

SKRIPSI

**VALIDASI METODE *GAS CHROMATOGRAPHY-FLAME
IONIZATION DETECTOR* UNTUK ANALISIS KANDUNGAN
MITRAGININ DALAM PRODUK KOMERSIAL
MENGANDUNG KRATOM (*Mitragyna speciosa*)**



**NUR HALIZA FIRDAUSI
NIM: 20221666037**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA
2025**

SKRIPSI

**VALIDASI METODE *GAS CHROMATOGRAPHY-FLAME
IONIZATION DETECTOR* UNTUK ANALISIS KANDUNGAN
MITRAGININ DALAM PRODUK KOMERSIAL
MENGANDUNG KRATOM (*Mitragyna speciosa*)**

Diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surabaya



NUR HALIZA FIRDAUSI

NIM: 20221666037

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA**

2025

LEMBAR PERNYATAAN TIDAK MELAKUKAN PLAGIASI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Haliza Firdausi

NIM : 20221666037

adalah mahasiswa Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surabaya, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Tugas Akhir/Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Validasi Metode *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* untuk Analisis Kandungan Mitraginin dalam Produk Komersial Mengandung Kratom (*Mitragyna speciosa*)

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 24 Desember 2025

Yang membuat pernyataan,



Nur Haliza Firdausi

NIM: 20221666037

LEMBAR PERNYATAAN PUBLIKASI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Haliza Firdausi

NIM : 20221666037

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Validasi Metode *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* untuk Analisis Kandungan Mitraginin dalam Produk Komersial Mengandung Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Untuk dipublikasi atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Surabaya untuk Kepentingan Akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Surabaya, 24 Desember 2025

Yang membuat pernyataan,



Nur Haliza Firdausi

NIM: 20221666037

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui isi serta susunannya, sehingga dapat diajukan dalam ujian Skripsi pada Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya

Surabaya, 24 Desember 2025

Menyetujui

Pembimbing I

Pembimbing II

apt. Etik Wahyuningsih, S.Farm.,M.Farm.

NIDN. 071118007

Dr. apt. Isnaeni, M.S.

NIDN. 8983050022

Mengetahui

Ketua Program Studi S1 Farmasi

Dr. apt. Isnaeni, M.S.

NIDN. 8983050022

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi ini telah dipertahankan di depan tim penguji ujian sidang Skripsi pada
Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surabaya
Pada tanggal 24 Desember 2025

Tim Penguji

Tanda Tangan

Ketua Penguji : apt. Etik Wahyuningsih, S.Farm.,M.Farm (.....)

Penguji 1 : Prof. Dr. apt. Djoko Agus Purwanto, M.Si. (.....)

Penguji 2 : Dr. apt. Isnaemi, MS (.....)

Mengesahkan

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surabaya


Dr. Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep

NIP. 012.05.1.1987.14.113

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menempuh ujian akhir Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan di Universitas Muhammadiyah Surabaya, tahun 2025 dengan judul penelitian “Validasi Metode *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* Untuk Analisis Kandungan Mitraginin Dalam Produk Komersial Mengandung Kratom (*Mitragyna speciosa*)”.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak, untuk itu perkenankan penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. apt. Etik Wahyuningsih, S.Farm.,M.Farm selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan petunjuk, saran, dorongan, dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.
2. Dr. apt. Isnaeni, M.S selaku dosen pembimbing serta yang telah memberikan petunjuk, saran, dorongan, dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.
3. Dr. Mundakir, S.Kep., Ns., M.Kep selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Surabaya beserta seluruh jajarannya.
4. Dr. Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya beserta seluruh jajarannya.
5. Dr. apt. Isnaeni, M.S selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya beserta seluruh jajarannya.
6. Prof. Dr. Apt. Djoko Agus Purwanto, M.Si selaku dosen penguji atas segala masukan dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
7. apt. Karima Samlan, S.Farm., M.Farm.Klin., selaku dosen wali yang dengan penuh perhatian telah mendampingi, membimbing, dan memberikan motivasi kepada penulis selama masa perkuliahan.

8. Seluruh dosen Program Studi SI Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan dan membimbing penulis dengan penuh kesabaran selama menjalani pendidikan.
9. Seseorang yang sampai kini tetap selalu ada yaitu ibu Innaniyah, beliau merupakan pelukis warna di kanvas jiwa ini, seseorang yang selalu ada saat diri ini butuh bersandar, tempat dimana diri ini menambatkan lelah setelah riuhnya dunia, cintanya dalam mendukung diri ini selalu hadir, tak perlu berteriak dan tak perlu diminta semuanya datang dalam hangatnya do'a yang tak pernah putus dari diri beliau untuk anak tercintanya. Sekali lagi terimakasih ibu atas semua perjuangannya atas semua dukungannya.
10. Satu kata yang tertera dalam kepala saat diri ini lagi susah, yaitu bapak. Tegas, perhatian dan menyayangi diri ini yang selalu merepotkan dikala dunianya riuh, bapak merupakan sosok yang realistis yang mengajarkan bahwa menjadi pelindung tidak perlu berisik, cukup diam dalam hening semesta. Cinta bapak itu seperti kopi hitam, pahit tapi itu yang membuat mata terbuka. Terimakasih untuk bapak yang selalu bisa mengajarkan hal baru dan selalu ada saat diri ini butuh.
11. Kakak perempuan Qurratul Istiqomah dan kakak laki-laki Moh. Hanif Hidayatullah tercinta. Bayang-bayang merekalah yang menuntun langkahku untuk terus maju tanpa menoleh kebelakang, mereka mengajarkan menjadi kuat bukan tentang egoisnya diri sendiri melainkan tentang bagaimana diri ini beradaptasi terhadap lingkungan sekitar. mereka adalah kompas saat tak tahu harus kemana. Sekali lagi terimakasih untuk rengkuhan tanpa tapinya.
12. Seseorang pendengar, yang sudah meluangkan waktu untuk membantu, dan memberikan saran. Dirimu mengajarkan bukan tentang seberapa mewah tujuan akhirnya, tapi tentang siapa yang berani berjalan kaki melewati badai kemarin. Untuk dirimu terima kasih sudah memilih bertahan sampai detik ini.

13. Sahabat sekaligus mentor yang selalu bersama dan mendukung diri ini, yaitu Elok Siti Nurjannah. Ia Menyadarkan apa yang salah dan apa yang harus dilakukan, tanpa dukungannya semua terasa beda dan berat jika dijalankan sendiri. Tak luput juga untuk teman teman yang telah rela meluangkan waktu membantu dan memberikan saran atas apa yang telah dilalui, semua perjuangan ini tidak akan semeriah itu jika tidak bersama kalian.
14. Utamanya ialah terimakasih untuk jiwa ini yang tak kenal kata menyerah, terima kasih sudah bertahan sehebat ini, melangkah meski lelah, dan tetap tersenyum meski hati sering gemetar serta tetap tenang dikala kepala sedang berisik. Sekali lagi terimakasih telah mengubah apa yang diri ini miliki menjadi cukup, dan mengubah hari biasa menjadi istimewa.

Semoga semua amal kebaikan yang telah diberikan diterima di sisi Allah dan mendapat imbalan pahala dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, besar harapan penulis agar pembaca dapat memberikan kritik dan saran demi perbaikan penulisan di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surabaya, 11 Desember 2025
Yang membuat pernyataan,



Nur Haliza Firdausi
NIM: 20221666037

RINGKASAN

Validasi Metode *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* untuk Analisis Kandungan Mitraginin dalam Produk Komersial Mengandung Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Nur Haliza Firdausi

Tanaman kratom (*Mitragyna speciosa*) mengandung alkaloid utama mitraginin ($\pm 60\text{--}66\%$) yang bersifat agonis parsial reseptor μ -opioid dengan efek analgesik dan sedatif (Alford *et al.*, 2025). Meskipun memiliki potensi terapeutik, mitraginin termasuk senyawa psikoaktif yang berisiko menimbulkan ketergantungan, gangguan sistem saraf pusat, dan toksisitas pada penggunaan jangka panjang atau dosis tinggi (Annuar *et al.*, 2024). Di Indonesia, produk komersial kratom seperti teh, kapsul, dan kopi beredar secara ilegal tanpa informasi kadar mitraginin yang jelas (BNN, 2020), sehingga penggunaannya dilarang oleh BPOM dalam obat tradisional dan suplemen kesehatan (BPOM, 2016). Namun, keterbatasan pengawasan serta metode analisis yang sensitif dan terjangkau menyebabkan produk tersebut masih beredar, karena KLT terbatas secara kuantitatif dan LC-MS/MS relatif mahal untuk analisis rutin (Elsa, 2016; Kowalska, 2022; WHO, 2021; Sempio *et al.*, 2025). Oleh sebab itu, pengembangan dan validasi metode GC-FID yang akurat, presisi, dan ekonomis diperlukan untuk penetapan kadar mitraginin sebagai dasar pengawasan mutu dan penegakan regulasi (ICH, 2024; USP, 2019; BPOM, 2024).

Pada penelitian ini dilakukan karakterisasi awal yang menunjukkan bahwa seluruh produk komersial memenuhi persyaratan kadar air ($<10\%$), dengan nilai $0,54\text{--}2,21\%$, sehingga risiko degradasi mikrobiologis minimal (Kemenkes, 2017; Pratiwi *et al.*, 2025). Kadar abu total berada pada rentang $3,66\text{--}4,20\%$, masih memenuhi batas $<16\%$. Namun, kadar abu tidak larut asam berada pada kisaran $3,66\text{--}4,20\%$, melebihi batas $\leq 1\text{--}2\%$, yang mengindikasikan adanya kontaminasi anorganik akibat penanganan pascapanen yang kurang higienis (Kemenkes, 2017; Farrel *et al.*, 2020; Maryam *et al.*, 2020). Fraksinasi cair-cair asam-basa berhasil mengisolasi alkaloid mitraginin secara selektif berdasarkan sifat pKa ($\pm 8,1$) dan

kelarutan pH-dependen. Rendemen dan konsentrasi fraksi alkaloid menunjukkan variasi yang signifikan, dengan teh kratom menghasilkan konsentrasi tertinggi (14.000 mg/L), diikuti kapsul varietas hijau (10.620 mg/L), kapsul putih (7.946 mg/L), kapsul merah (4.000 mg/L), dan kopi kratom terendah (2.667 mg/L), mencerminkan perbedaan matriks dan komposisi bahan baku (BNN, 2020; Ramanathan *et al.*, 2015; WHO, 2022). Skrining fitokimia menggunakan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff menunjukkan hasil positif pada seluruh sampel, mengonfirmasi keberadaan alkaloid (Ningsih *et al.*, 2020; Royani & Yuliyanti, 2025). Identifikasi KLT dan KLT-densitometri pada λ 254 nm menunjukkan nilai resolusi (R_s) fraksi sebesar 1,44 dan standar mitraginin 1,08, memenuhi kriteria pemisahan baik ($R_s \geq 1,0$) menurut USP, sehingga menunjukkan selektivitas awal yang memadai. Optimasi GC–FID menetapkan kondisi optimum pada flow rate 1,0 mL/menit dan rasio split 1:10, yang menghasilkan waktu retensi mitraginin stabil ($\pm 22,7$ – $22,9$ menit), area puncak memadai, serta bentuk puncak simetris (Harris & Lucy, 2019). *System Suitability Test* memberikan %RSD rasio area sebesar 0,5259%, jauh di bawah batas $\leq 2\%$, menandakan kestabilan sistem yang sangat baik (ICH, 2024; USP, 2019).

Validasi metode menunjukkan selektivitas tinggi, dengan pemisahan jelas antara mitraginin ($RT \pm 22,5$ menit) dan standar internal diazepam ($RT \pm 10,1$ menit) tanpa interferensi matriks. Linieritas terpenuhi pada rentang 5–100 ppm dengan persamaan regresi $y = 0,0152x + 0,1058$, koefisien determinasi $R^2 = 0,9987$, koefisien korelasi $r = 0,9993$, dan nilai $V_{x0} = 1,97\%$, seluruhnya memenuhi kriteria validasi (Wahyuni *et al.*, 2022; Galih *et al.*, 2025). Uji presisi menghasilkan %RSD sebesar 1,041%, lebih kecil dari batas maksimum 2%, menunjukkan repeatability yang sangat baik (ICH, 2024). Uji akurasi pada level 80%, 100%, dan 120% menghasilkan %recovery masing-masing 97,89%, 98,82%, dan 97,40%, dengan seluruh nilai berada dalam rentang 95–105% serta %RSD $< 2\%$, sehingga memenuhi persyaratan akurasi menurut ICH Q2(R2) dan AOAC (2023). Penetapan kadar mitraginin menunjukkan variasi signifikan antarproduk, dengan kadar tertinggi pada teh kratom ($\pm 0,2846$ mg/g), diikuti kopi kratom ($\pm 0,0552$ mg/g), kapsul hijau ($\pm 0,1192$ mg/kapsul), kapsul putih ($\pm 0,1019$ mg/kapsul), dan kapsul

merah terendah ($\pm 0,0609$ mg/kapsul). Variasi ini mencerminkan perbedaan varietas daun, proses pengolahan, dan ketidakstandarisasian produk komersial. Secara keseluruhan, hasil pembahasan menegaskan bahwa metode GC–FID yang dikembangkan memenuhi seluruh parameter validasi analitik dan layak digunakan untuk evaluasi kandungan mitraginin pada produk kratom komersial.

Metode *Gas Chromatography–Flame Ionization Detector* yang dikembangkan telah memenuhi seluruh parameter validasi analitik sesuai pedoman ICH Q2(R2), USP, dan standar farmakope, meliputi selektivitas, linearitas, presisi, dan akurasi. Metode menunjukkan kinerja yang sangat baik dengan respons linier pada rentang 5–100 ppm, presisi dan akurasi yang memenuhi kriteria penerimaan, serta bebas dari interferensi matriks, sehingga layak digunakan untuk penetapan kadar mitraginin dalam produk komersial yang diduga mengandung kratom. Seluruh produk komersial yang dianalisis terbukti mengandung mitraginin, yang terkonfirmasi secara kualitatif melalui skrining fitokimia dan KLT serta terkonfirmasi secara kuantitatif secara KLT-densitometri, dan analisis GC–FID yang telah tervalidasi. Penetapan kadar menunjukkan variasi kandungan mitraginin antar jenis produk dan bentuk sediaan, dengan kadar tertinggi pada teh kratom dan kapsul varietas hijau, serta terendah pada kopi kratom dan kapsul varietas merah, yang menegaskan bahwa produk komersial yang beredar terbukti mengandung alkaloid mitraginin dalam jumlah terukur dan tidak terstandarisasi.

ABSTRAK

Validasi Metode *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* untuk Analisis Kandungan Mitraginin dalam Produk Komersial Mengandung Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Nur Haliza Firdausi

Kratom (*Mitragyna speciosa*) merupakan tanaman yang mengandung alkaloid utama mitraginin dengan aktivitas farmakologis menyerupai opioid dan berpotensi menimbulkan risiko kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi metode *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* (GC-FID) serta menetapkan kadar mitraginin dalam berbagai produk komersial mengandung kratom, meliputi teh kratom, kopi kratom, dan kapsul varietas hijau, putih, dan merah. Validasi metode dilakukan berdasarkan parameter selektivitas, linearitas, presisi, dan akurasi sesuai pedoman ICH Q2(R2). Hasil uji linearitas menunjukkan hubungan linier yang sangat baik antara konsentrasi dan respon dengan koefisien korelasi $r \geq 0,999$ dan nilai V_{xo} sebesar 1,97%. Presisi metode memenuhi kriteria dengan %RSD sebesar 1,041%, sedangkan uji akurasi pada level 80%, 100%, dan 120% menghasilkan % recovery dalam rentang 95,92–100,83%, yang menunjukkan bahwa metode akurat dan presisi. Metode GC-FID yang tervalidasi kemudian diterapkan pada penetapan kadar mitraginin dalam produk komersial. Hasil analisis menunjukkan bahwa teh kratom memiliki kadar mitraginin tertinggi, yaitu 0,2327–0,2846 mg/g dengan rata-rata sekitar 0,7756 mg per kantong teh, diikuti oleh kopi kratom dengan kadar 0,0501–0,0552 mg/g atau rata-rata 0,5335 mg per wadah kopi. Pada sediaan kapsul, kadar mitraginin berturut-turut adalah kapsul varietas hijau sebesar 0,0829–0,1727 mg per kapsul (rata-rata 0,1192 mg), kapsul varietas putih sebesar 0,0873–0,1255 mg per kapsul (rata-rata 0,1019 mg), dan kapsul varietas merah sebagai yang terendah dengan kadar 0,0529–0,0659 mg per kapsul (rata-rata 0,0609 mg). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa metode GC-FID layak digunakan untuk analisis kuantitatif mitraginin dan mengungkap adanya variasi kadar mitraginin yang signifikan pada produk kratom komersial yang beredar.

Kata kunci: mitraginin, kratom, validasi metode, GC-FID, produk komersial

ABSTRACT

Method Validation of Gas Chromatography–Flame Ionization Detector for the Analysis of Mitragynine Content in Commercial Products Containing Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Nur Haliza Firdausi

*Kratom (*Mitragyna speciosa*) contains mitragynine as its major alkaloid, which exhibits opioid-like pharmacological activity and poses potential health risks. This study aimed to validate a Gas Chromatography–Flame Ionization Detector (GC–FID) method and to determine the mitragynine content in various commercial kratom-containing products, including kratom tea, kratom coffee, and capsule formulations of green, white, and red varieties. Method validation was performed in accordance with ICH Q2(R2) guidelines, covering selectivity, linearity, precision, and accuracy. The linearity test demonstrated an excellent proportional relationship between concentration and detector response, with a correlation coefficient (r) ≥ 0.999 and a V_{xo} value of 1.97%. Method precision met the acceptance criteria, yielding a %RSD of 1.041%, while accuracy evaluated at 80%, 100%, and 120% concentration levels produced percent recoveries ranging from 95.92% to 100.83%, confirming that the method is both accurate and precise. The validated GC–FID method was subsequently applied to the quantification of mitragynine in commercial products. The results revealed that kratom tea contained the highest mitragynine levels, ranging from 0.2327 to 0.2846 mg/g, corresponding to an average of approximately 0.7756 mg per tea bag, followed by kratom coffee, which contained 0.0501–0.0552 mg/g or an average of 0.5335 mg per serving. Among capsule products, the mitragynine content decreased in the following order: green variety capsules (0.0829–0.1727 mg per capsule, mean 0.1192 mg), white variety capsules (0.0873–0.1255 mg per capsule, mean 0.1019 mg), and red variety capsules, which exhibited the lowest content (0.0529–0.0659 mg per capsule, mean 0.0609 mg). These findings indicate that the validated GC–FID method is suitable for the quantitative analysis of mitragynine and highlight substantial variability in mitragynine content among commercially available kratom products.*

Keywords: *mitragynine, kratom, method validation, GC–FID, commercial products*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERNYATAAN TIDAK MELAKUKAN PLAGIASI.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN PUBLIKASI	iv
LEMBAR PERSETUJUAN	v
LEMBAR PENGESAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
RINGKASAN	ix
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
DAFTAR SINGKATAN.....	xxiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Blakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.3.1 Tujuan Umum	8
1.3.2 Tujuan Khusus.....	8
1.4 Manfaat Penelitian	9
1.4.1 Manfaat Teoritis	9
1.4.2 Manfaat Praktisi	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	11

2.1 Tanaman Kratom	11
2.1.1 Senyawa Kimia Tanaman Kratom.....	17
2.1.2 Regulasi Tanaman Kratom	23
2.2 Mitraginin.....	26
2.3 Produk Komersial Kratom	31
2.4 Instrumen Gas Kromatografi.....	33
2.4.1 <i>Flame Ionization Detector</i> (FID)	41
2.4.2 Gas Kromatografi- <i>Flame Ionization Detector</i>	43
2.5 Validasi Metode.....	48
2.5.1 Selektivitas	51
2.5.2 Presisi	52
2.5.3 Spesifisitas	54
2.5.4 Linieritas	55
2.5.5 Akurasi	57
2.5.6 Rentang	59
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL.....	63
3.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	63
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	64
3.3 Hipotesis.....	66
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	67
4.1 Jenis Penelitian.....	67
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	67
4.3 Variabel Penelitian	67
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	68
4.4.1 Lokasi Penelitian.....	68
4.4.2 Waktu Penelitian	68

4.5 Bahan dan Alat	68
4.5.1 Bahan	68
4.5.2 Alat	68
4.6 Prosedur Penelitian.....	69
4.6.1 Kerangka Operasional.....	69
4.6.2 Preparasi Sampel.....	69
4.6.3 Ekstraksi Fraksinasi Cair-Cair Asam-Basa	70
4.6.4 Identifikasi Awal	70
4.6.5 Pembuatan Larutan Standar Internal Diazepam.....	73
4.6.6 Pembuatan Larutan Baku Standar Mitraginin.....	73
4.6.7 Optimasi Kondisi Instrumen GC-FID.....	73
4.6.8 Validasi Metode Analisis.....	74
BAB 5 HASIL PENELITIAN	80
5.1 Parameter Standarisasi Mutu Produk Komersial	80
5.1.1 Parameter Spesifik Produk Komersial	81
5.1.2 Parameter Non-Spesifik Produk Komersial	81
5.2 Ekstraksi Fraksinasi Cair-Cair Asam-Basa	85
5.3 Identifikasi Awal	87
5.3.1 Skrining Fitokimia Alkaloid.....	87
5.3.2 Kromatografi Lapis Tipis	89
5.3.3 Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri.....	91
5.4 Optimasi Metode Analisis	93
5.5 <i>System Suitability Test</i>	95
5.6 Validasi Metode.....	95
5.6.1 Selektivitas	95
5.6.2 Linieritas dan Range	98

5.6.3 Presisi	99
5.6.4 Akurasi	100
5.6.5 Penetapan kadar	102
BAB 6 PEMBAHASAN	106
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	125
7.1 Kesimpulan	125
7.2 Saran.....	125
DAFTAR PUSTAKA.....	126
LAMPIRAN.....	142

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi Tanaman Kratom	12
Tabel 2.2 Elemen Data yang Diperlukan untuk Validasi Pengujian.....	50
Tabel 2.3 Kriteria Penerimaan Nilai Akurasi dan Presisi.	58
Tabel 5.1 Data hasil pengamatan parameter mutu spesifik pada produk komersial	81
Tabel 5.2 Data hasil penetapan kadar air	82
Tabel 5.3 Data hasil kadar abu total	83
Tabel 5.4 Data hasil kadar abu tidak larut asam	84
Tabel 5.5 Data hasil ekstraksi fraksinasi cair-cair asam-basa.....	86
Tabel 5.6 Data hasil analisis skrining fitokimia alkaloid.....	88
Tabel 5.7 Hasil analisis perhitungan nilai Rf Kromatografi Lapis Tipis	90
Tabel 5.8 Data hasil analisis nilai Rs standar mitraginin dan fraksinasi cair-cair asam-basa.	92
Tabel 5.9 Data hasil analisis optimasi flow rate dan rasio split instrumen GC-FID	94
Tabel 5.10 Data hasil analisis system suitability test dengan standar mitraginin 40 mg/L	95
Tabel 5.11 Data hasil linieritas mitraginin.....	98
Tabel 5.12 Data hasil presisi samepel mitraginin	99
Tabel 5.13 Data hasil akurasi 80%	100
Tabel 5.14 Data hasil akurasi 100%	101
Tabel 5.15 Data hasil akurasi 120%	101
Tabel 5.16 Data hasil penetapan kadar produk komersial teh kratom.....	102
Tabel 5.17 Data hasil penetapan kadar produk komersial kopi	103
Tabel 5.18 Data hasil penetapan kadar produk komersial kapsul hijau.....	103
Tabel 5.19 Data hasil penetapan kadar produk komersial kapsul putih	104
Tabel 5.20 Data hasil penetapan kadar produk komersial kapsul merah.....	104

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Kratom (<i>Mitragyna speciosa</i>) (a). Tanaman Kratom; (b). Daun kratom (Begum et al., 2024).....	13
Gambar 2.2 Tanaman Kratom (<i>Mitragyna speciosa</i>) (a). Daun Kratom; (b) Bunga Kratom; (c) Pohon Kratom (Isnaeni <i>et al.</i> , 2024).	13
Gambar 2.3 Hasil uji mikroskopik, (a) bagian epidermis, (b) kristal kalsium oksalat, (c) trikoma/batang penutup, (d) batang daun, dan (e) stomata pada epidemis atas (Elsa, 2016).	15
Gambar 2.4 Kandungan metabolit sekunder bioaktif <i>Mitragyna speciosa</i> , khususnya indoles (misal Mitraginin) dan oxindoles (misal corynoxine) (Alford et al., 2025).....	18
Gambar 2.5 Struktur kimia a. Mitraginin, b. 7-hydroxymitraginin, c. 3-dehydromitraginin, d. asam Mitraginin, e. 9-hydroxycorynantheidine. (Chiang et al., 2024)	19
Gambar 2.6 Struktur Kimia Senyawa Mitraginin (Huestis et al., 2024)	28
Gambar 2.7 Polifarmakologi Mitraginin, alkaloid indol utama yang berasal dari Mitraginin (Alford et al., 2025).....	29
Gambar 2.8 Komponen Utama Sistem Gas Chromatography (Hasibuan et al., 2022)	36
Gambar 2.9 Komponen Utama Flame Ionization Detector (Dąbrowski, 2024)..	42
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	63
Gambar 4.1 Kerangka Operasioanal Penelitian.....	69
Gambar 5.1 Hasil skrining fitokimia alkaloid (M: Mayer; W: Wagner; B: Blanko); A. Kopi, Teh; B. KM: Kapsul Merah; KP: Kapsul Putih; KH: Kapsul Hijau; C. Hasil pereaksi dragendorf.	89
Gambar 5.2 Hasil kromatogram identifikasi KLT fraksinasi cair-cair asam basa; kopi, teh, kapsul varietas merah, kapsul varietas hijau dan kapsul varietas putih dengan Kromatografi Lapis Tipis; A. Hasil KLT sinar UV 366 nm; B. Hasil KLT sinar UV 254 nm.	90

Gambar 5.3 Densitogram hasil analisis fraksinasi alkaloid cair-cair asam basa menggunakan TLC-Densitometry. (A: Standar mitraginin; B: Kopi kratom; C: Teh kratom; D: Kapsul varietas hijau; E: Kapsul varietas merah; F: Kapsul varietas putih; G: seluruh track spektra UV produk komersial). 93

Gambar 5.4 Hasil kromatogram dengan GC-FID; A. Standar Mitraginin 50 mg/L, B. Standar Internal Diazepam 100 mg/L, C. Standar Internal Diazepam + Fraksinasi Alkaloid Produk Komersial 14000 mg/L, D. Standar Internal Diazepam 100 mg/L + Standar Mitraginin 50 mg/L + Fraksinasi Alkaloid Produk Komersial 14000 mg/L. 97

Gambar 5.5 Kurva kalibrasi standar mitraginin 98

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat edaran BPOM terkait larangan penggunaan daun kratom dalam suplemen makanan dan obat tradisional	142
Lampiran 2. Certificate of Analysis Standar Mitraginin	144
Lampiran 3. Produk Komersial yang beredar di online store dan digunakan untuk analisis.....	153
Lampiran 4. Perhitungan Parameter Non-spesifik	154
Lampiran 5. Perhitungan Berat Fraksi Alkaloid, %Rendemen, dan Konsentrasi Produk Komersial	156
Lampiran 6. Perhitungan Nilai Resolusi (Rs) Standar Mitraginin dan Sampel Komersial	158
Lampiran 7. Perhitungan <i>System Suitability Test</i>	159
Lampiran 8. Perhitungan V_{xo} Linieritas Standar Mitraginin.....	161
Lampiran 9. Perhitungan Presisi	162
Lampiran 10. Perhitungan Akurasi.....	164
Lampiran 11. Perhitungan Penetapan Kadar Mitraginin pada Produk Komersial	166
Lampiran 12. Proses Ekstraksi Metode Fraksinasi Cair-Cair Asam-Basa pada Produk Komersial mengandung Kratom.....	167
Lampiran 13. Surat Keterangan Bebas Pinjam	168
Lampiran 14. Lembar Endorsement Letter	169
Lampiran 15. Surat Keterangan Bukti Bebas Plagiarisme	170
Lampiran 16. Lembar Konsultasi Proposal Skripsi Dosen Pembimbing Utama	171
Lampiran 17. Lembar Konsultasi Proposal Skripsi Dosen Pembimbing Serta.	172
Lampiran 18. Lembar Konsultasi Skripsi Dosen Pembimbing Utama	173
Lampiran 19. Lembar Konsultasi Skripsi Dosen Pembimbing Serta.....	174
Lampiran 20. Lembar Revisi Proposal Skripsi Dosen Penguji	175
Lampiran 21. Lembar Revisi Proposal Skripsi Dosen Pembimbing Utama	176

Lampiran 22. Lembar Revisi Proposal Skripsi Dosen Pembimbing Serta	177
Lampiran 23. Lembar Revisi Skripsi Dosen Penguji	178
Lampiran 24. Lembar Revisi Skripsi Dosen Pembimbing Utama	179
Lampiran 25. Lembar Revisi Skripsi Dosen Pembimbing Serta	180

DAFTAR SINGKATAN

AOAC	: <i>Association of Official Analytical Chemists</i>
BBB	: <i>Blood–Brain Barrier</i>
CYP	: <i>Cytochrome P450 Enzyme Family</i>
FID	: <i>Flame Ionization Detector</i>
GC	: <i>Gas Chromatography</i>
GC–FID	: <i>Gas Chromatography–Flame Ionization Detector</i>
GC–MS	: <i>Gas Chromatography–Mass Spectrometry</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
ICH	: <i>International Council for Harmonisation</i>
KLT	: <i>Thin Layer Chromatography</i>
LC–MS	: <i>Liquid Chromatography–Mass Spectrometry</i>
LOD	: <i>Limit of Detection</i>
LOQ	: <i>Limit of Quantification</i>
MOR	: <i>Mu Opioid Receptor</i>
KOR	: <i>Kappa Opioid Receptor</i>
DOR	: <i>Delta Opioid Receptor</i>
α_2	: <i>Alpha-2 Adrenergic Receptor</i>
R ²	: <i>Coefficient of Determination</i>
RSD	: <i>Relative Standard Deviation</i>
SD	: <i>Standard Deviation</i>
CV	: <i>Coefficient of Variation</i>
S/N	: <i>Signal-to-Noise Ratio</i>
tR	: <i>Retention Time</i>
USP	: <i>United States Pharmacopeia</i>
QA/QC	: <i>Quality Assurance / Quality Control</i>
ppm	: <i>Parts per Million</i>
$\mu\text{g/mL}$: <i>Microgram per Milliliter</i>

ng/mL	: <i>Nanogram per Milliliter</i>
mg/L	: <i>Milligram per Liter</i>
%RSD	: <i>Percent Relative Standard Deviation</i>
%Bias	: <i>Persen Bias</i>
%Recovery	: <i>Persen Recovery</i>
a	: <i>Intercept</i>
b	: <i>Slope</i>
n	: <i>Number of Replicates</i>
v/v	: <i>Volume per Volume</i>