

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kratom merupakan tumbuhan yang termasuk dalam famili *Rubiaceae* dengan nama latin *Mitragyna speciosa* Korth yang banyak dijumpai di Asia Tenggara salah satunya dari Indonesia, Malaysia, dan Thailand (Dewatisari and Nuryandani, 2025). Tanaman ini dapat mencapai tinggi 4-16 meter dengan daun lonjong berwarna hijau tua dan tulang daun yang menonjol. Di Indonesia, kratom banyak ditemukan di Kalimantan Barat, khususnya di daerah Putussibau, dan secara tradisional digunakan masyarakat setempat sebagai obat herbal (Hulu, 2023). Namun, kratom kini sering disalahgunakan, dijual bebas dalam bentuk serbuk atau ekstrak, bahkan dipasarkan lewat platform online seperti *smoke shops* (Indoneisa, 2025). Kondisi ini menunjukkan pentingnya pengawasan dan regulasi terhadap peredaran kratom di Indonesia.

Daun kratom memiliki berbagai khasiat sebagai obat herbal, antara lain digunakan sebagai tapal untuk luka, obat demam, pereda nyeri otot, pengurangi nafsu makan, dan pengobatan diare (Coonan and Tatum, 2021). Beberapa penelitian melaporkan efek antinociceptive dan antidepresan dari kratom (Tanna *et al.*, 2023). Secara fitokimia, daun kratom mengandung lebih dari 54 jenis alkaloid, dengan mitragin sebagai alkaloid mayor dengan kandungan mencapai 66% dari total alkaloid. (Sharma and Barnes, 2022). Selain mitraginin, terdapat beberapa jenis alkaloid lain, yaitu 7-hidroksimitraginin, paynanthein, speciogynine, speciociliatine, mitraciliatin, corynantheidin, dan 9-corynantheidin, yang masing-masing memiliki potensi farmakologis yang berbeda.

Kandungan mitraginin pada daun kering berkisar 1-2% dari berat daun kering, dapat mencapai 2/3 bagian dari total alkaloid (Zhang *et al.*, 2022). Kandungan mitraginin paling tinggi terdapat di daun kratom, karena daun merupakan bagian tanaman yang berfungsi sebagai tempat fotosintesis dan penyimpanan senyawa metabolit sekunder. Sementara itu, bagian lain seperti

batang dan akar mengandung alkaloid, tetapi dalam konsentrasi yang lebih rendah, biasanya hanya sekitar 0,5-1% dari berat kering.

Mitraginin disintesis melalui jalur biosintesis alkaloid indol-monoterpenoid, yang melibatkan prekursor triptofan dan geranyl pirofosfat (GPP) dari jalur mevalonat. Proses ini berlangsung melalui reaksi enzimatik berupa kondensasi dan modifikasi struktur, menghasilkan beragam alkaloid dengan struktur dan fungsi berbeda. Kompleksitas jalur ini mencerminkan pentingnya interaksi enzim dan prekursor dalam pembentukan mitraginin dan alkaloid lain pada tanaman kratom (Laforest *et al.*, 2023). Senyawa Mitraginin memiliki berat molekul sekitar 398,5 g/mol dan termasuk dalam kelompok indole alkaloid dengan kelarutan yang baik dalam pelarut organik seperti etanol, metanol, dan kloroform (Karunakaran *et al.*, 2022). Mitraginin diketahui memiliki aktivitas farmakologis yang kompleks, termasuk sebagai agonis reseptor μ -opioid dengan efikasi rendah, serta menunjukkan efek analgesik, antidepresan, stimulan (pada dosis rendah), sedatif dan euforik (pada dosis tinggi), antioksidan, antiradang, dan antidiare (Ramachandram *et al.*, 2020).

Berdasarkan warna tulang daun, kratom dapat diklasifikasikan menjadi tiga varietas utama yaitu merah (*red vein*), hijau (*green vein*), dan putih (*white vein*). Perbedaan warna tulang daun ini diduga berkaitan dengan kandungan alkaloid, terutama mitraginin. Varietas merah umumnya memiliki efek sedatif yang lebih kuat dengan kandungan mitraginin sekitar 1,0-1,4%, yang membuatnya populer di kalangan pengguna yang mencari efek relaksasi dan pengurangan kecemasan. Sementara itu, varietas putih cenderung memberikan efek stimulan dengan kandungan mitraginin yang lebih tinggi, sering digunakan untuk meningkatkan energi dan fokus. Varietas hijau memberikan efek yang seimbang antara stimulan dan analgesik dengan kadar mitraginin yang relatif tinggi sekitar 1,3-1,8% (Dewatisari and Nuryandani, 2025). Karena itu, penting dilakukan analisis kandungan mitraginin tiap varietas, tidak hanya untuk aspek farmakologi tetapi juga sebagai dasar pengawasan dan regulasi.

Melihat potensi penyalahgunaan dan risiko yang ditimbulkan, Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Indonesia telah menetapkan kebijakan

bahwa kratom tidak diperbolehkan sebagai bahan dalam obat tradisional dan suplemen kesehatan seperti tercantum pada Surat Edaran BPOM Nomor HK.04.4.421.09.16.1740 tentang Pelarangan Penggunaan *Mitragyna speciosa* (kratom) dalam Obat Tradisional dan Suplemen Kesehatan (Kurniawati *et al.*, 2023).

Sejalan dengan Badan Narkotika Nasional (BNN), sejak tahun 2019 telah mengkampanyekan agar kratom dimasukkan ke dalam kategori narkotika golongan I. Langkah ini diwujudkan melalui penerbitan sikap resmi lembaga dalam bentuk surat yang ditandatangani oleh Kepala BNN periode 2018-2020, Heru Winarko. Sikap resmi BNN terkait peredaran dan penyalahgunaan kratom di Indonesia tertuang dalam Surat Edaran BNN tahun 2019 (SE Kepala BNN Nomor B/3985/X/KA/PL.02/2019/BNN). Surat edaran tersebut mendukung keputusan Komisi Nasional yang menetapkan kratom sebagai narkotika golongan I.

Dalam surat edaran tersebut, BNN menyatakan bahwa kratom mengandung senyawa yang berbahaya bagi kesehatan. Pada dosis rendah, kratom memiliki efek stimulan, sedangkan pada dosis tinggi dapat menimbulkan efek sedatif-narkotika. Lebih lanjut, senyawa 7-hidroksimitraginin yang terkandung dalam kratom dinyatakan memiliki efek 13 kali lebih kuat dibandingkan morfin, yang dapat menimbulkan adiksi, depresi pernapasan, bahkan kematian (Casini *et al.*, 2023). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun kratom memiliki potensi manfaat terapeutik, risiko yang terkait dengan penggunaannya sangat signifikan.

Oleh karena itu, pengembangan metode analisis yang akurat sangat diperlukan untuk mendukung fungsi pengawasan dan forensik, khususnya dalam mendeteksi keberadaan mitraginin dalam produk-produk ilegal atau yang tidak sesuai regulasi. Dalam konteks forensik, metode analisis ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi kandungan kratom dalam sampel biologis maupun barang bukti yang beredar secara ilegal, mendukung tindakan hukum, dan perlindungan masyarakat dari risiko penyalahgunaan tanaman obat (Edar and Kratom, 2020).

Dalam konteks pengembangan metode analisis, beberapa penelitian telah melakukan identifikasi dan kuantifikasi mitraginin menggunakan berbagai teknik instrumentasi, termasuk *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Mudge and Brown, 2017), *Ultrapformance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (UPLC-MS) (Manwill *et al.*, 2022), *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) (Casey *et al.*, 2015), *Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) (Lee *et al.*, 2018) serta *Capillary Electrophoresis* (CE) dan *Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry* (CE-MS) (Horniakova *et al.*, 2025).

Pengembangan metode validasi dan analisis mitraginin telah menjadi fokus penting dalam beberapa penelitian untuk memastikan akurasi dan reliabilitas deteksi senyawa ini. Penelitian yang dilakukan oleh Elsa *et al.* (2016) menggunakan ekstrak metanol:kloroform (4:1,v/v) dan pemisahan kromatografi lapisan tipis (KLT) dengan densitometri untuk memperoleh fraksi mitraginin dengan nilai R_f sekitar 0,5. Sementara itu, Mudge and Brown (2017) mengembangkan metode HPLC-UV dengan kolom C18 (λ 226 nm), menunjukkan linearitas $r^2 \geq 0,999$ pada 1–500 mg/L, LOD 0,2 mg/L, LOQ 0,6 mg/L, dan presisi RSD 0,4–7,3%. Casey *et al.* (2016) mengoptimalkan GC-MS, LC-MS/MS, dan UPLC-PDA, dengan hasil validasi menunjukkan kadar rata-rata 1,041% (RSD 4,2%) untuk UPLC-PDA dan 1,140% (RSD 6,81%) untuk LC-MS/MS. Lee *et al.* (2018) memvalidasi LC-MS/MS sensitif untuk mitraginin dan metabolitnya (16-COOH- dan 9-O-demetil-mitraginin) dengan LOQ masing-masing 1, 2, dan 50 ng/mL, menunjukkan presisi dan akurasi tinggi untuk pemantauan terapeutik dan forensik.

Meskipun berbagai metode analisis telah dikembangkan, metode *Gas Chromatography* (GC) dengan detektor *Flame Ionization Detector* (FID) tetap dipilih dalam penelitian ini karena beberapa keunggulan strategis. **Pertama**, instrumen GC-FID lebih umum tersedia di laboratorium Indonesia dibandingkan LC-MS atau LC-MS/MS, sehingga lebih mudah diakses untuk analisis rutin. **Kedua**, GC memiliki sensitivitas dan selektivitas tinggi untuk senyawa semi-volatil seperti mitraginin. **Ketiga**, GC berpotensi dikembangkan menjadi metode analisis rutin secara nasional, mendukung pengawasan dan

riset berbasis tanaman obat lokal (Kurniawati *et al.*, 2023). **Keempat**, metode GC-FID memiliki biaya operasional yang lebih rendah dibandingkan metode berbasis spektrometri massa, sehingga lebih ekonomis untuk analisis dalam jumlah besar. **Kelima**, GC-FID memiliki *dynamic range* yang sangat luas (hingga 10^7), memungkinkan deteksi dan kuantifikasi dari tingkat persentase hingga *parts per billion* (ppb) dalam satu kali injeksi tanpa perlu pengenceran ulang (Spanjers *et al.*, 2017). Dengan demikian, pengembangan metode GC untuk analisis mitraginin tidak hanya relevan secara teknis, tetapi juga strategis untuk mendukung program pengawasan nasional terhadap penyalahgunaan kratom.

Persiapan sampel simplisia merupakan tahap kritis dalam analisis fitokimia yang mempengaruhi kualitas dan kuantitas senyawa target yang dapat diekstraksi. Dalam penelitian ini, digunakan daun kratom dari tiga varietas berbeda (merah, hijau, dan putih) untuk menganalisis variasi kandungan mitraginin antar varietas. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% yang efektif untuk melarutkan alkaloid mitraginin (Sharma & Barnes, 2022). Purifikasi mitraginin dari ekstrak dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair asam-basa untuk memisahkan alkaloid dari senyawa pengganggu. Metode ini memanfaatkan sifat basa alkaloid yang dapat membentuk garam dengan asam (Kruegel & Grundmann, 2018). Ekstrak diasamkan dengan asam asetat 10% untuk membentuk garam alkaloid yang larut dalam air, kemudian dipartisi dengan etil asetat untuk membuang senyawa non-alkaloid seperti lemak dan klorofil (Jaya *et al.*, 2025). Fase air dibasakan dengan NH_4OH hingga pH 9-10, dan alkaloid bebas diekstraksi menggunakan kloroform (Eastlack *et al.*, 2020). Fraksi kloroform dievaporasi untuk mendapatkan fraksi alkaloid murni, kemudian dilarutkan dalam metanol sebelum diinjeksikan ke GC-FID (Limsuwanchote *et al.*, 2015).

Penetapan kadar mitraginin dilakukan menggunakan *Gas Chromatography* (GC) dengan detektor FID (*Flame Ionization Detector*). Proses analisis diawali dengan *System Suitability Test* (SST) untuk memastikan sistem kromatografi berfungsi optimal. GC-FID dipilih karena memiliki beberapa keunggulan signifikan, antara lain sensitivitas yang sangat tinggi

dengan limit deteksi minimal hingga level *picogram carbon* per detik ($< 1,2 \text{ pg C/s}$) (Wei-Hao Li *et al.*, 2021). Detektor FID juga menunjukkan reliabilitas tinggi, kemudahan pengoperasian, serta reproducibility yang sangat baik dengan presisi tinggi ($\text{RSD} < 2\%$) untuk analisis rutin (Lorenzo-Parodi *et al.*, 2023). Lebih lanjut, FID bersifat universal untuk hampir semua senyawa organik yang mengandung karbon, termasuk alkaloid seperti mitraginin, dan tidak memberikan respons terhadap gas pembawa umum (helium, nitrogen) atau kontaminan seperti air dan oksigen, sehingga memberikan baseline yang stabil dan noise yang rendah (Bi *et al.*, 2021). Karakteristik ini menjadikan GC-FID sangat sesuai untuk analisis kuantitatif mitraginin dalam konsentrasi rendah seperti dalam sampel forensik atau produk herbal yang dicurigai mengandung kratom.

Validasi metode mengacu pada ICH Q2(R1) 2024 dan USP 43-NF 38 (2020), mencakup selektivitas, linieritas ($r \geq 0,99$), akurasi (recovery 95-105%), presisi (*repeatability* dan *Intermediate precision*), range, serta spesifisitas untuk memastikan tidak ada interferensi senyawa lain. Robustness diuji dengan memvariasikan suhu kolom dan laju alir gas pembawa guna menilai kestabilan metode terhadap perubahan kecil kondisi analisis. Parameter validasi perlu dicantumkan secara lengkap dalam protokol validasi agar konsistensi mutu analisis terjamin dan persyaratan regulasi industri farmasi dapat dipenuhi.

Berdasarkan uraian di atas, meskipun telah terdapat berbagai metode analisis mitraginin yang dikembangkan, belum terdapat validasi komprehensif metode GC-FID untuk penetapan kadar mitraginin yang mengacu pada standar ICH Q2(R1) dan USP secara simultan pada tiga varietas kratom (merah, hijau, putih). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan dan memvalidasi metode GC-FID yang *robust*, akurat, dan terstandardisasi untuk penetapan kadar mitraginin dalam ketiga varietas kratom tersebut. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan metode standar yang dapat digunakan untuk pengawasan kratom di Indonesia, mendukung upaya penegakan regulasi BPOM dan BNN, serta memberikan data ilmiah mengenai profil kandungan mitraginin pada berbagai varietas kratom yang beredar di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah metode analisis GC-FID memenuhi parameter validasi meliputi spesifisitas, selektivitas, linieritas, range, akurasi, dan presisi untuk penetapan kadar mitraginin dari fraksinasi cair-cair asam-basa daun kratom (*Mitragyna speciosa*)?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar mitraginin dari fraksinasi cair-cair asam-basa daun kratom varietas merah, hijau, dan putih menggunakan metode GC-FID yang tervalidasi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menentukan kadar mitraginin dalam daun kratom (*Mitragyna speciosa*) varietas merah, hijau, dan putih menggunakan metode *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* (GC-FID) dengan mitraginin standar (sigma supelco), dalam rangka pengembangan metode analisis yang tervalidasi dan terstandarisasi berbasis tanaman obat Indonesia yang valid dan aplikatif untuk kepentingan pengawasan, forensik, serta mendukung kemandirian bahan baku lokal.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membandingkan dengan persyaratan validasi metode analisis GC-FID untuk parameter validasi yaitu, spesifisitas, selektivitas, linieritas, range, akurasi, dan presisi untuk penetapan kadar mitraginin dari fraksinasi cair-cair asam-basa daun kratom (*Mitragyna speciosa*).
2. Mengetahui perbedaan kadar mitraginin dari fraksinasi cair-cair asam-basa daun kratom varietas merah, hijau, dan putih menggunakan metode GC-FID yang tervalidasi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Secara teoritis, penelitian ini memberikan kontribusi signifikan terhadap pengembangan fitokimia dan analisis bahan alam dengan memperkaya pemahaman ilmiah mengenai karakteristik alkaloid mitraginin

dalam berbagai varietas kratom Kalimantan, sekaligus memperluas wawasan tentang keanekaragaman hayati Indonesia. Studi ini membangun fondasi teoritis untuk pengembangan metodologi analisis senyawa bioaktif menggunakan *Gas Chromatography - Flame Ionization Detector* (GC-FID) yang dapat menjadi acuan prosedur analitik di masa mendatang. Hasil kajian ini diharapkan menjadi landasan ilmiah bagi penelitian farmakologi, toksikologi, dan bioaktivitas mitraginin, serta memperkuat basis pengetahuan tentang alkaloid tanaman tropis dari familia *Rubiaceae*. Penelitian ini juga membuka peluang pengembangan teori baru dalam farmasi forensik, analisis kuantitatif senyawa psikotropika, dan standardisasi bahan alam untuk mendorong inovasi komprehensif dalam kimia analitik dan farmasi.

1.4.2 Manfaat Praktisi

Dari segi praktis, penelitian ini memiliki nilai aplikatif tinggi bagi berbagai pemangku kepentingan. Lembaga regulasi seperti BPOM (Badan Pengawasan Obat dan Makanan) dapat memanfaatkan data ini sebagai rujukan ilmiah dalam penyusunan kebijakan pengawasan produk herbal kratom, sementara BNN (Badan Narkotika Nasional) dapat menggunakannya sebagai dasar merumuskan strategi pengendalian dan pemanfaatan kratom yang bertanggung jawab sesuai kepentingan kesehatan masyarakat.

Industri farmasi dan herbal akan memperoleh manfaat melalui tersedianya metode analisis terstandarisasi untuk menentukan kadar mitraginin dalam bahan baku dan produk jadi, yang mendukung penjaminan kualitas dan keamanan produk herbal. Laboratorium pengujian dapat mengadopsi metodologi ini untuk analisis rutin dalam *research and development* maupun *quality control*.

Institusi pendidikan tinggi akan memperoleh materi ilmiah yang dapat diintegrasikan ke dalam kurikulum pembelajaran, khususnya mata kuliah analisis instrumental dan fitokimia, serta memperkaya *repository* ilmiah sebagai referensi mahasiswa dan peneliti. Pada akhirnya, masyarakat luas akan memperoleh informasi ilmiah akurat mengenai kandungan aktif

kratom untuk mendorong penggunaan tanaman obat tradisional secara bijak berdasarkan bukti ilmiah yang kuat.

