

# PENGEMBANGAN METODE ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MITRAGYNINE DALAM DAUN KRATOM (*Mitragyna speciosa*)

Livia Elsa<sup>\*1</sup>, Mochammad Yuwono<sup>2</sup>, Amirrudin Prawita<sup>3</sup>

Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga; Kampus B. Jalan Airlangga Nomor 4-6 Surabaya  
60286, telp 031-5041536/Faksimili 031-5029856

Jurusan S2 Ilmu Forensik, Sekolah Pascasarjana UNAIR, Surabaya

Email: <sup>\*1</sup>lie\_elsa@yahoo.com

## Abstrak

*Kratom (Mitragyna speciosa) merupakan tanaman herbal asal Indonesia. Daun kratom memiliki banyak manfaat sebagai obat herbal seperti obat demam, diare, dan penghilang nyeri. Efek sedatif dan stimulan pada sistem syaraf pusat merupakan efek samping daun Kratom. Harga yang murah dan kemudahan dalam memperoleh daun Kratom menjadi penyebab utama daun Kratom banyak disalahgunakan sebagai pengganti narkotika terlarang lainnya. Daun kratom masuk kedalam new psychoactive substances (NPS) atau narkotika jenis baru karena memiliki efek ketergantungan dan bertindak seperti opioid lainnya seperti heroin dan ganja.*

*Daun kratom dapat diperoleh dengan mudah dengan pembelian secara online. Umumnya daun Kratom dijual dalam bentuk olahan yang sulit untuk dikenali bentuknya, seperti sampel dalam penelitian ini berupa bubuk dan serbuk daun kratom. Pengujian yang dilakukan untuk identifikasi daun Kratom dapat dilakukan dengan cara botani dan cara kimia. Metode botani dicari karakteristik spesifik daun kratom dengan uji mikroskopik, dan secara kimia yang menjadi salah satu senyawa penciri daun kratom adalah mitragynine. Pengembangan metode identifikasi mitragynine dilakukan dengan metode GC-MS, KLT, dan KLT-densitometri. Pengembangan metode Isolasi mitragynine juga dilakukan karena sulitnya memperoleh standar baku dipasaran. Metode isolasi yang sederhana dan cepat dilakukan dengan metode KLT-Preparatif yang mana hasil isolasinya menunjukkan puncak tunggal pada hasil uji GC-MS.*

Kata kunci: Identifikasi, Isolasi, Kratom, *Mitragyna speciosa*, mitagynine

## Abstract

*Kratom (Mitragyna speciosa) is one of the herbal plants from Indonesia. Kratom have many benefits of herbal medications such as drug fever, diarrhea, and pain relievers. Sedatives and a stimulant effect on the central nervous system are side effects of Kratom leaf. Prices are cheap and easily obtained Kratom leaves become a major of cause of Kratom leaves much abused as a substitute for other illicit drugs. Kratom leaves into the new psychoactive substances (NPS) because it has the effect addicted and act like another opioid, such as heroin and marijuana.*

*Kratom leaves can be obtained easily with an online purchase. Kratom leaf is generally sold in processed form which is difficult to recognize the shape. Tests were conducted to identify*

*Kratom leaves can be done by botanical and chemical method. Methods botanical sought specific characteristics with microscopic test, and chemically which becomes one of the compounds identifier are mitragynine. The development of identification methods mitragynine conducted using GC-MS, TLC, and TLC-densitometry. Development isolation methods mitragynine also made because the difficulty in acquiring the standard in the market. Isolation methods are simple and quick to do with the method of preparative-TLC which isolation results a single peak on GC-MS.*

**Keywords**— *identification, isolation, Kratom, Mitragyna speciosa, mitagynine*

## 1. PENDAHULUAN

Kratom (*Mitragyna speciosa*) merupakan salah satu tanaman herbal yang berasal dari Asia tenggara salah satunya dari Indonesia, Malaysia, dan Thailand (Hassan Z *et al.* 2013). Di Indonesia, Kratom merupakan tanaman khas dari daerah Putusibau, Kalimantan Barat (Novindriana D. 2013). Bagian yang banyak dimanfaatkan dari tanaman ini adalah daunnya. Masyarakat sekitar mengenal daun kratom dengan sebutan daun purik. Umumnya Kratom dikonsumsi dengan cara dikunyah, dirokok, dan diseduh seperti teh (Sanagi MM *et al.* 2013).

Daun kratom memiliki beberapa khasiat sebagai obat herbal, diantaranya sebagai tapal pada luka, obat demam, meringankan nyeri otot, mengurangi nafsu makan, dan mengobati diare (Jansen KLR & Prast CJ. 1988, Hassan Z *et al.* 2013). Selain itu, efek antinociceptive dan antidepressan dari kratom telah dilaporkan oleh Cheaha *et al.* (2015). Efek antinociceptive ini dimanfaatkan masyarakat Malaysia untuk pemulihan pasca melahirkan dengan mengkonsumsinya dalam bentuk jus.

Obat herbal selama ini dianggap sebagai obat yang aman dikonsumsi oleh masyarakat luas dibandingkan dengan obat kimia. Akan tetapi, harus diperhatikan kandungan senyawa-senyawa yang dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya baik dalam jangka panjang atau pendek. Efek fisiologis dari konsumsi kratom tergantung dosisnya. Efek stimulan (pada dosis rendah) dan efek sedatif (pada dosis tinggi) telah dilaporkan oleh Ridayani Y. (2013). Berdasarkan hasil penelitiannya, ekstrak etanolik daun kratom memiliki potensi efek sedatif yang lebih besar

dari diazepam, yaitu 27.29mg/20g BB. Efek depresan dan stimulan pada sistem syaraf pusat juga ditimbulkan dari efek samping kratom. Efek ini dimediasi melalui reseptor monoaminergik dan opioid (Warner ML *et al.* 2016). Menurut Parthasarathy S *et al.* (2013) pada dosis rendah, kratom memberikan efek merangsang dan euforia namun pada dosis yang lebih tinggi, bertindak seperti opium yang mampu menekan rasa sakit dan digunakan untuk mengurangi sindrom penarikan opioid. Kratom sering menjadi pilihan karena dianggap lebih ekonomis dibandingkan dengan opioid lain seperti heroin (Carpenter JM *et al.* 2016).

Produk olahan daun Kratom dapat dibeli dengan mudah melalui internet. Ketersediaan melalui Internet dan di toko-toko ritel mengungkapkan bahwa meningkatnya kesadaran akan potensi kratom untuk digunakan bersenang-senang. Banyak bentuk yang tersedia dalam pembelian secara online, seperti daun kering, daun bubuk, ekstrak cair, pewarna kue, dan bentuk-bentuk lainnya. Cara mengonsumsi daun kratom yang paling populer adalah dikonsumsi sebagai teh, meskipun cara lain seperti mengunyah daun (cara tradisional), dirokok seperti ganja, atau dibuat menjadi ekstrak juga dilakukan (Scott TM *et al.* 2014). Kemudahan ketersediaan dan harga yang murah telah menarik banyak orang terutama kalangan anak muda untuk mencari kratom sebagai alternatif narkotika terlarang lainnya, seperti heroin atau ganja. Tren ini telah berkembang dan sekarang menjadi perhatian serius di negeri ini.

Di Malaysia, dengan tujuan untuk mengekang penyalahgunaan kratom, pemerintah Malaysia memberlakukan

peraturan larangan untuk menjual dan memiliki kratom efektif sejak Agustus 2003 dibawah pasal 30(5) UU tentang racun 1952 dimana seseorang jika terbukti bersalah, bisa didenda sampai RM 10.000 atau dipenjarakan hingga 4 tahun, atau keduanya (Parthasarathy *Set al.* 2013). Selain di Malaysia, Kratom juga ilegal di negara-negara lain seperti Thailand, Myanmar, Australia serta negara Uni Eropa dan menjadikan Kratom sebagai obat yang dikendalikan, sedangkan di Amerika Serikat, Inggris, dan Jerman belum ada pengendalian Kratom secara khusus sampai menunggu bukti-bukti ilmiah lainnya (Singh D *et al.* 2014). Di Indonesia sendiri Kratom masih legal diperjualbelikan baik di sekitar Indonesia atau ekspor. Berdasarkan UU No 35 tahun 2009 tentang Narkotika, disebutkan bahwa Narkotika adalah zat atau obat yang berasal dari tanaman atau bukan tanaman baik sintesis maupun semi sintesis, yang dapat menyebabkan penurunan atau perubahan kesadaran, hilangnya rasa, mengurangi sampai menghilangkan rasa nyeri, dan dapat menimbulkan ketergantungan, sehingga tanaman ini dapat dikategorikan sebagai salah satu jenis narkotika baru atau *new psychoactive substances* (NPS).

Berita yang dikutip dari [www.pontianakpost.com](http://www.pontianakpost.com) (5 Mei 2016), menyebutkan bahwa Kratom belum termasuk kedalam jenis narkotika, meskipun sebelumnya Badan Narkotika Nasional (BNN) menemukan 41 jenis narkoba baru berdasarkan hasil penelitian di Balai Uji Narkoba, dan 18 diantaranya belum tercantumkan dalam peraturan menteri kesehatan (Permenkes) nomor 13 tahun 2014 termasuk Kratom, sehingga di Indonesia belum bisa ada tindakan hukum terkait penyalahgunaan Kratom sampai adanya Undang-undang yang telah diresmikan. Lain halnya dengan Permenkes, Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) memiliki aturan mengenai Kratom. Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor: HK.00.05.41.1384 tentang kriteria dan tata laksana pendaftaran obat tradisional, obat herbal terstandar dan fitofarmaka, pada bagian

bahan yang dilarang dalam obat tradisional, obat herbal terstandar dan fitofarmaka disebutkan bahwa salah satu yang dilarang adalah daun Kratom (BPOM 2005). Sehingga jika obat herbal yang mengandung daun Kratom tidak dapat terdaftar di BPOM. Beberapa istilah yang biasa digunakan untuk Kratom dalam komposisi obat herbal adalah Krypton, K2, atau rempah-rempah (Singh D *et al.* 2014).

Sejak daun Kratom dijual dalam beberapa bentuk olahan, sulit untuk menentukan adanya materi tersebut jika hanya mengandalkan pengamatan secara visual, terutama ketika sudah berada dalam bentuk paket minuman, kapsul, daun kering bubuk atau serbuk. Oleh karena itu, dengan melihat pada efek samping yang banyak disalahgunakan, maka metode analisis yang cepat dan handal diperlukan untuk mendeteksi keberadaan daun kratom, terutama yang dapat berguna dalam bidang forensik. Metode analisis yang komprehensif sangat dibutuhkan sehingga tidak terjadi hasil positif palsu terutama hasil ini akan digunakan dalam bidang yang berhubungan dengan hukum.

Sampel yang diperoleh dalam penelitian ini adalah dari pembelian secara online dan sudah dalam bentuk serbuk dan bubuk, sehingga sangat sulit dilihat secara kasat mata bahwa sampel tersebut benar-benar berasal dari daun Kratom. Salah satu pengujian yang dapat dilakukan adalah uji mikroskopik untuk melihat unsur-unsur anatomi yang khas dibawah mikroskop. Kowalczyk AP *et al.* (2013) telah melakukan uji mikroskopik pada daun kratom yang menunjukkan adanya unsur anatomi yang khas seperti epidermis, bentuk kristal kalsium oksalat, stomata, batang daun, dan rambut penutup (trikoma). Selain uji mikroskopik secara botani, uji secara kimia juga sangat diperlukan, dimana salah satu kandungan senyawa utama dari daun kratom adalah golongan alkaloid, yaitu mitragynine (Warner ML *et al.* 2016, Parthasarathy S *et al.* 2013, Hassan Z *et al.* 2013, dan Tanguay P. 2011). Menurut Lesiak AD *et al.* 2014, Mitragynine belum ditemukan dalam tanaman lain selain Kratom, diperkuat dengan hasil dari penelitian Sanagi MM *et al.* (2013) bahwa dari

beberapa spesies dengan genus *Mitragyna*, hanya spesies *Mitragyna speciosa* yang mengandung senyawa Mitragynine. Dengan demikian, mitragynine dapat digunakan sebagai senyawa penciri untuk identifikasi daun Kratom.

Mitragynine adalah golongan alkaloid aktif utama dalam daun Kratom. Mitragynine (9-metoksi corynantheidine) memiliki rumus molekul  $C_{23}H_{30}N_2O_4$  dengan berat molekul (BM= 398 g/mol). Mitragynine berbentuk padatan pada suhu ruang dengan kelarutan ~5 mg/ml dalam Etanol dan ~10 mg/ml dalam Metanol. Kandungan mitragynine menyumbang 12% (b/b) dari total kandungan alkaloid dalam Kratom asal Malaysia dan 66% (b/b) dari Kratom asal Thailand berdasarkan bobot (Parthasarathy S *et al.* 2013). Mitragynine secara umum berfungsi sebagai Analgesik, antitussive, antidiarrheal, adrenergic, antimalaria (Hassan Z *et al.* 2013), dan antinociceptive (Horie *et al.* 2005). Menurut Matsumoto *et al.* (2004), kandungan ekstrak alkaloid dari daun Kratom yang salah satunya adalah senyawa mitragynine memiliki efek yang lebih kuat dari morfin apabila diberikan secara oral.

Metode identifikasi mitragynine dapat dilakukan dari cara yang paling sederhana dan umum seperti metode KLT (Kowalczyk AP *et al.* 2013, dan Beng GT *et al.* 2011). Metode identifikasi dengan KLT dianggap metode yang paling sederhana dan umum karena alat ini hampir dimiliki oleh setiap laboratorium. Pada metode KLT, adanya fase gerak yang selektif untuk suatu senyawa menjadikan metode yang murah dan akurat. Fase gerak yang selektif untuk mitragynine dilaporkan oleh LU S *et al.* (2009) dengan fase gerak etil asetat:metanol (4:1 v/v) dan Kowalczyk AP *et al.* (2013) dengan fase gerak *n*-heksana:etil asetat:amoniak (30:15:1 v/v/v). Aplikasi fase gerak pada KLT dalam penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan fase gerak yang mampu memisahkan mitragynine dengan baik. Metode pengujian yang dilakukan untuk memperkuat adanya senyawa mitragynine adalah penampak noda KLT seperti yang dilakukan Beng GT *et al.* (2011) dengan penampak noda dragendroff. Pengujian

dengan penampak noda tidak selektif untuk mitragynine saja, melainkan selektif untuk senyawa golongan alkaloid, sehingga metode penampak noda ini digunakan sebagai penunjang keberadaan senyawa mitragynine yang termasuk golongan alkaloid dengan menimbulkan perubahan warna positif alkaloid adalah orange.

Metode-metode Instrumental yang lebih canggih dan modern umumnya digunakan untuk meyakinkan hasil-hasil dari metode konvensional seperti KLT. Instrumen KLT spektrodensitometri digunakan untuk mendapatkan spektrum dari noda-noda KLT dan spektrum yang khas pada panjang gelombang maksimal tertentu untuk setiap noda. Instrumen lain yang banyak digunakan terutama dibidang forensik adalah GC-MS, khususnya dalam identifikasi senyawa mitragynine (Daniel JA 2015, Scott TM *et al.* 2014, dan Chan KB *et al.* 2009). Instrumen GC-MS dianggap sebagai metode yang canggih, cepat, dan akurat dengan bantuan adanya *library* senyawa-senyawa sehingga alat mampu mendeteksi senyawa-senyawa berdasarkan pada pola pembelahan spektrum massa. Hasil analisis dengan instrumen modern dianggap lebih akurat dibandingkan konvensional, namun instrumen yang mahal dan tidak semua laboratorium memiliki alat-alat tersebut, sehingga dalam penelitian ini, uji yang komprehensif dari metode yang paling sederhana yaitu KLT, penampak noda, KLT-spektrodensitometri, sampai dengan GC-MS dilakukan untuk mendapatkan metode yang selektif dan hasil yang meyakinkan agar terhindar dari positif palsu.

Standar baku umumnya digunakan dalam analisis, karena standar mitragynine sulit didapatkan dipasaran, khususnya di Indonesia, sehingga diperlukan suatu metode isolasi mitragynine dari daun kratom yang sederhana dan murah. Metode isolasi sudah banyak dilakukan peneliti-peneliti sebelumnya, seperti penelitian Lu S *et al.* (2009) melakukan isolasi dengan metode ekstraksi asam-basa dan pemisahan dengan kromatografi kolom, dan Beng GT *et al.* (2011) dengan proses ekstraksi yang membutuhkan waktu >16 jam dan pelarut yang banyak menggunakan metode

pemisahan dengan kromatografi kolom, sehingga dilakukan pengembangan metode untuk mendapatkan metode isolasi Mitragynine yang lebih sederhana. Dalam penelitian ini, isolasi dilakukan dengan metode pemisahan menggunakan KLT preparatif (KLTP). Metode KLTP memiliki beberapa kelebihan dibandingkan kromatografi kolom, yaitu sampel yang kecil, pelarut yang sedikit, dan waktu yang cepat (Jozwiak GW *et al.* 2007). Selanjutnya instrumen yang digunakan untuk verifikasi mitragynine hasil isolasi adalah GC-MS dan KLT-spektrodensitometri.

## 2. Tinjauan Pustaka

Tanaman kratom (Gambar 1) masuk kedalam spesies *Mitragyna speciosa* Korth, Famili Rubiaceae dan Genus *Mitragyna*. Kratom merupakan salah satu tanaman tropis yang banyak tumbuh di daerah semenanjung Thailand, Myanmar, Malaysia, Philipina, termasuk Indonesia seperti di daerah Kalimantan dan Sumatra. Sebutan daun Kratom berbeda-beda setiap daerah, di Indonesia Kratom dikenal dengan istilah daun Purik, di Malaysia dengan sebutan Biak-biak, dan di thailand dengan sebutan Ithang (Raffa RB 2014).

Pohon Kratom dapat tumbuh hingga ketinggian normal 4–9 m dan lebar 5 m. Tanaman tertentu bahkan bisa mencapai ketinggian hingga 15–30 m. Batang tegak dan bercabang. Daun berwarna hijau gelap mengkilap (Gambar 2.1) tumbuh dengan panjang lebih dari 18 cm dan lebar 10 cm dengan bentuk oval dan ujung meruncing. Bunga-bunga kuning tua tumbuh dalam bentuk gugus bola melekat pada bagian atas daun pada batang panjang. Daun gugur berlimpah pada musim kemarau dan pertumbuhan baru dihasilkan selama musim hujan. Pohon ini tumbuh terbaik pada lahan basah atau lembab, tanah yang subur, dengan media paparan sinar matahari penuh di daerah yang terlindung dari angin kencang. Bagian tanaman yang paling banyak digunakan untuk dikonsumsi adalah bagian daun (Hassan *et al.* 2013).

Kratom (*Mitragyna speciosa*) telah banyak digunakan secara tradisional di Asia Tenggara untuk obat herbal. Akhir-akhir ini, penggunaan Kratom telah menyebar ke Eropa dan Amerika Serikat, di mana potensi penyalahgunaan dan bahaya kesehatan semakin darurat (Singh *et al.* 2014).

Daun Kratom umumnya dikonsumsi dengan beberapa cara, seperti dikunyah, dibuat seperti rokok, atau dibuat menjadi ekstrak. Dalam bentuk bubuk dapat dikonsumsi dengan cara diseduh dengan air panas dan diminum sebagai teh. Jeruk lemon sering ditambahkan untuk memudahkan ekstraksi alkaloid pada daun kratom. Gula atau madu dapat ditambahkan untuk menutupi rasa pahit dari minuman itu. Cara lainnya adalah daun kering kemudian direbus sampai berbentuk seperti sirup. Garam biasanya ditambahkan untuk mencegah sembelit (Tanguay P. 2011).



Gambar 1 Tanaman Kratom, (a) daun kratom, (b) pohon tumbuh liar, (c) dan (d) budidaya pohon kratom (Hassan *et al.* 2013).

Daun kratom yang dikonsumsi dengan cara ditelan atau dirokok dapat bertindak sebagai pengganti opium dan bersifat memabukkan. Daun tanaman Kratom menjadi semakin banyak tersedia di kalangan global dengan penjualannya melalui sistem online. Kratom menjadi alternatif yang dicari banyak orang untuk alternatif obat penghilang rasa sakit, antidepresan, dan digunakan dalam penarikan opioid (Raffa RB. 2014).

Di Thailand selatan, dalam beberapa tahun terakhir dibuat es yang disebut koktail yang

menjadi populer di kalangan anak muda karena diduga meniru efek alkohol. Koktail terbuat dari daun kratom, minuman ringan yang mengandung kafein, dan codeine atau difenidramin yang merupakan senyawa yang terkandung dalam sirup obat batuk sebagai tiga bahan dasar yang memberikan efek antidepresan. Konsumsi koktail ini dapat berakibat fatal karena tindakan multidrug (Tanguay P. 2011).

Efek fisiologis dari konsumsi kratom tergantung pada dosisnya. Efek stimulan (pada dosis rendah) dan efek sedatif (pada dosis tinggi) telah dilaporkan oleh Ridayani Y. (2013). Berdasarkan hasil penelitiannya, ekstrak etanolik daun kratom memiliki potensi efek sedatif yang lebih besar dari diazepam. Menurut Parthasarathy *Set al.* (2013) pada konsentrasi rendah, kratom memberikan efek merangsang dan euforia namun pada konsentrasi yang lebih tinggi, bertindak seperti opium yang mampu menekan rasa sakit dan digunakan untuk mengurangi sindrom penarikan opioid. Kratom sering menjadi pilihan karena dianggap lebih ekonomis dibandingkan dengan opioid lain seperti heroin (Carpenter JM *et al.* 2016). Berdasarkan informasi dari warga yang tinggal di daerah Kalimantan dimana tempat tumbuh kratom terbanyak di Indonesia, daun Kratom tumbuh liar dan tidak perlu membeli untuk mendapatkannya.

Penelitian yang dilakukan oleh Singh *et al.* (2014) adalah mengukur ketergantungan sistematis Kratom, serta gejala yang ditimbulkan. Dari 293 pengguna Kratom di tiga negara bagian Semenanjung utara Malaysia, lebih dari setengah dari pengguna (>6 bulan penggunaan) mengalami ketergantungan berat, sedangkan 45% menunjukkan ketergantungan ringan. Gejala yang dialami secara fisik adalah kesulitan tidur, mata dan hidung berair, demam, nafsu makan menurun, dan diare. Sedangkan gejala secara psikologis adalah timbulnya rasa kegelisahan, ketegangan, kemarahan, kesedihan, dan kegugupan (Singh *et al.* 2014).

Di Thailand selatan dan utara Malaysia, penggunaan Kratom tidak dianggap sebagai 'penggunaan narkoba', hal itu dianggap bagian

dari cara hidup yang tertanam erat dalam tradisi dan adat istiadat setempat (Tanguay P 2011). Semakin canggihnya teknologi memudahkan segala akses termasuk cara memperoleh Kratom. Dengan adanya internet jual beli Kratom menjadi lebih mudah keseluruh dunia, Rata-rata Negara berkembang yang cenderung menggunakan kratom sebagai zat atau obat yang tidak dikendalikan terutama sebagai obat yang menggantikan morfin, karena penggunaan kratom tidak dipantau oleh sebagian besar penyalahgunaan narkoba nasional termasuk di Amerika Serikat belum mengatur penggunaan Kratom (Lu S *et al.* 2009).

Kratom pada tahun 1943 di Thailand hanya menjadi tanaman yang diawasi/dikontrol penggunaannya, namun sejak 1979 pemerintah Thailand membuat UU Narkotika sehingga menjadi ilegal untuk membeli, menjual, mengimpor, atau memilikinya. Hukuman diterapkan juga bagi yang menanam pohon secara ilegal, namun, masyarakat pribumi berhasil mengolah dalam beragam bentuk sehingga sulit untuk menentukan keberadaan Kratom. Di Malaysia, penggunaan kratom legal sampai tahun 2003. Setelah itu dibuat aturan penjualan atau penggunaan daun kratom menjadi suatu pelanggaran dengan hukuman dan / atau hukuman penjara (Vicknasingam *et al.* 2010). Di Indonesia sendiri, Kratom secara hukum masih legal dibudidayakan dan diekspor dalam skala besar ke Asia, Amerika Utara, dan Eropa.

Sebagian besar daun kratom diekspor dari Indonesia dan Asia Tenggara ke Amerika Utara dan Eropa untuk pengolahan dan redistribusi. Ketersediaan luas kratom di Internet menunjukkan bahwa permintaan juga semakin luas dan mudah. Sebagian besar pemerintah belum mengembangkan sistem untuk memantau penggunaan kratom secara lebih luas. Di Thailand, meskipun kratom sudah menjadi barang yang ilegal dimata hukum, namun dibutuhkan campur tangan aparat penegak hukum untuk mengontrol penggunaannya, kepemilikan, produksi, distribusi dan perdagangan. Meskipun preferensi pribadi dan profesional, atas tingkat

tekanan dari pemerintah memaksa polisi dan tokoh masyarakat untuk bertindak. Namun, banyak aparat penegak hukum, termasuk kantor-kantor nasional dan regional telah jelas menyatakan bahwa penegakan hukum dan kebijakan kratom bukan prioritas pada saat ini, karena dengan adanya hukum mengenai kratom menyebabkan perpecahan antara pihak penegak hukum dan masyarakat di seluruh Thailand selatan. Dalam ungkapan seorang petugas penegak hukum senior: "Dengan kratom menjadi ilegal, kita harus campur tangan. Itu berarti memberikan denda orang dan menebang pohon di komunitas mereka. Sebagian besar dari kita tidak benar-benar ingin melakukan ini mengingat bahwa ada kejahatan narkoba yang lebih penting. Jadi kita menghabiskan waktu berharga berurusan dengan kratom dan, sebagai imbalannya, kami kehilangan muka dengan masyarakat karena kita menyerbu ruang mereka, mengambil pohon dan uang mereka dari keluarga mereka (Tanguay, 2011).

Di tengah upaya pelarangan dan pengurangan dalam pasokan daun kratom di Thailand selatan, telah muncul pasar gelap yang terus berkembang untuk distribusi kratom. Negara yang menjadi sumber ekspor terbesar salah satunya adalah Indonesia. Di Indonesia, kratom masih legal secara hukum, meskipun sudah ada wacana dari Badan Narkotika Nasional (BNN) untuk memasukan kratom dalam jenis narkotika baru namun masih belum ada kejelasan. Di Indonesia sendiri, Kratom banyak dibudidayakan untuk di ekspor dalam jumlah besar, dan cara yang paling banyak dilakukan adalah melalui apotek internet, untuk pengguna di seluruh dunia (Tanguay, 2011).

### **2.1 Uji mikroskopik**

Daun Kratom yang pada zaman modern ini lebih banyak dijual dalam bentuk olahannya dibandingkan dalam bentuk daun segar, baik berupa serbuk seperti teh, bubuk seperti kopi, dibuat kapsul, atau dicampurkan dengan obat herbal sehingga sulit dikenali bentuk asalnya. Salah satu uji yang dapat dilakukan adalah dengan menguji dibawah mikroskop untuk mendapatkan pola-pola yang khas pada tumbuhan tersebut, yaitu dengan uji

mikroskopik seperti yang dilakukan oleh Kowalczyk AP *et al* (2013).

Pengujian secara mikroskopik yang dilakukan oleh Kowalczyk AP *et al* (2013) adalah dengan menggunakan bahan dasar daun segar Kratom. Tujuan dari penelitiannya adalah untuk membantu memberikan pengetahuan dari karakteristik bagian-bagian dari daun Kratom untuk aplikasi pada bahan yang sudah bubuk. Penelitian ini menjadi penting karena bahan tanaman bubuk lebih sulit untuk dianalisis dengan bagian yang sudah terpotong-potong dan sudah tidak dikenali lagi bagian-bagiannya. Penelitian secara anatomi adalah salah satu cara yang cepat untuk menemukan material yang diuji berasal dari sebuah spesies yang berbeda dan juga langkah pertama untuk membuktikan konfirmasi suatu tanaman.

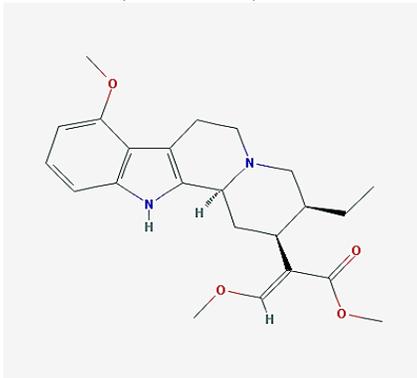
Analisis mikroskopik dari potongan-potongan daun segar menunjukkan tipe struktur daun, seperti parenkim palisade, parenkim spons, dan fragmen dari epidermis dengan stomata dan trikoma yang dilakukan oleh Kowalczyk AP *et al*. (2013).

Analisis secara mikroskopik sendiri tidak benar-benar berarti menjadi sebuah metode yang berdiri sendiri untuk identifikasi Kratom, kelemahan uji ini adalah adanya pola anatomi yang sama untuk beberapa spesies dengan genus yang sama, sehingga diperlukan identifikasi dengan cara lain, yaitu secara kimia. Salah satu kandungan senyawa utama dalam daun kratom adalah senyawa golongan alkaloid terutama senyawa mitragynine, yang mana telah dilaporkan oleh Sanagi MM *et al*. (2013) bahwa Mitragynine belum ditemukan dalam tanaman lain selain Kratom, yakni dari beberapa spesies dengan genus *Mitragyna*, hanya spesies *Mitragyna speciosa* yang mengandung senyawa Mitragynine. Dengan demikian, mitragynine dapat digunakan sebagai senyawa penciri untuk identifikasi daun Kratom

### **2.2 Mitragynine**

Mitragynine (Gambar 2) merupakan alkaloid aktif utama Kratom. Pertama kali diisolasi pada tahun 1921. Kandungan mitragynine menyumbang 12% (b/b) dari total kandungan alkaloid dalam Kratom asal

Malaysia dan 66% (b/b) dari Kratom asal Thailand berdasarkan bobot (Parthasarathy S *et al.* 2013). Mitragynine secara kimia dikenal dengan nama 9-metoksi corynantheidine memiliki rumus molekul  $C_{23}H_{30}N_2O_4$  dengan bobot molekul 398.50 g/mol. Mitragynine tidak larut dalam air namun larut dalam pelarut organik seperti aseton, asam asetat, alkohol, kloroform, dan dietil eter. Bentuk fisik mitragynine berwarna putih, kristal amorp dengan titik leleh 102–106 °C dan titik didih ~ 235 °C (EMCDDA).



Gambar 2 Struktur Mitragynine.

Mitragynine merupakan senyawa yang dianggap sebagai pemberi efek-efek yang menyerupai opioid lainnya seperti heroin dan morfin. Senyawa Mitragynine khas terdapat hanya pada spesies *Mitragyna speciosa* yaitu pada kratom, sehingga Mitragynine digunakan sebagai pecuri kimia dalam penelitian yang melibatkan daun kratom.

Isolasi Mitragynine dilakukan karena sulitnya mendapatkan Standar baku dipasaran dan harga yang mahal, sehingga solusi untuk mendapatkan standar mitragynine adalah dengan cara isolasi dari daun Kratom. Isolasi mitragynine telah dilakukan oleh peneliti-peneliti sebelumnya seperti yang dilakukan oleh Lu S *et al.* (2009), dan Beng GT *et al.* (2011). Peneliti sebelumnya melakukan isolasi dengan proses yang cukup panjang. Rata-rata proses pemisahan mitragynine dari ekstrak daun dilakukan dengan metode kromatografi kolom dan dengan proses ekstraksi yang rumit. Pengembangan metode yang dilakukan dalam penelitian ini adalah untuk mendapatkan metode yang lebih singkat dan

cepat dengan hasil pemisahan yang baik, yaitu mendapatkan mitragynine dengan kemurnian yang tinggi. Proses pemisahan dilakukan dengan metode KLTP dari ekstrak kasar kratom yang kemudian dikarakterisasi dengan GC-MS untuk melihat kemurnian dari jumlah puncak yang dihasilkan.

Identifikasi Mitragynine dalam daun Kratom harus dilakukan secara komprehensif agar terhindar dari positif palsu seperti yang dilakukan oleh Kowalczuk AP *et al.* (2013) mulai dari metode yang konvensional seperti KLT sampai dengan metode instrumental HPLC. Dalam penelitian ini pengembangan metode identifikasi Mitragynine dengan menggunakan beberapa kondisi hasil dari penelitian Kowalczuk AP *et al.* (2013) dan Chan KB *et al.* (2009), yaitu dengan metode KLT, KLT-spektrodensitometri, dan GC-MS.

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Uji Mikroskopik

Sampel daun kratom bubuk dilakukan Uji mikroskopis dilakukan di Laboratorium Farmakognosis dan Fitokimia dengan menggunakan mikroskop trinokuler olympus BX41TF dengan pembesaran 400x.

#### 3.2 Uji GC-MS

**Preparasi sampel** dilakukan dengan merujuk pada metode Chan KB *et al.* (2010). Ditimbang sekitar 2 gram daun kratom bubuk, kemudian diekstraksi dengan 25 ml campuran metanol:kloroform (4:1), diultrasonikasi selama 10 menit, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring, diuapkan, kemudian dibaca profilnya dengan GC-MS.

**Kondisi Instrumen GC-MS**, Instrumen GC Agilent y980 series, detektor MSD agilent 597i dilengkapi autosampler, kolom kapiler HP5 (5% difenil 95%metil siloksan) 30 m x 0.32 mm x 0.25 m. Diinjeksikan 1µl sampel dengan pengaturan suhu terprogram pada suhu awal 200 °C ditahan selama 2 menit, kemudian suhu ditingkatkan 10 °C/menit sampai suhu 285 °C ditahan selama 20 menit. Suhu injeksi dan detektor diatur 280 °C.

#### 3.3 Uji KLT.

Disiapkan plat KLT  $F_{254}$  1x10 cm sebanyak 2 buah lalu sampel yang sudah diekstraksi ditotolkan pada plat KLT. Pencarian kondisi optimum fase gerak dilakukan dengan merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Lu S *et al.* (2009) dengan menggunakan fase gerak etil asetat:metanol (4:1 v/v) dan penelitian yang dilakukan oleh Kowalczuk AP *et al.* (2013) dengan menggunakan fase gerak *n*-heksana:etil asetat:amoniak 25%(30:15:1 v/v/v). Masing-masing fase gerak di jenuhkan dalam chamber, setelah jenuh plat KLT siap untuk diekluasi, selanjutnya hasil eluasi dipantau nodanya dibawah lampu uv 254 nm dan dipantau nodanya.

### 3.4 Isolasi mitragynine

Ekstrak metanol:kloroform (4:1) sampel daun kratom bubuk kemudian dilakukan pemisahan dengan metode KLTP. Sekitar 0.5 ml sampel ditotolkan pada plat KLTP 10x20 cm lalu diekluasi dengan fase gerak *n*-heksana:etil asetat:amoniak 25% (30:15:1 v/v/v). Hasil eluasi dipantau dengan lampu UV 254nm. Masing-masing noda yang tidak berwarna dan berpendar pada sinar UV 254 nm dikerok dan dilarutkan dengan 5 ml metanol p.a, divortex sekitar 2 menit dan disentrifugasi selama 5 menit pada 20000 rpm sebanyak 2 kali ulangan. Filtrat metanol kemudian diuapkan. Setiap noda yang dihasilkan dari pemisahan dianalisis dengan GC-MS untuk mendapatkan noda mitragynine.

### 3.5 Identifikasi Kandungan Mitragynine dalam Sampel.

Ditimbang masing-masing sekitar 1 gram daun kratom bubuk dan serbuk, bubuk kopi merk x, jamu merk x, dan campuran kratom bubuk dengan jamu merk x (4:1), kemudian diekstraksi dengan 10 ml metanol:kloroform (4:1v/v), divortex selama 5 menit, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring, diuapkan.

### 3.6 Identifikasi mitragynine dengan metode KLT dan KLT-densitometri.

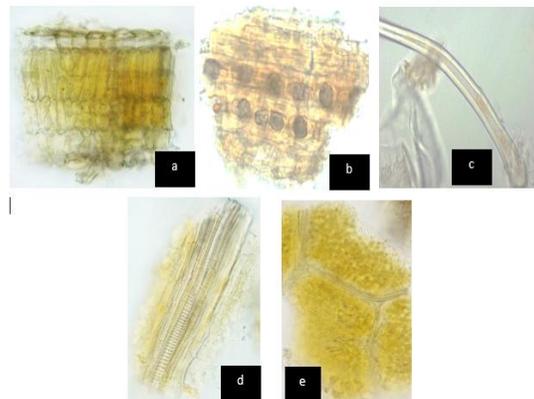
Disiapkan plat KLT  $F_{254}$  6x10 cm. kelima ekstrak sampel yang dibuat kemudian dilarutkan dalam 5 ml metanol p.a, ditotolkan pada plat klt sebanyak 5x totolan, jarak antar sampel ~1 cm. Mitragynine hasil isolasi

ditotolkan pada plat KLT yang sama. Selanjutnya plat KLT diekluasi dengan menggunakan fase gerak *n*-heksana:etil asetat:amoniak 25% (30:15:1 v/v/v) dan dipantau nodanya dibawah sinar UV 254 nm .

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Uji mikroskopik

Kowalczuk AP *et al.* (2013) melakukan analisis mikroskopis dari daun segar kratom yang dikeringkan dan dihaluskan. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk memberikan informasi bagian dari pola-pola daun kratom secara mikroskopis yang dapat digunakan untuk dibandingkan dengan sampel-sampel yang sudah berupa olahan yang sulit untuk dikenali, seperti sampel yang diperoleh pada penelitian ini. Sehingga hasil analisis mikroskopik yang dilakukan oleh Kowalczuk AP *et al.* (2013) dapat dijadikan pembandingan dalam penelitian ini.



Gambar 3 Hasil uji mikroskopik, (a) bagian epidermis, (b) kristal kalsium oksalat, (c) trikoma/batang penutup, (d) batang daun, dan (e) stomata pada epidemis atas.

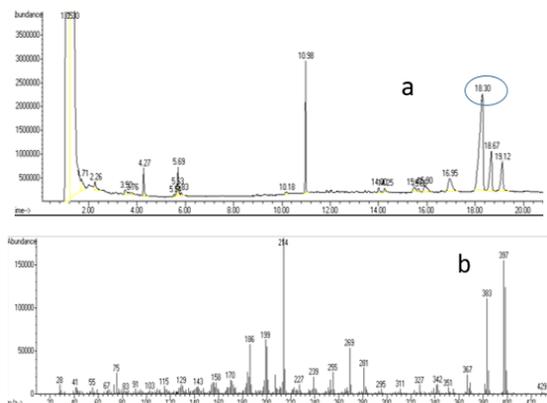
Pada tulang daun yang teramati adanya serangkaian kristal kalsium oksalat yang berjejer dengan bentuk druse pada Gambar 3b. Rambut penutup (trikoma) berbentuk non grandular yang terdiri dari satu sel (Gambar 3c). Bentuk batang daun (Gambar 3d) yang teramati adalah bentuk spiral bentuk stomata parasitik (Gambar 3e) yang umumnya dimiliki oleh famili Rubiaceae termasuk famili Kratom.

Berdasarkan hasil dari pengamatan mikroskopik bagian dari anatomi daun yang

teramati dibawah mikroskop, terdapat kemiripan hampir disemua bagian dengan hasil penelitian Kowalczyk AP *et al.* (2013), sehingga dapat dikatakan bahwa sampel yang digunakan merupakan sampel yang berasal dari daun Kratom. Namun, analisis dengan pencirian berdasarkan mikroskopik saja kurang mampu memberikan informasi untuk memastikan bahwa sampel yang diperoleh benar-benar berasal dari daun Kratom, karena pola yang sama muncul pada genus yang sama, sehingga beberapa spesies dengan genus yang sama, yaitu *Mitragyna* kemungkinan besar memberikan pola yang sama jika dilihat secara mikroskopis. Oleh karena itu, analisis kimia diperlukan untuk memberikan informasi yang lebih banyak.

#### 4.2 Uji GC-MS

Analisis kimia dengan senyawa penciri mitragynine dilakukan dengan tujuan untuk meyakinkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berasal dari daun Kratom. Pola kromatogram gas yang ditunjukkan pada Gambar 4 menunjukkan terdapat pola yang khas dari kandungan senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun Kratom.

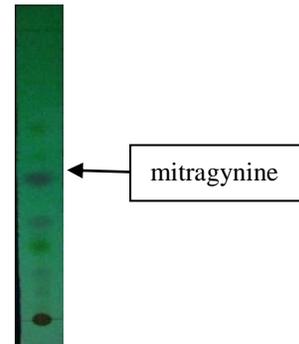


Gambar 4 Hasil analisis GC-MS sampel bubuk Kratom, (a) Kromatogram gas dan (b) spektrum massa pada menit ke 18.30.

#### 4.3 Uji KLT

Pola KLT daun kratom pada fase gerak dengan eluen *n*-heksana:etil asetat: amoniak 25% (30:15:1v/v/v) (Gambar 5) dari penelitian ini yang muncul dibawah sinar UV 254 nm pada  $R_f \sim 0.5$  merupakan noda mitragynine apabila merujuk pada penelitian Kowalczyk AP *et al.*(2013), yang mana disebutkan bahwa

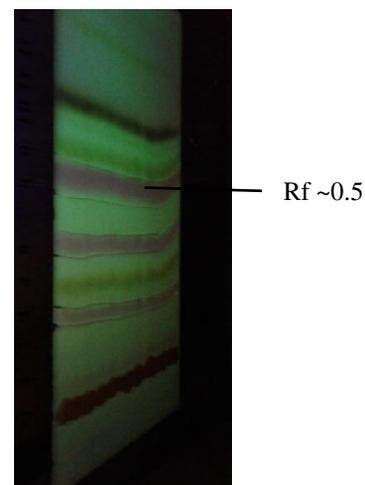
noda pada  $R_f \sim 0.49$  adalah noda untuk standar mitragynine.



Gambar 5 Noda KLT pada fase gerak *n*-heksana: etil asetat: amoniak 25% (30:15:1 v/v/v).

#### 4.4 Isolasi mitragynine

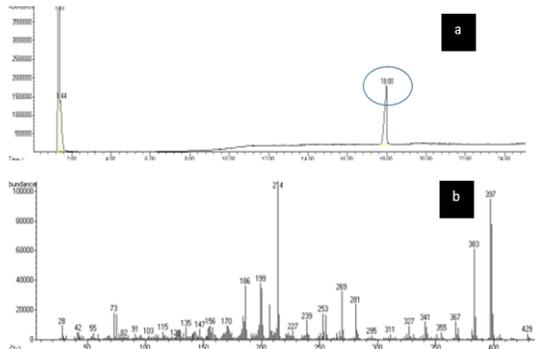
Isolasi mitragynine dilakukan karena sulitnya mendapatkan standar dipasaran. Metode KLTP dipilih dalam penelitian ini karena memiliki beberapa kelebihan, yaitu peralatan yang lebih sederhana, preparasinya mudah, hemat pelarut fase gerak, dan umumnya hampir semua laboratorium dapat melaksanakannya secara cepat. Gambar 6 menunjukkan hasil pemisahan dengan KLTP yang mana pada  $R_f \sim 0.5$  dikerok dan dilakukan analisis lebih lanjut dengan GC-MS.



Gambar 6 Hasil KLTP ekstrak kratom.

Hasil analisis GC-MS hasil isolasi mitragynine yang ditunjukkan pada Gambar 7 menunjukkan bahwa hasil isolasi

menunjukkan puncak tunggal secara kromatogram gas yang ditunjukkan pola spektrum massanya yang menunjukkan senyawa mitragynine.



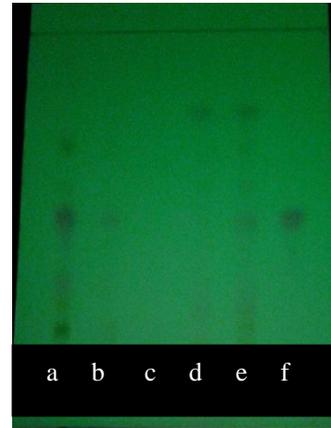
Gambar 7 Hasil uji isolasi mitragynine (a) Kromatogram gas dan (b) spektrum Massa.

#### 4.5 Identifikasi mitragynine

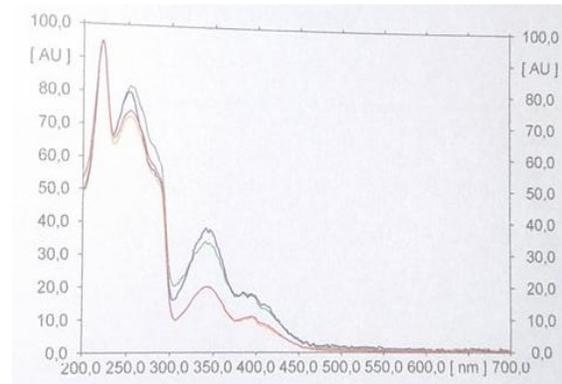
Hasil identifikasi sampel dilakukan dengan 5 variasi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut metanol:kloroform karena merupakan pelarut yang optimum dalam mengekstraksi mitragynine. Dua variasi sampel daun Kratom diperoleh dari pembelian secara online, serta digunakan kopi bubuk dan jamu merk “x” untuk menentukan selektifitas dari metode yang digunakan. Pencampuran jamu merk “x” dengan daun kratom bubuk dengan porsi 4:1 b/b dilakukan juga dengan tujuan untuk simulasi suatu sampel jamu yang didalamnya mengandung campuran daun kratom mampu juga terdeteksi dengan metode ini.

Berdasarkan hasil KLT (Gambar 8) mitragynine hasil isolasi ikut dipantau juga nodanya, berdasarkan hasil yang diperoleh, kopi dan jamu merk “x” tidak menunjukkan adanya noda pada  $R_f \sim 0.5$  milik mitragynine, dan dibuktikan juga dengan KLT-densitometri bahwa tidak ada puncak yang muncul pada daerah mitragynine. Sampel daun kratom bubuk dan serbuk juga campuran jamu merk ‘x’ dengan daun kratom bubuk menunjukkan adanya noda pada  $R_f$  mitragynine. Pola spektrum yang mirip ditunjukkan pada Gambar 9 dengan  $(\lambda)_{max}$  di sekitar 221 nm. Sehingga

berdasarkan hasil yang ditunjukkan, selain metode cepat, sederhana, dan murah juga menunjukkan selektivitas dalam mendeteksi mitragynine.



Gambar 8 Hasil KLT uji identifikasi sampel, (a) daun Kratom bubuk, (b) daun Kratom serbuk, (c) bubuk kopi, (d) jamu, (e) isolat mitragynine.



Gambar 9 Pola spektrum KLT-densitometri pada  $R_f \sim 0.5$ .

#### 5. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa identifikasi daun Kratom yang sudah dalam bentuk olahan dapat digunakan metode uji secara botani yaitu dengan uji mikroskopik dan secara kimia dengan senyawa pencari mitragynine dengan menggunakan metode KLT, KLT-densitometri, dan GC-MS. Metode isolasi yang dikembangkan dalam penelitian ini memberikan metode yang lebih mudah dan sederhana dengan metode KLTP yang

menunjukkan puncak tunggal pada kromatografi gas yang diperkuat dengan pola spektrum massa mitragynine. Metode ini juga merupakan metode yang selektif dengan menunjukkan hasil positif pada senyawa yang mengandung mitragynine dan hasil negatif pada senyawa yang tidak mengandung mitragynine.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawasan Obat dan Makanan [BPOM]. 2005. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor. HK.00.05.41.1384.
- Carpenter JM, Criddle CA, Craig HK, Ali Z, Zhang Z, Khan IA, Sufka KJ. 2016. Comparative effects of *Mitragyna speciosa* extract, mitragynine, and opioid agonists on thermal nociception in rats. *J Fitote*. 109:87-90.
- Chan KB, Pakiam C, Rahim RA. 2009. Psychoactive plant abuse: the identification of mitragynine in ketum and ketum preparations. *Bulletin on Narcotics LVII*. (1/2):249-256.
- Cheaha D, Keawpradub N, Sawangjaroen K, Phukpattaranont, Kumarnsit E. 2015. Effects of an alkaloid-rich extract from *mitragyna speciosa* leaves and fluoxetine on sleep profiles, EEG spectral frequency and ethanol withdrawal symptoms in rats. *J Phymed*. 22:1000-1008.
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction [EMCDDA]. Kratom (*Mitragyna speciosa*). Diakses: <http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/kratom/de> (Juli 2016).
- Gandjar IG & Rohman A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka pelajar: Yogyakarta.
- Hassan Z, Muzaemi M, Navaratnam V, Yusoff NHM, Suhaimi FW, Vadivelu R, Vicnasingam BK, Amato D, Horsten SV, Ismail NIW, Jayabalan N, Hazim AI, Mansor SM, Muller CP. 2013. From Kratom to mitragynine and its derivatives: Physiological and behavioural effects related to use, abuse, and addiction. *J Neubiorev*. 32(2):138-151.
- Jansen KLR & Prast CJ. 1988. Ethnopharmacology of kratom and the mitragyna alkaloids. *J Ethnopharmacology*. 2:115-119.
- Karasek FW & Clement RE. 2012. *Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Principles and Techniques*. Elsevier: New York.
- Kowalczyk AP, Łozak A, Zjawiony JK. 2013. Comprehensive methodology for identification of Kratom in police laboratories. *J Forsciint*. 1-20.
- Lesiak AD, Cody RB, Dane AJ, Musah R. 2014. Rapid detection by direct analysis in real time-mass spectrometry (DART-MS) of psychoactive plant drugs of abuse: The case of *Mitragyna speciosa* aka "Kratom". *J Forsciint*. 242:210-218.
- Lu S, Tran BN, Nelsen JL, Aldous KM. 2009. Quantitative analysis of mitragynine in human urine by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromb*. 877(24):2499-2505.
- Matsumoto K, Horie S, Ishikawa H, Takayama H, Aimi N, Ponglux D, Watanabe K. 2004. Antinociceptive effect of 7-hydroxymitragynine in mice: discovery of an orally active opioid analgesic from the Thai medicinal herb *Mitragynaspeciosa*. *Life Sciences* 74, 2143–2155
- Parthasarathy S, ramanathan S, murugaiyah V, Hamdan MR, Said MIM, Lai CS, Mansor SM. 2013. A simple HPLC-DAD method for the detection and quantification of psychotropic mitragynine in *mitragyna speciosa* (ketum) and its product for the application in forensic investigation. *J Forsciint*. 226:183-187.
- Raffa RB. 2014. *Kratom and Other Mitragynine: The Chemistry and Pharmacology of Opioids from a Non-*

- Opium Source*. CRC Press:Taylor & Francis Group.
- Ridayani Y.2013. Uji efek sedatif fraksi etanol daun kratom (*Mitragyna speciosa*. Korth) pada mencit jantan galur BALB/c. [Skripsi]. Farmasi Fakultas Kedokteran:Universitas Tanjungpura Pontianak (ID).
- Singh D, Muller CP, Vicknasingam BK.2014. Kratom (*Mitragyna speciosa*) dependence,withdraw alsymptoms and craving in regular users. *J Drugalcdep*. 139(1):132-137.
- Tanguay P. 2011. Kratom in Thailand. *Legislative Reform of Drug Policies* 13:1–16.
- Vicknasingam B, Narayanan S, Beng GT, Mansor SM. 2010. The informal use of ketum (*Mitragyna speciosa*) for opioid withdrawal in the northern states of peninsular Malaysia and implications for drug substitution therapy. *International Journal of Drug Policy*. 21:283–288.
- Warner ML, Kaufman NC, Grundmann O. 2016. The pharmacology & toxicology of kratom. from traditional herb to drug of abuse. *International Journal of Legal Medicine*. 130(1):127-138.