metode HPLC, sehingga diperoleh data ilmiah yang dapat mendukung pemanfaatan tanaman bidara secara rasional, aman, dan berbasis bukti ilmiah.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Pada studi ini, dilakukan metode eksperimental yaitu pendekatan *true experimental* pada penelitian ekstrak daun bidara dengan melihat senyawa flavonoid jenis apa yang terkandung menggunakan metode HPLC.

Penelitian ini di laksanakan dari bulan November 2025 sampai Januari 2026, di Laboratorium Biologi, Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Teknologi Graha Medika Kotamobagu.

Jumlah dan cara pengambilan subjek

Populasi sasaran pada studi ini yaitu daun bidara yang didapatkan dari Kelurahan Motoboi Kecil, Kecamatan Kotamobagu Selatan, Sulawesi Utara. Teknik pengambilan sampel menggunakan *non probability convenience* sampling berdasarkan pertimbangan peneliti, tetapi sampel masih diambil pada lokasi yang sudah ditentukan.

Persiapan Sampel

Simplisia daun bidara dibersihkan dengan air mengalir agar kotoran yang menempel dapat hilang. Kemudian dilakukan perajangan dan pengeringan untuk mendapatkan simplisia kering. Simplisia kering dihaluskan dengan menggunakan blender lalu diayak dengan mesh ukuran 60 hingga menjadi serbuk. Serbuk simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi, dengan cara merendam serbuk daun bidara sebanyak 50 gram dalam pelarut etanol 96% kedalam wadah sampai terendam sambil dilakukan pengadukan menggunakan *mechanical stirrer* dan diamkan dalam wadah tertutup selama 3x24 jam agar senyawa dapat tertarik dengan sempurna. Maserat kemudian difiltrasi dengan kertas saring. Residu yang didapat dievaporasi diatas *water bath* dengan

suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak yang pekat. Hasil ekstraksi kemudian dianalisis untuk menentukan kandungan flavonoid.

Uji Kualitatif Skrining Fitokimia

Ditimbang 1 gram ekstrak daun bidara dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, larutkan dalam 5 ml etanol 96%, lalu ditambahkan pereaksi 0,1 gram serbuk Mg dan HCL pekat sebanyak 4-5 tetes kedalam tabung reaksi, dihomogenkan dan diamati perubahan warna. Dikatakan positif jika ekstrak mengalami perubahan warna menjadi merah, jingga, ataupun kuning (Masliyah *et al.*, 2021).

Fraksinasi

Dilarutkan 5 gram ekstrak pekat daun bidara dalam 100 ml etanol 96%, kemudian larutan dimasukkan ke dalam corong pemisah, dan ditambahkan 100 ml pelarut n-heksan lalu digojok kemudian di diamkan hingga terbentuk pemisahan antara dua fase. Lapisan yang terbentuk selanjutnya dipisahkan dan diuapkan menggunakan *water bath*

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Larutkan ekstrak kental daun bidara ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa kapiler dengan campuran eluen n-heksana : etil asetat dengan rasio (8:2). Selama proses elusi berlangsung, chamber dipertahankan dalam keadaan tertutup rapat hingga mencapai batas atas plat, lalu diambil, dikeringkan dan diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm.

Kromatografi Kolom

Pemisahan kolom dilakukan menggunakan teknik basah dimana silika gel digunakan sebagai fase diam dan n-heksana : etil asetat (8:2) sebagai eluen. Fraksi yang menunjukkan pola noda terbaik kemudian dilanjutkan ke tahap KLTP.

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Hasil fraksi kromatogram kolom ditotolkan di permukaan plat KLTP yang diaktivasi sebelumnya pada temperatur 105°C selama waktu 30 menit menggunakan oven, lalu lempeng KLTP dielusi menggunakan pelarut terbaik yaitu n-heksana : etil asetat (8:2). Kemudian lempeng

KLTP dikeringkan dan diamati dibawah sinar uv 245 nm dan 366 nm.

Uji kuantitatif HPLC Pembuatan Larutan Standar Baku Pembanding Kuarsetin

Sebanyak 10 mg kuarsetin ditimbang lalu dilarutkan dalam metanol hingga volume 10 ml dalam labu ukur untuk memperoleh larutan induk 1000 ppm. Lalu larutan induk diambil 1 mL dan diencerkan hingga mencapai 10 ml hingga diperoleh larutan 100 ppm. Pada larutan 100 ppm dipipet 0,2 mL selanjutnya diencerkan hingga 2 mL sehingga diperoleh larutan 10 ppm yang kemudian digunakan untuk membuat seri konsentrasi 2, 4, 8, dan 10 ppm sebagai kurva kalibrasi pada analisis HPLC.

Penentuan Kondisi Optimum HPLC

Pengujian kesesuaian sistem dilakukan dengan menginjeksikan larutan baku kuarsetin 2 ppm ke dalam sistem HPLC sebanyak empat kali replikasi. Kemudian dihitung rata-rata %RSD terhadap waktu retensi dan luas area baku pembanding kuarsetin agar dapat dilanjutkan ketahap validasi metode.

Uji Linearitas

Uji linearitas dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi dari kromatogram larutan standar kuarsetin konsentrasi 2, 4, 8 dan 10 ppm menggunakan sistem HPLC yang telah ditetapkan. Kurva kalibrasi dibuat dengan membandingkan nilai AUC kromatogram pada sumbu y terhadap konsentrasi larutan standar kuarsetin pada sumbu x, kemudian dihitung persamaan regresi linear beserta koefisien korelasinya (Sukmawati *et al.*, 2019).

Pengolahan dan analisis data

Hasil yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk kromatogram, tabel waktu retensi, gambar, narasi, serta pembahasan. Selanjutnya, ditarik kesimpulan mengenai validitas metode analisis menggunakan sistem HPLC berdasarkan hasil uji yang memenuhi persyaratan validasi.

HASIL

Tabel 1

Hasil rendamen yang diperoleh

Berat Sampel (gr)	Pelarut (mL)	Berat Ekstrak (gr)	Rendamen (%)
50	400	5,90	11,8

Ekstraksi Simplisia

Berdasarkan tabel 1 menyajikan hasil ekstrak rendamen dari berat sampel daun bidara sebesar 50 gram, yang telah diekstraksi menggunakan eluen etanol 96% sebanyak 400 mL dan memperoleh bobot ekstrak pekat sebesar 5,90 gram dengan hasil presentase rendamen 11,8%.

Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Bidara

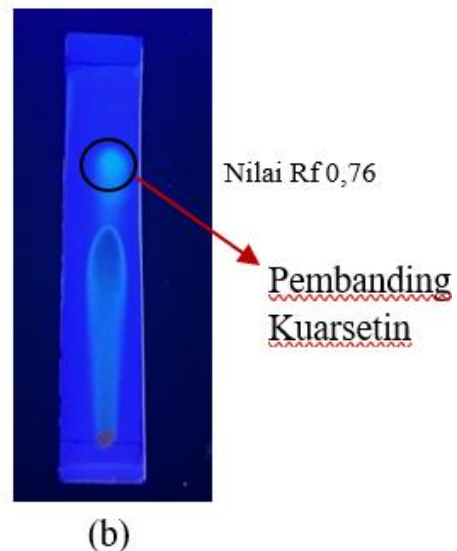
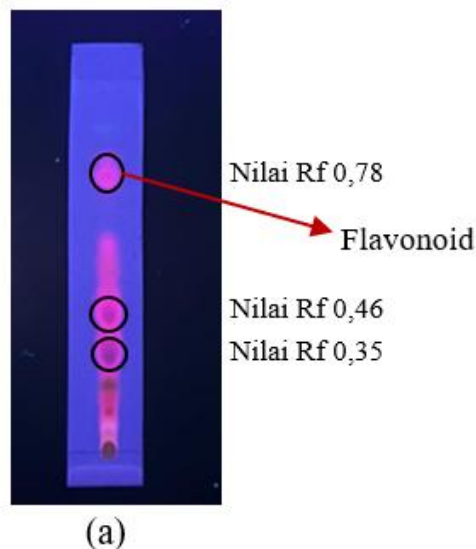
Tabel 2

Hasil skrining fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Hasil uji	Ket.
Flavonoid	Mg+HCl	Kuning kemerahan	Positif

Tabel 2 menyajikan uji skrining fitokimia dari ekstrak daun bidara dengan penambahan

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

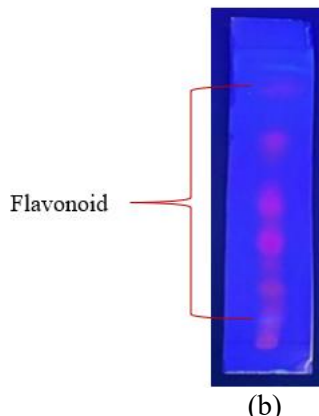


Gambar 1. (a) Hasil uji KLT ekstrak etanol daun bidara pada lampu UV 366 nm; (b) Pembanding Kuarsetin

Berdasarkan gambar 1 merupakan hasil pemisahan dari noda ekstrak etanol daun bidara menggunakan KLT yang di monitoring

menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dengan eluen n-heksana : etil asetat (8:2).

Kromatografi Kolom (KK)



Gambar 2. (a) Hasil fraksi dari kromatografi kolom; (b) Hasil uji KLT fraksi kromatografi kolom

pereaksi magnesium serbuk dan HCL pekat menunjukkan hasil positif senyawa flavonoid dengan perubahan warna dari hijau menjadi kuning kemerahan atau jingga.

Fraksinasi

Tabel 3

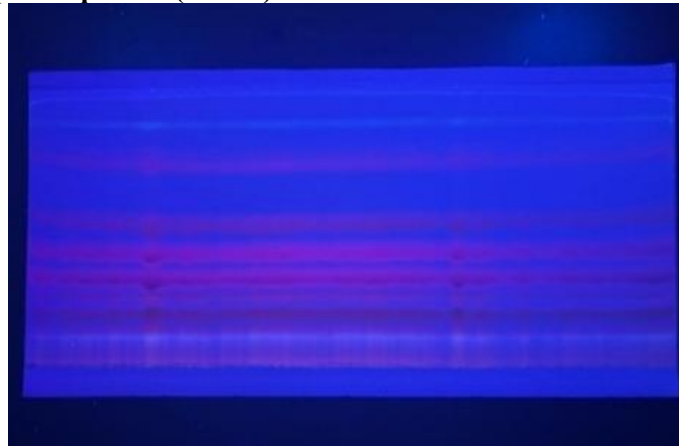
Hasil fraksinasi ekstrak daun bidara

Pelarut Penyari	Berat Ekstrak	Warna Ekstrak
N-heksana (non-polar)	0,72 gram	Hijau Tua
Etanol (polar)	7,3 gram	Hijau Tua

Proses dari hasil fraksi kromatografi kolom yang terlampir pada gambar 2 dilakukan menggunakan metode basah dan dielusi dengan perbandingan eluen n-heksan dan etil asetat (8:2).

Hasil fraksi selanjutnya dimonitoring menggunakan KLT dengan noda yang diduga adalah flavonoid.

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)



Gambar 3. Hasil uji KLTP yang disinari lampu UV 366 nm

Hasil uji kromatografi lapis tipis preparatif pada gambar 3 merupakan penampilan lempeng KLTP yang diamati dengan sinar UV 366 nm. Berdasarkan hasil tersebut terlihat jelas adanya senyawa flavonoid yang berfluoresensi membentuk warna merah mudah, orange, biru muda, merah, kuning dan hijau (Mufidah *et al*, 2025).

Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Ekstrak Daun Bidara Menggunakan Metode HPLC

Analisis kuantitatif kandungan flavonoid pada ekstrak daun bidara dilaksanakan dengan metode HPLC dengan detektor UV-Vis (DAD) pada panjang gelombang 260 nm pada volume injeksi 10 µl dan waktu analisis yang ditetapkan selama 5 menit menggunakan kuarsetin sebagai pembanding. Pemilihan panjang gelombang didasarkan pada karakteristik kuarsetin yang memiliki serapan maksimal pada rentang 250-370 nm sistem cincin aromatik dan gugus kromofor flavonoid (Shen *et al*, 2022). Pada perhitungan kurva baku dengan konsentrasi standar flavonoid dalam sampel daun bidara pada rentang konsentrasi yang dipilih 2-10 ppm, karena hubungan antara konsentrasi dan luas area tetap sesuai (Sholehah *et al.*, 2024).

Uji Kesesuaian Sistem (SST)

Sebelum analisis sampel dilakukan, akan dilakukan terlebih dahulu uji kesesuaian sistem untuk memastikan instrumen HPLC berada dalam

kondisi stabil dan bekerja dengan baik. Hasil kesesuaian sistem disajikan pada tabel 4.

Tabel 4
Hasil Uji Kesesuaian Sistem

Parameter	Hasil
Rata-rata waktu retensi	3,05 menit
%RSD waktu retensi	0,22%
Rata-rata area	0,071 mAU-min
%RSD area	36,209%
%RSD amount	11,208%

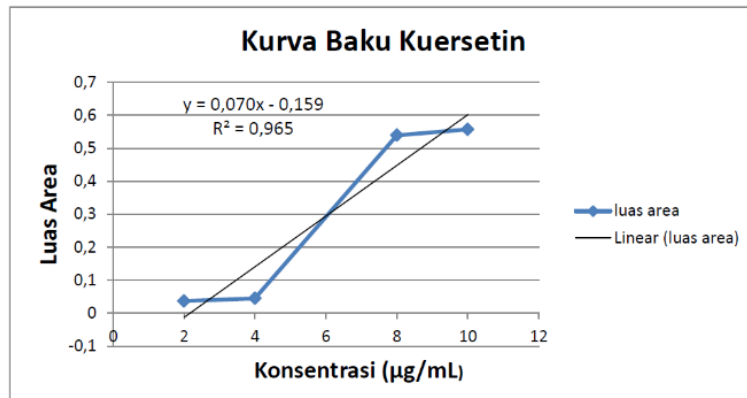
Linearitas Kurva Kalibrasi

Tabel 5
Hasil Uji Linearitas Baku Kuarsetin

Konsentrasi (ppm)	Waktu Retensi	Luas Area
2	3,038	0,037
4	3,040	0,045
8	2,985	0,557
10	2,982	0,539

Pada tabel diatas konsentrasi dan luas area yang diukur diplotkan pada kurva regresi dan dihasilkan $a = 0,159$, $b = 0,070x$, dan $R^2 = 0,965$.

Pada grafik persamaan regresi linear melalui kurva baku kalibrasi standar kuarsetin diperoleh persamaan regresi area puncak yaitu, $y = 0,070x - 0,159$ dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,965% pada waktu retensi standar 3,011 menit. Nilai R^2 tersebut menunjukkan adanya korelasi linear yang cukup kuat antara konsentrasi dan luas area.



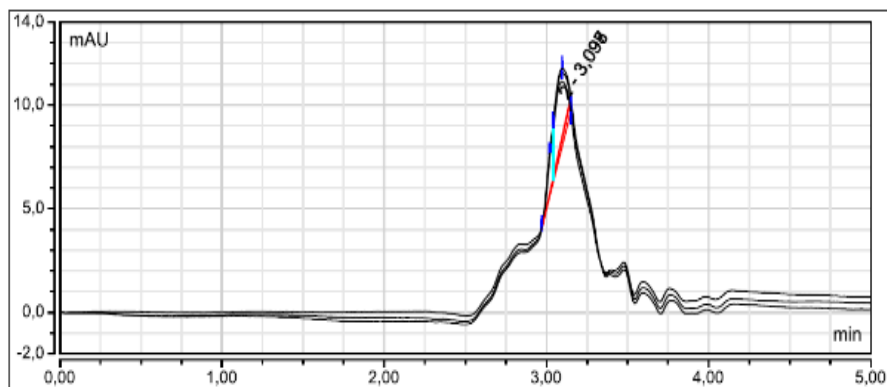
Gambar 4. Grafik persamaan regresi linear kurva baku kuersetin

Analisis Sampel Ekstrak Daun Bidara Menggunakan HPLC

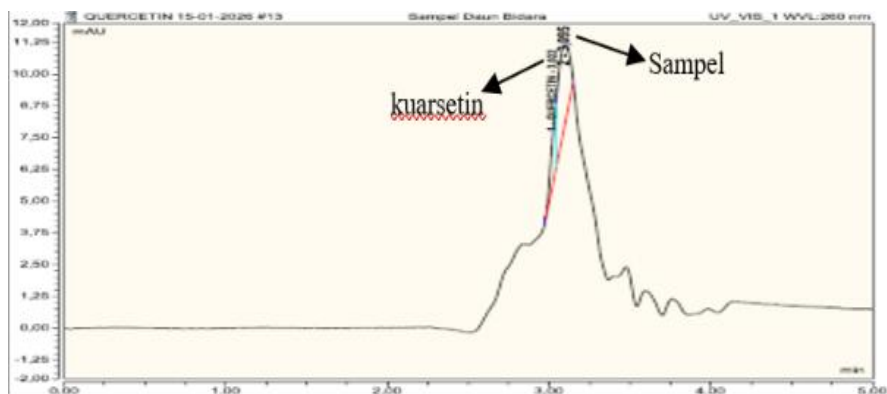
Tabel 6

Kadar kuersetin ekstrak daun bidara menggunakan HPLC

No	Nama	Waktu Retensi (Menit)	Kadar Kuersetin
1	Sampel daun bidara	3,022	3,481
2	Sampel daun bidara	3,018	3,515
3	Sampel daun bidara	3,017	3,572
	Rata-Rata	3,02	3,523
	RSD (%)		1,311%



(a) Puncak kromatogram sampel daun bidara tiga kali replikasi



(b) Puncak kromatogram sampel dan standar kuersetin dengan sekali injeksi

Gambar 5. Puncak kromatogram sampel daun bi dara dan standar kuersetin

PEMBAHASAN

Determinasi tanaman menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian adalah daun bidara dengan nama latin *Ziziphus mauritiana* lamk.

Simplisia daun bidara sebanyak 50 gram diekstraksi dengan eluen etanol 96% sebanyak 400 ml menggunakan metode dingin, yaitu maserasi hingga seluruh sampel terendam. Metode maserasi ini dipilih karena tidak melibatkan pemanasan sehingga dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil seperti flavonoid (Asworo & Widwastuti, 2023). Pelarut etanol 96% digunakan pada penelitian ini karena sifatnya yang selektif, tidak menimbulkan efek toksik, penyerapannya optimal dan kemampuan melarutkan senyawa yang tinggi sehingga dapat mengisolasi senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Menurut penelitian sebelumnya menyatakan bahwa etanol digunakan sebagai eluen karena bersifat universal, polar, dan tersedia dengan mudah (Rathore *et al.*, 2021).

Berdasarkan data hasil rendamen yang diperoleh pada (tabel 1) didapatkan ekstrak pekat dari hasil ekstraksi daun bidara yaitu 5,90 gram dengan persen rendamennya yaitu 11,8%. Hal ini sesuai dengan standar pedoman Kemenkes RI, (2017), yang menyatakan bahwa syarat hasil rendamen yang baik untuk proses ekstraksi yaitu berada pada kisaran 10%-15%, karena nilai rendemen yang tinggi mengindikasikan tingginya senyawa yang akan tertarik. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa proses ekstraksi menggunakan metode maserasi berlangsung secara efektif dan optimal.

Hasil uji skrining fitokimia disajikan pada (tabel 2) yang mengindikasikan ekstrak daun bidara terjadi perubahan warna hijau berubah menjadi kuning kemerahan jingga. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Masliyah *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa perubahan warna menjadi kuning atau merah dengan penambahan Mg dan HCL pekat sebanyak 4-5 tetes menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid.

Terbentuknya dua lapisan yang tidak saling bercampur pada uji fraksinasi disebabkan karena terdapat perbedaan potensial kimia antara dua pelarut (Putri, 2023). Pelarut yang digunakan pada proses fraksinasi adalah etanol 96% dan n-heksana. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Maulana (2018), ternyata etanol dan n-heksana itu efektif untuk memisahkan senyawa yang bersifat non-polar dan polar. Dan menurut dari penelitian mereka penggunaan kedua pelarut itu efektif untuk menarik senyawa flavonoid.

Ekstrak kental hasil fraksinasi ditotolkan pada permukaan lempeng KLT dengan bantuan pipa kapiler. Selanjutnya plat yang dimasukkan ke dalam bejana yang telah berisi eluen n-heksana : etil asetat dengan perbandingan (8:2). Selama elusi berlangsung, chamber dijaga dalam kondisi tertutup rapat untuk mempertahankan kejenuhan uap pelarut sehingga pemisahan berlangsung optimal. Setelah pelarut mencapai batas atas, lalu dikeluarkan, dikeringkan, dan diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm yang bertujuan untuk mengidentifikasi bercak noda serta menentukan nilai Rf (Karima *et al.*, 2019).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perbandingan eluen n-heksana : etil asetat (8:2) menghasilkan pemisahan yang paling optimal. Hal tersebut sejalan dengan penelitian (Ulfa, 2024) dimana pemisahan yang baik berada pada perbandingan (8:2) yang merupakan rasio eluen yang optimal. Hal tersebut diperkuat oleh penelitian Forestryana *et al.*, (2020) yang menjelaskan bahwa pemisahan noda yang baik dan tampak jelas ditandai pada perbandingan n-heksana : etil asetat (8:2). Selanjutnya, noda dari hasil KLT pada perbandingan n-heksana : etil asetat (8:2) menunjukkan nilai Rf sebesar (0,35), (0,46) dan (0,78). Nilai Rf flavonoid umumnya berkisaran 0,2–0,75, sehingga dari hasil itu, dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun bidara pada perbandingan (8:2) positif mengandung senyawa flavonoid, karena salah satu nilai Rf (0,78) mendekati nilai Rf kuarsetin (Hasan *et al.*, 2023),. Hasil ini diperkuat oleh Hadi *et al.*, (2023) dengan pembandingan kuarsetin yang mendapatkan nilai Rf 0,76.

Pemisahan kromatografi kolom menggunakan fase diam dengan metode basah dimana ekstrak kental daun bidara sebanyak 1 gram dimasukkan kedalam kolom secara hati-hati, kemudian eluen n-heksana : etil asetat (8:2) dialirkan dalam kolom. Fraksi-fraksi yang akan keluar dari kolom dikumpulkan secara bertahap, lalu diuapkan agar dapat menghilangkan pelarut. Dimana fraksi yang diperoleh akan digunakan pada metode kromatografi lapis tipis preparatif.

Pada tahapan ini, fraksi dari hasil kromatografi kolom ditotolkan pada permukaan plat KLTP dan dielusi menggunakan pelarut terbaik yaitu n-heksana : etil asetat (8:2). Apabila elusi telah selesai, dikeringkan dengan cara dianginkan, lalu noda dimonitoring dibawah sinar uv 254 nm dan 366 nm. Hasilnya menunjukkan senyawa flavonoid memiliki warna yang bervariasi, yaitu merah mudah, orange, biru muda, kuning, hijau, dan merah. Hal tersebut sesuai

penelitian Hidayah *et al.*, (2025) yang mengemukakan perubahan warna biru muda, kuning kehijauan, merah muda, orange dan merah menandakan flavonoid pada umumnya.

Pada penelitian ini menggunakan HPLC dimana fase terbalik yaitu fase diam yang memiliki sifat non-polar dan fase gerak yang bersifat polar. HPLC fase terbalik bekerja berdasarkan pada interaksi hidrofobik yang terjadi antara fase diam yang bersifat non-polar dan fase gerak yang relatif polar dengan menggunakan detektor UV-Vis (DAD) pada panjang gelombang 260 nm. Fase gerak yang digunakan yaitu air dan asam format 0,1% (90%) yang dikombinasi dengan asetonitril (10%) pada kecepatan laju alir 1 mL/menit dan volume injeksi sampel sebesar 10 µL. Pemisahan ini dilakukan dengan sistem isokratik yaitu elusi dengan komposisi pelarut tetap.

Berdasarkan uji kesesuaian sistem pada (tabel 4) menunjukkan nilai %RSD waktu retensi 0,22% yang menandakan bahwa sistem pompa dan kolom memiliki stabilitas dan konsistensi laju alir yang baik dan nilai %RSD luas area sebesar 36,209% yang menunjukkan variasi respon detektor yang sangat tinggi antar injeksi. Menurut pedoman Annisa *et al.*, (2025) dimana presisi sistem dikatakan baik apabila %RSD waktu retensi dan area $\leq 2\%$ untuk analisis kualitatif. Hal ini dapat dikatakan bahwa presisi sistem pada parameter area belum ideal karena faktor yang disebabkan oleh konsentrasi standar yang relatif rendah sehingga dapat mendeteksi batas sensitivitas detektor. Menurut Jaroch *et al.*, (2021) variasi area dapat meningkat pada konsentrasi rendah karena pengaruh oleh homogenitas larutan. Dengan demikian sistem parameter pada penelitian ini dapat dikatakan memenuhi kriteria kelayakan analisis.

Larutan standar kuarsetin dibuat berdasarkan literatur Sukmawati *et al.*, (2019), dengan konsentrasi 2, 4, 8, dan 10 ppm sebanyak 1 mg/ml dengan sampel sebanyak 10 µL yang di injeksikan pada alat HPLC. Pada uji linearitas dapat dilihat dari grafik persamaan regresi linear melalui kurva baku kalibrasi standar kuarsetin didapatkan persamaan regresi area puncak yaitu, $y = 0,070x - 0,159$ dengan koefisien korelasi R^2 yaitu 0,965% pada waktu retensi standar 3,011 menit yang dimana nilai tersebut memenuhi syarat linearitas yakni mendekati 1. Hal tersebut sejalan dengan hasil analisis Mukadam *et al.*, (2023) bahwa nilai R^2 0,95 masih menunjukkan hubungan linear yang kuat, sehingga optimasi rentang konsentrasi dan preparasi standar dapat meningkatkan akurasi metode.

Penetapan kadar kuarsetin pada ekstrak daun bidara dapat dilihat pada (tabel 6) yang menghasilkan nilai rata-rata sebesar 3,523 dengan nilai %RSD sebesar 1,311%, yang menunjukkan presisi metode yang baik. Hal ini didukung oleh penelitian Alhakmani *et al.*, (2014) yang menyatakan keberadaan kuarsetin sebagai salah satu flavonoid utama dalam ekstrak daun bidara dengan kadar yang bervariasi tergantung metode ekstraksi dan kondisi analisis. Beberapa penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa tanaman bidara kaya akan senyawa flavonoid golongan flavonol, khususnya kuarsetin dan turunannya. Menurut penelitian oleh Dwi *et al.*, (2023) kuarsetin berkontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan melalui mekanisme penangkapan radikal bebas. Hal ini mendukung temuan dalam penelitian ini bahwa kandungan kuarsetin dalam daun bidara berpotensi memberikan aktivitas biologis yang tinggi.

Hasil analisis HPLC ekstrak daun bidara pada (gambar 5) menunjukkan adanya satu puncak dominan pada retensi waktu yang sangat mendekati waktu retensi standar kuarsetin yaitu 3,011 menit. Waktu retensi tersebut sesuai dengan retensi waktu baku kuarsetin yang dilaporkan dalam analisis HPLC oleh Dwi *et al.*, (2023) menyatakan bahwa kuarsetin terelusi pada rentang 2,8-3,5 menit menggunakan detektor UV pada λ 260-370 nm. Pada puncak kromatogram sampel (a) dengan tiga kali replikasi muncul pada waktu retensi 3,095 menit. Pada puncak kromatogram sampel dan standar kuarsetin (b) dengan satu kali injeksi muncul pada waktu retensi 3,022 menit. Nilai tersebut menunjukkan perbedaan kurang dari 0,1 menit menandakan bahwa senyawa yang terdeteksi jelas pada daun bidara adalah flavonoid golongan flavonol yang berupa kuarsetin. Berdasarkan prinsip identifikasi kromatografi kesesuaian waktu retensi antara standar dengan sampel pada kondisi analisis yang sama menunjukkan identifikasi senyawa yang sama. Hal ini sejalan dengan penelitian (Zhao *et al.*, 2020) bahwa identifikasi flavonoid pada ekstrak tanaman dapat dilihat melalui kesesuaian waktu retensi dengan standar valid.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan mengenai isolasi dan identifikasi flavonoid pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk) dengan standar pembanding kuarsetin menggunakan metode HPLC dengan fase diam kolom C_{18} serta fase gerak air dan asam format 0.1% (90%) dikombinasi dengan asetonitril

(10%) pada laju alir 1 mL/menit yang digunakan menunjukkan validitas yang baik dan tepat, pada %RSD waktu retensi sebesar 0,22%, dan memenuhi syarat linear R^2 sebesar 0,965% pada puncak kromatogram sampel dan standar kuarsetin dengan satu kali injeksi muncul pada waktu retensi 3,022 menit dan 3,095 menit yang terbukti mengandung senyawa golongan flavonoid jenis kuarsetin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih banyak kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bantuan serta kontribusi dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan artikel ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

REFERENSI

- Afiya, M., Fadhilah, N., Islam, U., Imam, N., Padang, B., Islam, U., Imam, N., Padang, B., Islam, U., Imam, N., & Padang, B. (2025). *Manfaat bidara dalam kehidupan manusia*.
- Alhakmani, F., Khan, S. A., & Ahmad, A. (2014). Determination of total phenol, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of seeds and fruits of *Zizyphus spina-christi* grown in Oman. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4, S656–S660. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0273>
- Annisa, V., Aji Lumakso, F., Chabib, L., & Aulia Deviami, N. (2025). Validation Of Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC) Method For Testing The Dissolution Of Ketoconazole Gum-Alginate Tablet Matrix Validasi Metode Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC) Untuk Pengujian Disolusi Matriks Tablet Ketokonazol Gum-Alginat. 4, 170–185. <https://doi.org/10.59969/jfkl>
- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2), 256–263. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>
- Dwi Ardinimia, S., Fadia Putri, A., Mahendra Ramanda Putra, Y., Putri Hasna Dzakiyyah, N., & Gianni Lombu, P. (2023). Indonesian Chemistry And Application Journal Review: Bioaktivitas Daun Bidara (*Zizyphus mauritiana* Lamk.). *Indonesian Chemistry And Application Journal*, 6(2).
- Fikamilia, H. (2020). Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka*, 18(2), 16–25. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/25955>
- Forestryana, D., Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari Banjarbaru Jl Kelapa Sawit, S., Berkat Banjarbaru, B., Selatan, K., Studi Farmasi, P., MIPA Universitas Lambung Mangkurat Jl Brigjen Hasan Basri, F. H., Utara, B., Banjarmasin, K., & Selatan Corresponding Author, K. (2020). Jurnal Ilmiah Farmako Bahari Phytochemical Screenings And Thin Layer Chromatography Analysis Of Ethanol Extract Jeruju Leaf (*Hydrolea Spinosa* L.) Article History. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11, 113–124. www.journal.uniga.ac.id
- Hadi, S., Subekti, A., & Khairunnisa, A. (2023). Antioxidant Test and Flavonoids Determination of Tuber Pakis Kinca (*Nephrolepis cordifolia* (L) C. Presl). *IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis)*, 6(1), 1–9. <https://doi.org/10.20885/ijca.vol6.iss1.art1>
- Hasan, H., Andy Suryadi, A. M., Bahri, S., & Widiastuti, N. L. (2023). Penentuan Kadar Flavonoid Daun Rumpun Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(2). <https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i2.19371>
- Hidayah Fakultas Kesehatan, N., Sari Mulia, U., Selatan, K., & Fakultas Kesehatan Universitas Sari Mulia Banjarmasin Kalimantan Selatan, M. (2025). Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Bidara (*Zizyphus spina-christi* (L.) Desf) Berdasarkan Variasi Ukuran Partikel Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv Vis (Determination of Flavonoid Levels of Bidara Leaf Extract (*Zizyphus spina-christi* (L.) Desf) Based on Variation in Particle Size Using the UV-Vis Spectrophotometry Method). In *Jurnal Farmasi Desember* (Vol. 17, Number 2).
- Jaroach, K., Taczyńska, P., Czechowska, M., Bogusiewicz, J., Łuczykowski, K., Burlikowska, K., & Bojko, B. (2021). One extraction tool for in vitro-in vivo extrapolation? SPME-based metabolomics of in vitro 2D, 3D, and in vivo mouse melanoma models. *Journal of Pharmaceutical Analysis*,

- 11(5), 667–674.
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.03.005>
- Karima, N., Pratiwi, L., & Apridamayanti, P. (2019). Identifikasi Senyawa Kuersetin Ekstrak Etil Asetat Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(4), 1–5.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Ii 2017 Kementerian Kesehatan Republik Indonesia 615.1 Ind f* (Edisi II). Kementrian Kesehatan RI.
- Masliyah, A., Suci, P. R., Purwanti, E., & Safitri, C. I. N. H. (2021). Formulasi dan Uji Mutu Fisik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) pada Sediaan Lotion. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Saintek (SNPBS)*, 439 & 443.
<https://proceedings.ums.ac.id/index.php/snpbs/article/view/65>
- Maulana. (2018). Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina cristi*. L) Berdasarkan Variasi Pelarut. *Jurnal Fitokimia Dan Analisis Bahan Alam*, 8(2), 45–53.
<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/186602/PPAU0156-D.pdf?sequence=1&isAllowed=y%0Ahttp://journal.stainkudu.s.ac.id/index.php/equilibrium/article/view/1268/1127%0Ahttp://www.scielo.br/pdf/rae/v45n1/v45n1a08%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j>
- Mukadam, S., Ghule, C., Girme, A., Shinde, V. M., Hingorani, L., & Mahadik, K. R. (2023). A Simple HPTLC Approach of Quantification of Serratol and Tirucallic Acid with Boswellic Acids in *Boswellia serrata* by Validated Densitometric Method with MS/MS Characterization. *Journal of Chromatographic Science*, 61(10), 953–962.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/bmad012>
- Putri, I. A. (2023). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Batang Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Metode DPPH. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research (IJPSCR)*, 1(2), 1–16.
- Rathore, S., Debnath, P., & Kumar, R. (2021). Kuth *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch.: A critically endangered medicinal plant from Himalaya. In *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* (Vol. 20). Elsevier GmbH.
<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2020.100277>
- Rosydiati, & Saleh, E. K. (2019). Karakterisasi puncak kromatogram dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC) terhadap perbedaan fase gerak, laju alir, dan penambahan asam dalam analisis Indole Acetic Acid (IAA). *Kandaga*, 1(2), 65–73.
- Shinta Cania Maiza, Trie Yuni Elfasyari, & Ghalib Syukrillah Syahputra. (2022). Penetapan Kadar Total Flavonoid dan Tanin Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-christi* Lam). *Journal Pharma Saintika*, 5(2), 30–39.
<https://doi.org/10.51225/jps.v5i2.13>
- Sholehah, K., Kurniasih, I., Arifah, M. F., Setiyawati, E. A., Rahmah, S. A., Widianingrum, L., & Kholifah, E. (2024). Effect of Particle Size and Extraction Time on Total Flavonoid Level of *Artemisia vulgaris* Ethanol Extract 1*. In *Journal of Biotechnology and Natural Science* (Vol. 4, Number 2).
<http://journal2.uad.ac.id/index.php/JBNS>
- Sinurat, J. P., Purba, N., & Marbun, R. A. T. (2019). Uji Senyawa Flavonoid Total Dari Ekstrak Etanol Herba Binara (*Artemisia annua*) Menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Tahun 2019. *Jurnal Farmasimed (Jfm)*, 2(1), 16–20.
<https://doi.org/10.35451/jfm.v2i1.323>
- Sukmawati, S., Widiastuti, H., & Miftahuljanna, M. (2019). Analisis Kadar Kuersetin Pada Ekstrak Etanol Daun Miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.) Secara HPLC (High Performance Liquid Chromatography). *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 11(1), 38–44.
<https://doi.org/10.33096/jifa.v11i1.462>
- Ulfa, A. M. (2024). Analisis Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Terhadap Fraksi N- Heksan Dan Kloroform Pada Tanaman Daun Bidara Arab (*Zizipus Mauritiana* L). *JIMR : Journal Of International Multidisciplinary Research*, 3(02), 120–125.
<https://doi.org/10.62668/jimr.v3i02.1327>
- Zhao, S., Jang, S., Lee, Y. K., Kim, D. G., Jin, Z., & Koh, H. J. (2020). Genetic basis of tiller dynamics of rice revealed by genome-wide association studies. *Plants*, 9(12).
<https://doi.org/10.3390/plants9121695>