

## Fraksinasi dan Identifikasi Ekstrak Daun *Mitragyna Speciosa* Menggunakan Metode Kromatografi

### *Fractionation and Identification of Mitragyna Speciosa Leaves Extract Using Chromatographic Method*

M.A. Hanny Ferry Fernanda\*, Mercyska Suryandari, Tri Puji Lestari Sudarwati

Program Studi Diploma Tiga Farmasi, Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya

\*Korespondensi: [ma.hanny.ff@akfarsurabaya.ac.id](mailto:ma.hanny.ff@akfarsurabaya.ac.id)

#### **Abstract**

*Background: Mitragyna speciosa or better known as Kratom is a typical plant from the Putusibau area, West Kalimantan. The most widely used part of this plant is the leaves. The kratom plant contains alkaloids, flavonoids, phenols, terpenoids-steroids, triterpenoids, saponins, and tannins. Alkaloid content is the most dominant and has benefits in this plant so it is necessary to do fractionation and identification of secondary metabolites as basic data for optimization of alkaloids extraction for isolation of mitragynin. Objective: To fractionate and identify secondary metabolites from Mitragyna Speciosa leaf extract. Methods: The fractionation method was carried out using Column Chromatography while for identification using Thin Layer Chromatography. Results: 80 fractions were obtained from the column chromatography results, while the results of identification using thin layer chromatography showed that only the 2nd and 3rd fractions were obtained. The second fraction has two spots with Rf values at a wavelength of 254 nm are 0.51 and 0.73 and in the third fraction there are three spots with Rf values a wavelength of 254 nm is 0.21; 0.52, and 0.74. Conclusion: Fractionation and identification by chromatographic method can be used as initial screening for secondary metabolite content in Mitragyna Speciosa leaf extract.*

**Keywords:** *Mitragyna speciosa, Fractionation, Identification, Chromatographic Method*

#### **Abstrak**

Pendahuluan: Kratom merupakan tanaman khas dari daerah Putusibau, Kalimantan Barat. Bagian yang banyak dimanfaatkan dari tanaman ini adalah daunnya. Tanaman kratom memiliki kandungan yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid-steroid, triterpenoid, saponin, dan tannin. Kandungan alkaloid merupakan yang paling dominan dan memiliki manfaat dalam tumbuhan ini sehingga perlu dilakukan fraksinasi dan identifikasi senyawa metabolit sekundernya sebagai data dasar optimasi ekstraksi alkaloid untuk melakukan isolasi mitragynin. Tujuan: Melakukan fraksinasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun *Mitragyna Speciosa*. Metode: Metode fraksinasi dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Kolom sedangkan untuk identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Hasil: Didapatkan 80 fraksi dari hasil kromatografi kolom sedangkan hasil identifikasi dengan kromatografi lapis tipis diperoleh bahwa hanya fraksi ke-2 dan ke-3. Pada fraksi ke-2 memiliki dua noda dengan nilai Rf pada panjang gelombang 254 nm masing-masing adalah 0,51 dan 0,73 dan pada fraksi ke-3 terdapat tiga noda dengan nilai Rf pada panjang gelombang 254 nm adalah 0,21; 0,52, dan 0,74. Kesimpulan: Fraksinasi dan identifikasi dengan metode kromatografi dapat digunakan sebagai penyaringan awal kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun *Mitragyna Speciosa*.

**Kata kunci:** *Mitragyna Speciosa, Fraksinasi, Identifikasi, Kromatografi*

#### **PENDAHULUAN**

Kratom (*Mitragyna speciosa*) merupakan salah satu tanaman herbal yang berasal dari Asia tenggara salah satunya dari Indonesia, Malaysia, dan Thailand (Singh et al., 2016). Di Indonesia, Kratom merupakan tanaman khas dari daerah Putusibau,

Kalimantan Barat. 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. Tanaman kratom memiliki kandungan yaitu alkaloid,

flavonoid, fenol, terpenoid-steroid, triterpenoid, saponin, dan tannin. Adapun kratom dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengatasi diare, lelah, nyeri otot, batuk, meningkatkan daya tahan tubuh, menurunkan tekanan darah tinggi, menambah energi, mengatasi depresi, anti diabetes, dan stimulant seksual (Maruyama et al., 2009). Jenis kandungan alkaloid dari daun kratom dimana salah satunya adalah mitraginin. Mitraginin merupakan alkaloid paling dominan yang ditemukan dalam tumbuhan ini (Kemenhut, 2014). Beberapa penelitian tentang efek farmakologi daun kratom juga telah diteliti seperti aktivitas analgesik, stimulant, antidepresan, antiinflamasi, antinoniseptif, antioksidan, dan antibakteri (Luliana and Islamy, 2018).

Mitraginin yang merupakan komponen psikoaktif utama kratom menimbulkan kebutuhan untuk mengembangkan metodologi untuk fraksinasi, identifikasi atau bahkan isolasi dari metabolit aktif mitraginin tersebut. Prosedur otentikasi komprehensif yang telah dilakukan yaitu melibatkan analisis mikroskopis bahan tanaman dan deteksi mitraginin menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Kowalewska and Wasik, 2018). Untuk itu pada penelitian ini dilakukan fraksinasi dan identifikasi dari ekstrak daun Kratom (*Mitragyna speciosa*) dengan menggunakan metode kromatografi yaitu Kromatografi Kolom dan Kromatografi Lapis Tipis sebagai basic data dasar optimasi ekstraksi alkaloid untuk melakukan isolasi mitraginin.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Serbuk Daun Kratom (*Mitragyna speciosa*) yang diperoleh dari pedagang, Metanol (Merck, Indonesia), N-Heksan (Merck, Indonesia), etil asetat (Merck, Indonesia), amoniak 25% (Bratachem, Indonesia)

### Alat

Rotary Evaporator (Heidolph), Kolom Kromatografi (Pyrex), Kromatografi Lapis Tipis (Camag).

### Metode

#### Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom

Serbuk daun kratom (*Mitragyna speciosa*) kering ditimbang sebanyak 4 g. Selanjutnya diekstraksi menggunakan metode remaserasi selama 6 hari. Pada hari pertama dilakukan maserasi dengan menggunakan N-Heksan selama 1 hari atau 1 kali 24 jam kemudian residu dimaserasi kembali dengan menggunakan metanol selama 5 hari atau 5 kali 24 jam dalam botol yang terhindar dari sinar matahari. Dalam proses maserasi sekali-kali diaduk sampai semua merata. Setelah dilakukan optimasi ekstraksi selama 6 hari didapatkan ekstrak cair dari daun kratom. Ekstrak cair dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom terbuka dengan perbandingan fase diam:ekstrak adalah 20:1 dan menggunakan fase gerak etil asetat:metanol dengan perbandingan 4:1. Hasil fraksi yang diperoleh kemudian dilakukan uji identifikasi dengan KLT.

#### Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis

Uji KLT dilakukan untuk identifikasi fraksi hasil kromatografi kolom. Setiap vial hasil fraksinasi ditotolkan pada plat KLT kemudian dieluasi dengan pelarut pegas N-heksan: etil asetat: amoniak 25 % = 30:15:1. Setelah itu tiap plat diamati pada *TLC cabinet* untuk mengetahui noda yang terbentuk kemudian diamati nilai R<sub>f</sub> dari masing-masing fraksi. Fraksi yang memiliki nilai R<sub>f</sub> yang sama akan dikumpulkan berdasarkan kesamaan jumlah noda yang terbentuk dan nilai R<sub>f</sub> yang dihasilkan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kratom (*Mitragyna speciosa*) merupakan tanaman tropis dari famili Rubiaceae yang berasal dari Asia Tenggara (Muang Thai, Indonesia, Malaysia, Myanmar, Filipina, dan Papua Nugini). Di Indonesia tanaman ini banyak tumbuh di Kalimantan (Raini, 2017). Kratom merupakan tumbuhan yang memiliki tinggi mencapai 4-16 meter dengan cabang menyebar lebih dari 15 kaki, memiliki batang yang lurus dan bercabang, daun kratom berwarna hijau gelap mengkilap, halus, berbentuk panjang. Daun kratom dapat tumbuh dengan panjang melebihi 18 cm dan lebar 10 cm. Mitraginin merupakan senyawa marker yang mayor dalam ekstrak daun kratom yang dapat memberikan efek antinosiseptif, tetapi secara kuantitatif kandungan mitraginin berbeda dalam tanaman yang diambil dari wilayah yang berbeda. Kandungan mitraginin dalam ekstrak

daun kratom yang diambil dari berbagai wilayah di Malaysia memperlihatkan hasil yang berbeda (Lu et al., 2009). Maka dari itu, identifikasi senyawa kandungan metabolit sekunder dari kratom ini sangat perlu dilakukan untuk mendapatkan informasi yang tepat untuk mendapatkan isolat senyawa marker tersebut. Pada penelitian ini dilakukan fraksinasi dan identifikasi ekstrak daun kratom sebagai basic data dasar optimasi ekstraksi alkaloid untuk melakukan isolasi mitragynin. Serbuk daun kratom (*Mitragyna speciosa*) kering ditimbang sebanyak 4 g. Selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 6 hari dengan menggunakan N-Heksan selama 1 hari atau 1 kali 24 jam untuk menarik senyawa yang bersifat non polar kemudian residu dilakukan ekstraksi kembali menggunakan metanol selama 5 hari atau 5 kali 24 jam untuk menarik senyawa yang bersifat polar.



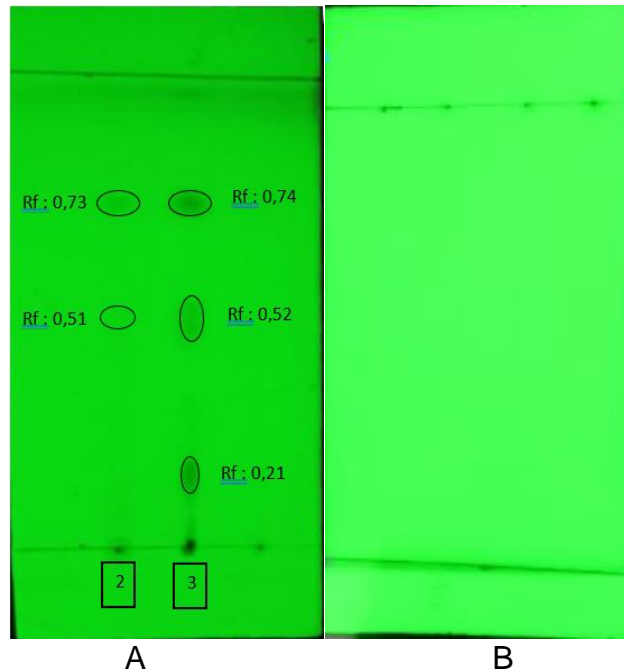
Gambar 1. Proses Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom. Pelarut fase gerak etil asetat:metanol dengan perbandingan 4:1

Ekstrak cair diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental yang berwarna coklat kehijauan. Kemudian lakukan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom

dengan fase gerak etil asetat:metanol dengan perbandingan 4:1. Hasil fraksinasi tersebut menghasilkan 80 fraksi yang telah ditampung dalam 80 vial. Selanjutnya masing-masing vial tersebut kemudian dilakukan uji identifikasi

dengan KLT. Tiap fraksi ditotolkan pada plat KLT GF254 kemudian dieluasi menggunakan pelarut pengembang dengan perbandingan N-heksan: etil asetat: amoniak 25 % = 30: 15: 1. Hasil dari elusasi tersebut kemudian diamati

pada *TLC cabinet* pada panjang gelombang 254 nm.



Gambar 2. A. Hasil pengamatan Plat KLT 254 nm No.1 (Vial 1-4); B. Hasil Pengamatan Plat KLT 254 nm No. 2-20 (Vial 5-80)

**Tabel 1. Hasil Nilai Rf Identifikasi Fraksi Daun *Mitragyna speciosa* dengan Metode KLT Pada Panjang Gelombang 254 nm**

No Plat	No Vial	Keterangan
1	1-4	Vial No 2 : Terdapat 2 Noda warna noda coklat (Rf 0,51 dan 0,73) Vial No 3 : Terdapat 3 Noda warna noda coklat (0,21; 0,52, dan 0,74)
2	5-8	Tidak terdapat Noda
3	9-12	Tidak terdapat Noda
4	13-16	Tidak terdapat Noda
5	17-20	Tidak terdapat Noda
6	21-24	Tidak terdapat Noda
7	25-28	Tidak terdapat Noda
8	29-32	Tidak terdapat Noda
9	33-36	Tidak terdapat Noda
10	37-40	Tidak terdapat Noda
11	41-44	Tidak terdapat Noda
12	45-48	Tidak terdapat Noda
13	49-52	Tidak terdapat Noda
14	53-56	Tidak terdapat Noda
15	57-60	Tidak terdapat Noda
16	61-64	Tidak terdapat Noda
17	65-68	Tidak terdapat Noda
18	69-72	Tidak terdapat Noda
19	73-76	Tidak terdapat Noda
20	77-80	Tidak terdapat Noda

Fraksi yang memiliki nilai Rf yang sama akan dikumpulkan berdasarkan kesamaan jumlah noda yang terbentuk dari nilai Rf yang dihasilkan. Berdasarkan hasil identifikasi KLT, didapatkan bahwa hanya fraksi ke-2 dan ke-3 yang memiliki noda pada pengamatan dipanjang gelombang 254 nm. Pada fraksi ke-2 terdapat 2 noda dengan nilai Rf masing-masing adalah 0,51 dan 0,73 sedangkan pada fraksi ke-3 terdapat tiga noda dengan nilai Rf masing-masing adalah 0,21; 0,52, dan 0,74 sesuai pada Tabel 1. Untuk vial yang lain tidak terlihat noda pada pemeriksaan identifikasi metode KLT. Hal ini dapat disebabkan karena senyawa yang terdapat pada daun kratom tidak tertarik sempurna pada saat proses ekstraksi dan pada saat proses fraksinasi juga tidak tertarik oleh fase gerak, maka perlu dilakukan optimasi kembali terkait dengan pelarut serta fase gerak yang digunakan supaya dapat menarik senyawa yang terdapat pada daun kratom dengan sempurna.

Hasil KLT yang diperoleh pada noda dengan nilai Rf 0,74 dan 0,73 merupakan senyawa golongan alkaloid karena terbentuk warna merah bata pada noda ketika disemprotkan dengan menggunakan larutan dragendroff. Pada noda dengan nilai Rf lainnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung didalamnya. Berdasarkan hasil tersebut dapat terlihat bahwa metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan dapat mempengaruhi hasil identifikasi, dari hasil tersebut senyawa polar nampak tertarik oleh fase gerak pada saat dilakukan pengujian KLT. Proses Fraksinasi dan identifikasi dari ekstrak daun kratom masih perlu dilakukan optimasi lebih lanjut terkait pelarut dan fase gerak yang digunakan. Pada penelitian ini, hasil metode sangat bergantung pada proses ekstraksi yang digunakan baik metode ekstraksi maupun pelarut yang digunakan, serta fase gerak yang digunakan juga harus diperhatikan karena akan mempengaruhi pemisahan metabolit sekundernya baik saat

fraksinasi menggunakan kromatografi ataupun identifikasi dengan menggunakan KLT. Untuk itu perlu dilakukan pemilihan yang tepat agar metabolit sekunder yang ada dalam ekstrak bisa terpisah dan memungkinkan untuk dilakukan isolasi.

## KESIMPULAN

Fraksinasi dan identifikasi dengan metode kromatografi dapat digunakan sebagai penyaringan awal kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun *Mitragyna Speciosa*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Akademi Farnasi Surabaya dan pihak-pihak yang membantu dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Kemenhut, 2014. Rekalkulasi Penutupan Lahan Indonesia Tahun 2013, Direktorat Inventarisasi dan Pemantauan Sumber Daya Hutan, Ditjen Planologi Kementerian Kehutanan.
- Kowalczyk, A.P., Lozak, A., Zjawiony, J.K., 2013. Comprehensive methodology for identification of Kratom in police laboratories. *Forensic Sci. Int.* 233, 238–243. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.09.016>.
- Lu, S., Tran, B.N., Nelsen, J.L., Aldous, K.M., 2009. Quantitative analysis of mitragynine in human urine by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 877, 2499–2505. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.06.024>
- Luliana, S., Islamy, M.R., 2018. Aktivitas Antinosisseptif Fraksi Diklorometana Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Rute Oral Pada Mencit Jantan Swiss. *Pharm. Sci. Res.* 5, 58–64. <https://doi.org/10.7454/psr.v5i2.3895>
- Maruyama, T., Kawamura, M., Kikura-Hanajiri, R., Takayama, H., Goda, Y., 2009. The botanical origin of kratom

(*Mitragyna speciosa*; Rubiaceae)  
available as abused drugs in the  
Japanese markets. *J. Nat. Med.* 63,  
340–344.  
<https://doi.org/10.1007/s11418-009-0325-9>

Raini, M., 2017. Kratom (*Mitragyna speciosa*  
Korth): Manfaat, Efek Samping dan  
Legalitas. *Media Penelit. dan Pengemb.  
Kesehat.*  
<https://doi.org/10.22435/mpk.v27i3.6806.175-184>

Singh, D., Narayanan, S., Vicknasingam, B.,  
2016. Traditional and non-traditional  
uses of Mitragynine (Kratom): A survey  
of the literature. *Brain Res. Bull.*  
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.05.004>