

ABSTRAK

Daun kratom (*Mitragyna speciosa Korth*) merupakan tanaman tradisional yang mengandung senyawa alkaloid dengan potensi farmakologis. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan alkaloid pada fraksi etanol dan n-heksana daun kratom, dan menentukan kadar alkaloid total kedua fraksi tersebut. Simplisia daun kratom diekstraksi dengan maserasi etanol 96%, kemudian difraksinasi menggunakan n-heksana dan etanol. Uji kualitatif alkaloid dilakukan dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff, sedangkan kadar alkaloid total diukur secara spektrofotometri UV-Vis pada λ 273 nm menggunakan kafein sebagai standar. Hasil uji kualitatif menunjukkan adanya alkaloid pada kedua fraksi, ditandai dengan pembentukan endapan putih (Mayer), cokelat (Wagner), dan merah bata (Dragendorff). Analisis kuantitatif menunjukkan kadar alkaloid total fraksi n-heksana (80,565%) lebih tinggi dibandingkan fraksi etanol (20,858%). Temuan ini menunjukkan bahwa pelarut non-polar (n-heksana) lebih efektif mengekstrak alkaloid daripada pelarut polar (etanol).

Kata kunci: Alkaloid, *Mitragyna speciosa Korth*, fraksinasi, spektrofotometri UV-Vis, kratom.

ABSTRACT

Mitragyna speciosa Korth Leaves contain bioactive alkaloids with pharmacological potential. This study aimed to identify alkaloids in ethanol and n-hexane fractions of kratom leaves, and determine the total alkaloid content of both fractions. Dried kratom leaves were macerated with 96% ethanol, then fractionated using n-hexane and ethanol. Qualitative alkaloid tests were performed with Mayer's, Wagner's, and Dragendorff's reagents, while total alkaloid content was measured by UV-Vis spectrophotometry at λ 273 nm using caffeine as a standard. Qualitative tests confirmed alkaloids in both fractions, indicated by white (Mayer), brown (Wagner), and brick-red (Dragendorff) precipitates. Quantitative analysis showed the n-hexane fraction had significantly higher total alkaloid content (80.565%) and ethanol fraction (20.858%), showing non-polar solvents are more effective for alkaloid extraction.

Keywords: Alkaloids, *Mitragyna speciosa*, fractionation, UV-Vis spectrophotometry, kratom.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kratom (*Mitragyna speciosa*) adalah tanaman herbal yang berasal dari Asia Tenggara, termasuk Indonesia, Malaysia, dan Thailand (Singh *et al.*, 2016). Di Indonesia, tanaman ini dikenal khususnya di daerah Putusibau, Kalimantan Barat, daun kratom dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan tradisional seperti mengatasi diare, lelah, nyeri otot, batuk, meningkatkan daya tahan tubuh, menurunkan tekanan darah, menambah energi, mengatasi depresi, anti-diabetes, dan sebagai stimulan seksual (Maruyama *et al.*, 2009). Bagian tanaman yang paling banyak dimanfaatkan adalah daunnya, yang oleh masyarakat setempat disebut daun purik. Secara umum, daun kratom dikonsumsi dengan cara dikunyah, dirokok, atau diseduh seperti teh (Sanagi *et al.*, 2013). Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol kratom hijau menunjukkan adanya kandungan senyawa *alkaloid*, *flavonoid*, *fenolat*, *triterpenoid* atau *steroid*, *saponin*, dan *tanin* (Phaniendra, 2015). Sementara itu, *mitragynine* dan *7-hidroksi mitragynine* diketahui sebagai senyawa alkaloid dengan persentase terbesar pada daun kratom hijau (Wahyono, 2019).

Penelitian ini berfokus pada alkaloid karena senyawa ini memiliki banyak manfaat penting, seperti sebagai obat antikanker, antimikroba, dan berbagai efek kesehatan lainnya. Alkaloid sering ditemukan pada tumbuhan dan menjadi salah satu alasan utama mengapa tumbuhan tertentu memiliki khasiat obat, sehingga menarik untuk

melihat apakah senyawa ini ada dan seberapa besar potensinya. Untuk itu, fraksi etanol dan n-heksana keduanya memiliki kemampuan berbeda dalam mengekstraksi senyawa dari tumbuhan. Etanol efektif menarik senyawa polar seperti flavonoid, sedangkan n-heksana lebih cocok untuk senyawa non-polar seperti alkaloid. Dengan kombinasi kedua pelarut ini, saya berharap dapat memperoleh gambaran yang lebih menyeluruh tentang senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat dalam sampel. (Mutiasari, 2012).

Berdasarkan penelitian Melania *et al* (2024) tentang kratom menunjukkan kandungan fenolik total dan flavonoid total pada ekstrak etanol dari ketiga varian kratom yang telah dilakukan. Maka senyawa alkaloid yang merupakan komponen metabolit sekunder terbesar pada daun kratom, sehingga studi daun kratom khususnya pada alkaloid direkomendasikan untuk studi selanjutnya.

Hasil analisis fitokimia kualitatif oleh Iskandar *et al.* (2020) menunjukkan bahwa daun gambir, yang berasal dari famili *Rubiaceae* seperti kratom, mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Namun, alkaloid tidak ditemukan pada daun gambir. Di sisi lain, penelitian oleh Rahmah *et al.* (2023) pada daun rambusa menggunakan metode fraksinasi bertingkat mengungkapkan bahwa fraksi n-heksana memiliki kandungan alkaloid total tertinggi sebesar 7,161%.. Berdasarkan hasil tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar alkaloid total pada daun kratom (*Mitragyna speciosa*) dengan mefraksi etanol dan n-heksana. Pendekatan ini dilakukan untuk mengetahui fraksi mana yang menghasilkan kadar alkaloid total tertinggi, sekaligus memberikan data kuantitatif terkait kandungan alkaloid daun kratom. Penelitian ini diharapkan

dapat memperkaya informasi ilmiah terkait potensi pemanfaatan alkaloid dalam daun kratom.

Penelitian ini memilih fraksi etanol dan n-heksana untuk analisis alkaloid total daun kratom karena perbedaan kepolaran kedua pelarut mampu mengekstrak senyawa alkaloid dengan karakteristik berbeda. Etanol 96% (polar) efektif menarik alkaloid terprotonasi dan senyawa polar lainnya, sementara n-heksana (non-polar) lebih optimal untuk alkaloid bebas seperti mitraginin yang bersifat non-polar. Pemilihan ini didasarkan pada prinsip "like dissolves like" (Harborne, 1987), serta penelitian pendukung yang menunjukkan efisiensi n-heksana dalam mengekstrak alkaloid (Rahmah *et al.*, 2023). Kombinasi kedua pelarut juga memungkinkan pemisahan senyawa target dari pengotor melalui fraksinasi bertingkat, sehingga memberikan gambaran komprehensif tentang kandungan alkaloid dalam kratom (Rahmah *et al.*, 2023).

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah fraksi etanol dan n-heksana daun kratom (*Mitragyna speciosa*) mengandung senyawa alkaloid ?
2. Berapakah kadar alkaloid total pada fraksi etanol dan n-heksana daun kratom (*Mitragyna speciosa*) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah :

1. Untuk mengidentifikasi kandungan alkaloid pada fraksi etanol dan n- heksana daun kratom (*Mitragyna speciosa*).
2. Untuk mengetahui kadar alkaloid total yang terkandung dalam fraksi etanol dan n-heksana daun kratom (*Mitragyna speciosa*).

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini adalah :

1. Bagi Peneliti

Menambah ilmu pengetahuan penulis tentang fraksi etanol dan fraksi n-heksana pada daun kratom (*Mitragyna speciosa*).

2. Bagi Industri

Manfaat penelitian ini adalah sebagai sumber informasi dan wawasan yang dapat dijadikan sebagai data penelitian selanjutnya.

3. Bagi Masyarakat

Untuk masyarakat, manfaat penelitian ini memberikan informasi tentang fraksi etanol dan fraksi n-heksana pada daun kratom yang digunakan sebagai obat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth)

Kerajaan : Plantae

Filum : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Gentianales

Suku : Rubiaceae

Marga : *Mitragyna* Korth.

Jenis : *Mitragyna speciosa* (Korth.)

Sinonim : *Miq Stephegyne speciosa* Korth.



Gambar 1. Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth)

Sumber: Dokumentasi pribadi (2024)

2.1.2 Morfologi Tanaman Daun Kratom (*Mitragyna speciosa*)

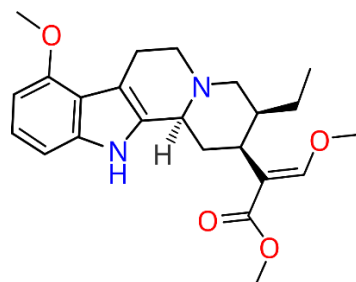
Kratom termasuk ke dalam suku Rubiaceae seperti tanaman kopi. Secara morfologi, kratom berupa tanaman pohon dengan batang lurus dan kulit batang berwarna abu kecoklatan (Secretariat, 2017). Warna tulang dan urat daun menjadi salah satu parameter pembeda, karena terdapat dua jenis warna, yaitu hijau dan coklat kemerahan (Shellard dan Lees, 1965). Kratom tumbuh subur di daerah dekat aliran sungai pada jenis tanah aluvial yang kaya bahan organik. Kratom bukan tanaman air namun mempunyai kemampuan bertahan hidup bila kondisi lahan sewaktu-waktu tergenang air. Di Kapuas Hulu, kratom banyak ditanam masyarakat di halaman, namun untuk budidaya skala luas dilakukan di kebun dan di lahan dekat sungai.

2.1.3 Kandungan Daun kratom

Penelitian fitokimia terkait senyawa metabolit sekunder dalam kratom telah berlangsung sejak lama. Berdasarkan beberapa hasil penelitian, diketahui bahwa kratom mengandung 57 senyawa, di mana 40 di antaranya termasuk dalam golongan alkaloid (Meireles et al., 2019). Selain alkaloid, senyawa metabolit sekunder lain yang dominan meliputi golongan triterpenoid, flavonoid, steroid, saponin, monoterpenoid, dan sekoteroidoid (Gogineni et al., 2014).

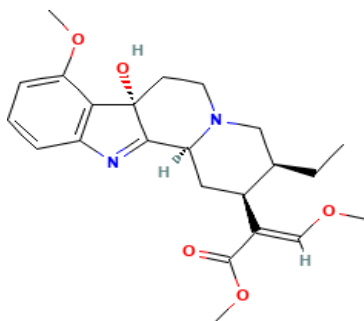
Kratom diketahui mengandung lebih dari 40 jenis alkaloid, seperti mitraginin, 7-hidroksimitraginin, painantein, spesioginin, dan spesiosiliatin, serta beberapa jenis flavonoid, terpenoid, saponin, dan glikosida. Kandungan utama dalam kratom adalah mitraginin. Gugus hidroksil pada posisi C-7 meningkatkan potensi analgesik 7-hidroksimitraginin hingga 13 kali lebih tinggi dibandingkan morfin dan 46 kali lebih

tinggi dibandingkan mitraginin, baik secara in vitro maupun in vivo. Hasil isolasi mitraginin dari kratom asal Muang Thai menunjukkan kadar sebesar 66%, sedangkan kratom asal Malaysia memiliki kadar 12% dari total alkaloid (Cinosi et al., 2015).



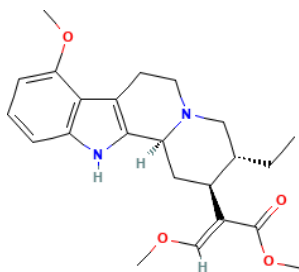
Gambar 2. Mitraginin

Sumber: National Library of Medicine National Center
for Biotechnology Information



Gambar 3. 7-Hydroxymitragynine

Sumber: National Library of Medicine National Center
for Biotechnology Information



Gambar 4. Speciogynine

Sumber: National Library of Medicine National Center
for Biotechnology Information

2.1.4 Manfaat Daun kratom

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, sebagai anti-diabetes, dan sebagai stimulan seksual.

Efek kratom pada manusia tergantung pada dosis yang dikonsumsi. Pada dosis rendah, kratom memiliki efek stimulasi, sedangkan pada dosis lebih tinggi, kratom berfungsi sebagai narkotika, namun bukan zat adiktif yang kuat. Berdasarkan pengalaman pengguna, dosis rendah hingga sedang (1-5 gram) serbuk daun kratom memiliki efek stimulan ringan yang menyenangkan. Pada dosis lebih tinggi (5 -15 gram), kratom memberikan efek seperti senyawa opiat, yaitu analgesik dan sedasi.

Pada dosis ini, kratom mulai digunakan sebagai narkotika. Selain beberapa efek terhadap susunan saraf pusat, kratom juga memiliki efek anti- inflamasi.(Shaik, *et al.*, 2009)

2.2 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. (Sumardjo, 2009). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri dan pada akhirnya bakteri akan mati (Retnowati, Bialangi and Posang, 2011).

2.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa bahan simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI., 1985). Pada umumnya pembuatan simplisia meliputi tahapan sebagai berikut: Pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Depkes RI., 1985):

1. Pengumpulan Bahan Baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia dapat berbeda-beda, tergantung pada beberapa faktor berikut:

a. Bagian tanaman yang digunakan

Bagian tanaman yang digunakan adalah daun kratom.

b. Umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen

Umur tumbuhan atau bagian tanaman yang dipanen memengaruhi kadar senyawa aktif. Panen yang tidak tepat atau tidak seragam menyebabkan mutu yang dihasilkan sering tidak konsisten.

c. Waktu panen

Waktu panen yang tepat adalah saat bagian tanaman mengandung senyawa aktif dalam jumlah terbesar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal pada umur tertentu dari tanaman atau bagian tanaman.

d. Lingkungan tempat tumbuh

Lingkungan tempat tumbuh yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan kadar senyawa aktif. Faktor seperti ketinggian lokasi, kondisi tanah, dan cuaca sangat memengaruhi pertumbuhan tanaman (Depkes RI, 1985).

2. Sortasi Basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari simplisia (Depkes RI, 1985).

3. Pencucian

Pencucian bertujuan menghilangkan tanah atau pengotor lain yang melekat pada simplisia (Depkes RI, 1985).

4. Perajangan

Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penyimpanan (Depkes RI, 1985).

5. Pengeringan

Tujuan pengeringan adalah menghasilkan simplisia yang tahan lama dan tidak mudah rusak. Pengeringan dilakukan hingga kadar air $<5\%$ untuk menghentikan reaksi enzimatis dan mencegah pembusukan atau pertumbuhan jamur. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pengeringan:

a. Suhu pengeringan

Suhu tergantung bahan simplisia dan metode pengeringan. Simplisia dapat dikeringkan pada suhu $30-90^{\circ}\text{C}$. Untuk zat mudah menguap atau tidak tahan panas, suhu terbaik adalah $30-45^{\circ}\text{C}$, atau menggunakan pengeringan vakum.

- b. Kelembaban udara
- c. Aliran udara
- d. Waktu pengeringan
- e. Luas permukaan bahan (Depkes RI, 1985).

6. Sortasi Kering

Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan simplisia kering dari bahan pencemaran yang masih ada (Depkes RI, 1985).

7. Pengepakan

Simplisia harus dikemas dalam wadah yang sesuai dengan sifatnya. Beberapa hal yang perlu diperhatikan:

- a. Wadah tidak beracun.
- b. Wadah tidak bereaksi dengan simplisia.
- c. Wadah mampu melindungi simplisia dari kelembaban, penyerapan air, penguapan zat berkhasiat, dan faktor lain (Depkes RI, 1985).

8. Penyimpanan

Simplisia sebaiknya disimpan dengan memperhatikan hal-hal berikut:

- a. Ruang sejuk dan kering dengan temperatur 15-30°C, atau temperatur dingin 0-5°C.

- b. Ruangan memiliki ventilasi yang memadai.
- c. Ruangan terlindung dari sinar matahari langsung, air hujan, serangga, hewan lain, dan pencemaran. (Sumber: Depkes RI, 1985).

2.3.2 Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes., 1995). Ada beberapa jenis ekstrak yakni ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair jika hasil ekstraksi masih bisa dituang, biasanya kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental jika memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering jika mengandung kadar air kurang dari 5% (Voigt., 1994).

Ekstraksi adalah penarikan komponen senyawa yang diinginkan dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana komponen senyawa yang diinginkan larut. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi berdasarkan daya larut zat aktif dan zat yang tidak diinginkan, juga bergantung pada tipe preparat farmasi yang diperlukan (Ansel., 1989).

Ekstraksi dilakukan untuk mengambil zat-zat yang terkandung dalam suatu campuran. Ekstraksi merupakan proses yang secara selektif mengambil zat terlarut dengan bantuan pelarut. Metode pemisahan pada ekstraksi pelarut menggunakan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan adalah like dissolve like, yaitu pelarut polar akan

melarutkan senyawa polar dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar (Harborne., 1987).

2.4 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa dalam suatu ekstrak menggunakan dua jenis pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umum digunakan untuk fraksinasi meliputi n-heksan, , dan etanol. n-heksan digunakan untuk menarik lemak dan senyawa non-polar, dan etanol untuk senyawa polar. Melalui proses ini, sifat kepolaran senyawa yang akan dipisahkan dapat diidentifikasi. Senyawa non-polar akan larut dalam pelarut non-polar, sementara senyawa polar akan larut dalam pelarut polar (Mutiasari, 2012).

2.5 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk (Cairns., 2009)

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan di serap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang di serap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet (Sastrohamidjojo., 2007).

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-350nm) dan sinar tampak (350-800nm) oleh suatu senyawa. Serapan

cahaya UV atau Vis (cahaya tampak) mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih rendah.

Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu jenis spektroskopi yang sering digunakan dalam analisis kimia dan biologi. Spektrofotometer ini didasarkan pada interaksi antara materi dengan radiasi elektromagnetik. Apabila seberkas radiasi (cahaya) dikenakan pada cuplikan (larutan sampel), maka sebagian dari cahaya diserap oleh molekul-molekul sesuai dengan struktur dari molekul. Setiap senyawa dalam sampel memiliki tingkatan tenaga yang spesifik. Bila cahaya mempunyai perbedaan energi antara tingkatan dasar dan tingkatan tereksitasi yang mengenai cuplikan, maka elektron elektron pada tingkatan dasar akan dieksitasi ke tingkatan tereksitasi, dan sebagian energi cahaya yang sesuai diserap dengan panjang gelombang ini. Elektron yang tereksitasikan melepaskan tenaga melalui proses radiasi panas dan akan kembali pada tingkatan dasar lagi. Perbedaan energi antara tingkat dasar dengan tingkat tereksitasi yang spesifik untuk tiap-tiap bahan/senyawa menyebabkan frekuensi yang diserap juga berbeda-beda (Sastrohamidjojo., 2001).

Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang kontinu, monokromator,

sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembandingan (Khopkar., 2007).

Jika sinar monokromatik melewati suatu senyawa maka sebagian sinar akan diabsorpsi, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan. Nilai regresi yang lebih dari 0,9 menunjukkan adanya hubungan yang baik antara kedua parameter, yaitu konsentrasi dan absorban, sehingga rentang konsentrasi tersebut dapat dijadikan acuan untuk penetapan konsentrasi masing- masing analit pada uji validasi yang lain (Schober dan Schwarte, 2018).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat gelas kimia, timbangan analitik, batang pengaduk, aluminium foil, labu takar, kuvet, *Rotary vacuum evaporator*, corong pisah, kain flanel, corong kaca, bejana maserasi, pipet tetes, pipet volume 20 ml Spektrofotometer UV-Vis, gelas ukur 100 ml.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun kratom, etanol 70%, etanol 96%, N-heksana, BCG (*Bromocresol Green*), Kafein, Fosfat, Asam sitrat, Asam sulfat, Mayer (kalium tetraiodomerkurat (II)), Wagner (iodin dalam kalium iodida), Dragendroff (bismut nitrat dalam kalium iodida), NaOH, Aquadest.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Juni 2025 di Laboratorium Pertanian Universitas Tanjungpura Pontianak.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Bahan

Bahan penelitian berupa daun kratom tua namun belum menguning yang diambil di daerah Kapuas Hulu, Kalimantan Barat.

3.4.2 Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura. Determinasi dilakukan untuk memastikan bahwa jenis tanaman kratom yang digunakan dalam sampel penelitian sesuai dengan identifikasi taksonomi yang benar.(Siti, *et al* 2014)

3.4.3 Pembuatan Simplisia Daun Kratom

Daun kratom disortasi basah lalu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, lalu ditiriskan, selanjutnya dirajang atau dipotong kecil-kecil. Kemudian dikeringkan dengan cahaya matahari selama 3-5 hari selanjutnya sortasi kering (Kursia., 2016).

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{\text{Bobot Simplisia Basah} \times \text{Bobot Simplisia Kering}}{\text{Bobot Simplisia Basah}} \times 100\%$$

(Materia Medika Indonesia., 1995).

3.4.4 Maserasi

Serbuk simplisia kering daun kratom (*Mitragyna speciosa*) ditimbang sebanyak 500 gram lalu dimasukan ke dalam wadah maserasi, ditambahkan pelarut etanol 96% sampai serbuk simplisia terendam sempurna, lalu didiamkan selama, 3 hari, dalam wadah tertutup dan dilindungi dari sinar matahari langsung sambil diaduk setiap 24 jam sekali selama 5 menit. Maserasi yang telah selesai selanjutnya disaring dengan menggunakan kain fanel dengan tujuan agar ampas terpisah dari

ekstraknya. Ekstrak hasil maserasi kemudian di kentalkan. Hasil maserasi yang akan digunakan adalah hasil yang paling optimal. (Muis, 2017).

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Ekstrak Kental}}{\text{Simplisia Basah}} \times 100\%$$

(Materia Medika Indonesia., 1995).

3.4.5 Fraksinasi

Ekstrak kental daun kratom (*Mitragyna speciosa*) sebanyak 10 gram dilarutkan dalam 100 mL etanol 96% (pelarut polar) kemudian dicampur dengan 100 mL n-heksana (pelarut non-polar) kedalam corong pisah. Campuran dikocok selama 5 menit dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yang jelas. Lapisan atas merupakan fraksi n-heksana yang mengandung senyawa non-polar seperti alkaloid bebas, sedangkan lapisan bawah adalah fraksi etanol yang mengandung senyawa polar. Kedua lapisan kemudian dipisahkan secara hati-hati. Masing-masing fraksi dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh fraksi kental. Fraksi n-heksana dan etanol ini kemudian siap untuk dianalisis kadar alkaloid totalnya (Noviyanty et al., 2020).

3.4.6 Uji Kualitatif Alkaloid

Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun kratom yaitu:

Fraksi daun Kratom (*Mitragyna speciosa*) dilarutkan dengan 5 ml HCL 2N. Larutan yang didapatkan. kemudian dibagi menjadi 3 tabung reaksi.

Mayer, wagner dan dragendroff diberikan sebanyak 3 tetes. Hasil positif alkaloid bila terbentuk endapan putih dengan pereaksi mayer, endapan cokelat dengan pereaksi wagner dan endapan jingga dengan pereaksi dregendroff (Simaremare, 2014).

3.4.7 Penentuan alkaloid total dengan Spektrofotometer

a. Pembuatan Larutan Bromocresol Green (BCG) 10

Ditimbang sebanyak 69,8 mg bromocresol green kemudian dicampurkan dengan 3 mL NaOH 2N dan 5 mL aquades. Lalu panaskan pada suhu 50-60°C selama 15 menit sampai larut sempurna. Kemudian dicampurkan dengan 1 liter aquades (Patel dan Trivedi., 2015). BCG membentuk kompleks berwarna dengan alkaloid dalam kondisi asam (pH 4.7) karena protonasi gugus amin alkaloid ($-NH^+$) yang berikatan dengan anion BCG. Kompleks ini diekstraksi ke kloroform untuk pengukuran selektif. (Patel dan Trivedi., 2015).

b. Pembuatan Buffer Fosfat pH 4,7

Dapar fosfat pH 4,7 dibuat dengan cara disodium fosfat (Na_2HPO_4) 0,2 M dengan larutan asam sitrat ($C_6H_8O_7$) 0,2 M secara perlahan sambil terus mengaduk. Ukur pH larutan menggunakan pH meter atau kertas pH, dan jika pH lebih tinggi dari 4,7, tambahkan sedikit asam sitrat, atau jika pH lebih rendah, tambahkan sedikit

disodium fosfat. Lanjutkan penyesuaian hingga pH mencapai 4,7 (Patel dan Trivedi., 2015).

c. Preparasi Larutan Induk Kafein

Sebanyak 0,25 gram kafein dilarutkan dengan aquades panas, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL agar didapatkan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dipipet sebanyak 2,5 mL lalu masukkan ke dalam labu ukur 25 mL lalu ditambahkan aquades hingga batas tanda sehingga memperoleh konsentrasi 100 ppm (Arwangga. *et al* 2016).

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kafein

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan kafein 100 ppm ditambahkan 2 mL buffer fosfat dan 2 mL larutan BCG (*Bromocresol Green*) kemudian diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak daun kratom (Arwangga et al., 2016).

e. Pembuatan Kurva Baku Kafein

Diambil 1 mL; 1,5 mL; 2 mL; 2,5 mL; dan 3 mL dari larutan kafein yang telah diencerkan sampai 10 mL agar dapat diperoleh konsentrasi larutan yang berturut-turut yaitu: 10 ppm; 15 ppm; 20 ppm; 25 ppm; dan 30 ppm. Kemudian ukur absorbansi pada panjang

gelombang maksimum kafein yang telah ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Arwangga et al., 2016).

f. Penentuan Kadar Alkaloid Total

Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan cara mengambil sampel sebanyak 2 mL. Tambahkan sebanyak 2 mL buffer fosfat pH 4,7 dan sebanyak 2 mL larutan BCG (*Bromocresol Green*) kemudian di ekstraksi dengan 3 mL kloroform sebanyak tiga kali menggunakan *vortex*. Hasil ekstrak kloroform diuapkan menggunakan *waterbath* kemudian dilarutkan menggunakan kloroform sebanyak 10 mL. Lalu diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum kafein (Karim *et al.*, 2022) dilakukan pengukuran sebanyak 3 kali. Kloroform digunakan untuk ekstraksi selektif kompleks BCG-alkaloid dari fase air, memisahkannya dari senyawa polar yang tidak diinginkan (Patel dan Trivedi., 2015).

Untuk menghitung kadar alkaloid yang terdapat pada daun keratom dapatdihitung dari nilai absorbansi yang diperoleh dari konsentrasi *Bromocresol Green* (BCG) dengan memperhitungkan factor pengenceran. persamaan regresi linier dengan menggunakan metode *Lambert Beer*.

$$y = a + bx$$

Keterangan :

y = Absorbansi

x = konsentrasi Kafein $\mu\text{g/ml}$

a = *intercept* (perpotongan garis)

b = *slope* (kemiringan)

Kemudian hitung kadar dengan rumus :

$$\%Kadar = \frac{C \times fp \times V}{W} \times 100\%$$

Selanjutnya data yang didapatkan dianalisis secara deskriptif.

Keterangan :

C = konsentrasi Kafein ($\mu\text{g/ml}$)

V = volume sampel

Fp = faktor pengenceran

W = berat sampel

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

- 1) Penelitian ini berhasil mengidentifikasi kandungan alkaloid dalam daun kratom (*Mitragyna speciosa*) melalui uji kualitatif dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff,
- 2) Hasil analisis kuantitatif menunjukkan bahwa fraksi n-heksana memiliki kadar alkaloid total (80,565%) dibandingkan fraksi etanol (20,858%).

5.2 Saran

Untuk penelitian mendatang, disarankan untuk mengoptimalkan metode ekstraksi dan pengukuran agar absorbansi berada dalam rentang ideal (0,2–0,8) guna meminimalkan kesalahan fotometrik. Perlu juga dilakukan eksplorasi variabel seperti waktu maserasi dan jenis pelarut untuk meningkatkan rendemen dan akurasi hasil. Selain itu, uji toksisitas dan aktivitas farmakologis alkaloid dari kedua fraksi dapat memberikan wawasan tentang potensi terapetiknya. Validasi metode dengan teknik analisis lain seperti HPLC juga penting untuk memastikan keandalan data. Dengan demikian, temuan ini tidak hanya memperkaya pengetahuan ilmiah tetapi juga membuka peluang pengembangan daun kratom sebagai sumber senyawa bioaktif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E., Sephia, R. A., Srifitriani, E., Lustianah, T., & Khafina Azzahra, S. (2023). Analisis Kadar Kafein Kopi, Teh, Dan Coklat Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Comprehensive Science (JCS)*, 2(1), 7–15. <https://doi.org/10.59188/jcs.v2i1.178>
- Ansel, H.C., 1989, Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi IV, diterjemahkan oleh Ibrahim, F., 390-393, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Ansel, H.C., Allen, L.V., and Popovich, N.G., 2011, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 9th Ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 294-303.
- Arwangga A F. Raka Astiti Asih 1, A., & Sudiarta, L. W. (2016). Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Di Desa Sesaot Narmada Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Kimia*.
- Cairns D. (2009). *Essentials of Pharmaceutical Chemistry Second Edition* (Intisari Kimia Farmasi Edisi Kedua). Penerjemah : Puspita Rini. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan Pertama, 3-11, 17-19, Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Depkes RI, 1979, *Farmakope Indonesia, Edisi III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Jakarta.
- Depkes RI, 1989, *Materia Medika Indonesia, jilid III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Jakarta.
- Depkes RI, 1995, *Materia Medika Indonesia, jilid VI*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Jakarta.
- Depkes Ri, 2000, *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*, Direktorat Jendral Pengawasan obat dan makanan. Departemen Kesehatan RI. Jakarta
- Ditjen POM. (1995). *Materia Medika Indonesia, Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dwi Setyati , Desy Lutfianasari, T. R. (2017). Digital Repository Universitas Jember. *Jurnal Biologi Udayana, volume 26*.
- Febriani, S. 2022. “Analisis Deskriptif Standar Deviasi”. *Junal Pendidikan Tambusai*. Vol. 6, No. 1, Hal. 910-913.
- Hadinata, S. (2018). Tingkat Pengembalian (Return), Risiko, dan Koefisien Variasi pada Saham Syariah dan Saham Nonsyariah. *AKTSAR: Jurnal Akuntansi Syariah*, 1(2), 171. <https://doi.org/10.21043/aktsar.v1i2.5089>

- Harborne, J. B., 1987, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira, Edisi kedua, 5, 69-76, ITB Press, Bandung.
- Iskandar, D., & Ramdhan, N. A. (2020). Pembuatan Teh Daun Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Asal Kalimantan Barat Pada Variasi Suhu Pengeringan. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 20-26.
- Karim, A. (2022). Penentuan kadar alkaloid total ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum L.*) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Pelamonia/Journal Pharmacy Of Pelamonia*, 2(2), 42-47.
- Khopkar, 2007, Konsep Dasar Kimia Analitik, UI Press, Jakarta.
- Noviyanty. Y., et.al (2020). Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder Daun Ketepeng Cina *Senna alata* (L.) Roxb Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Ilmiah Farsmacy*.
- Patel, R. K., Patel, J. B., & Trivedi, P. D. (2015). Spectrophotometric method for the estimation of total alkaloids in the *Tinospora cordifolia* M. and its herbal formulations. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(10), 249–251.
- Phaniendra, A.; Jestadi, D.B.; Periyasamy, L. 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem.*30(1), 11–26. DOI: 10.1007/s12291-014-0446-0.
- Rahmah, N., Rohama, R., & Melviani, M. (2023). Penetapan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora foetida L.*) Dengan Tingkatan Fraksi. *Sains Medisina*, 1(4), 185-190.
- Retnowati, Y., Bialangi, N. and Wingti, N. (2011) ‘Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*)’, jurnal sainstek, vol.6 (2), p. 1.
- Rohmah, M. K. (2020). Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan dan Trombolitik Alkaloid Total Daun Pepaya (*Carica papaya L*) secara in Vitro. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(2), 1-20.
- Schober, P. and Schwarte, L. A. (2018) Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation, *Anesthesia and Analgesia*, 126 (5), 1763–1768
- Singh, D., Narayanan, S., dan Vicknasingam, B. Traditional and non-traditional uses of *Mitragynine* (Kratom): A survey of the literature, *Brain Research Bulletin*. 2016; 126(Pt1):41–46, diperoleh melalui situs internet: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.05.004>.

- Suharyanto, S., & Prima, D. a. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110–119. <https://doi.org/10.31596/cjp.v4i2.89>
- Sumardjo, D. 2009. Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksata. 1st edition. Edited by A. Hanif, J. Marunung, and J. Simanjuntak. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Voight, R., 1994, Buku Pengantar Teknologi Farmasi, 572-574, diterjemahkan oleh Soedani, N., Edisi V, Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada Press.
- Wahyono, S., Widowati, L., Handayani, L., Sampurno, O., D., Haryanti, S., Fauzi., Ratnawati, G., & Budiarti, S., M. 2019. Kratom : Prospek Kesehatan dan Sosial Ekonomi. Jakarta. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. ISBN 978-602-373-162-6