

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Etil Asetat Batang Tumbuhan Kratom (*Mitragyna Speciosa*)

Isolation and Identification of Secondary Metabolic Compounds Ethyl Acetate Fraction of Kratom Plant Stem (*Mitragyna Speciosa*)

¹⁾Muhammad Akbar AS, ²⁾Diana Eka Pratiwi, ³⁾Pince Salempa

^{1,2,3)}Jurusan Kimia, Universitas Negeri Makassar, Indonesia

Email: muhammadakbar170899@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian eksplorasi ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak Fraksi Etil Asetat Batang Tumbuhan Kratom *Mitragyna Speciosa* Korth, meliputi tahapan fraksinasi, pemurnian dan identifikasi golongan serta spektrofotometer IR. Sampel penelitian ini merupakan fraksi E etil asetat batang tumbuhan kratom. Isolat yang diperoleh berupa serbuk kuning yang menunjukkan noda tunggal pada KLT system tiga eluen senyawa semi polar, hasil positif pada pereaksi Wagner dan Dragendorff didukung dengan identifikasi gugus fungsi pada spektrofotometer FTIR, bilangan gelombang 3338.78 cm⁻¹ penunjukan gugus fungsi N-H yang didukung adanya puncak serapan pada 1290.38 cm⁻¹ (vibrasi C-N), untuk serapan pada 2924.09 cm⁻¹ dan 2854.65 cm⁻¹ (C-H alifatik) yang didukung oleh adanya serapan pada 1462.04 cm⁻¹ (CH₂-) dan 1377.17 cm⁻¹ (-CH₃), Pada serapan bilangan gelombang 1705.07 cm⁻¹ (C=O), pada daerah serapan 1510,26 cm⁻¹ (C=C aromatic) dan pada daerah serapan 1136 cm⁻¹ (C-O). Hasil pengujian golongan dan FTIR menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh merupakan golongan senyawa alkaloid.

Kata Kunci: *Kratom, Mitragyna Speciosa, Alkaloid*

ABSTRACT

This exploratory study aims to isolate and identify of secondary metabolic compounds of ethyl acetate extract fraction of Kratom stem *Mitragyna Speciosa* Korth, including the steps of fractionation, purification and group identification by IR spectrophotometer. The sample of this study was the E ethyl acetate fraction of the kratom stems. Alkaloids obtained in the form of yellow powder which shows a single spot on the KLT system of three semi-polar compound eluents, positive results on Wagner and Dragendorff reagents are supported by the identification of functional groups on the FTIR spectrophotometer, wave number 3338.78 cm⁻¹ indicates the NH functional group supported by the presence of an absorption peak at 1290.38 cm⁻¹ (CN vibration), for absorption at 2924.09 cm⁻¹ and 2854.65 cm⁻¹ (aliphatic CH) which was supported by the presence of absorption at 1462.04 cm⁻¹ (-CH₂) and 1377.17 cm⁻¹ (-CH₃), The absorption wave number is 1705.07 cm⁻¹ (C=O), the absorption area is 1510.26 cm⁻¹ (C=C aromatic). The result of group testing and FTIR showed that the compounds obtained were alkaloid compounds.

Keywords: *Kratom, Mitragyna Speciosa, Alkaloid*

PENDAHULUAN

Tumbuhan kratom atau *Mitrogyna spisiosa* merupakan famili *Rubiaceae* yang memiliki famili yang sama dengan tumbuhan kopi. Tumbuhan kratom ini hidup di daerah tropis, diketahui banyak di jumpai di beberapa negara seperti, Malaysia, Thailand, Myanmar, Papua Nugini dan Indonesia. Keberadaanya di Indonesia banyak tumbuh subur di hutan pulau Kalimantan, di kabupaten Kapuas Hulu, dengan nama “Kratom” atau “Purik”. Tumbuhan yang dikenal dengan daun ajaib ini dijadikan komoditas ekspor ke Amerika dalam jumlah cukup besar karena eksplorasi kegunaanya.

Tumbuhan kratom banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional berbagai penyakit di masyarakat. seperti mengobati diare, batuk, nyeri otot, relaksasi, menurunkan panas badan, dan mengurangi gula darah merah (Veltri dan Grundmann, 2019). Penggunaan pengobatan tradisional ini merupakan efek dari senyawa pada tumbuhan sebagai pertahanan hidup atau disebut senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder tumbuhan kratom dapat memberikan antioksidan cukup tinggi dibandingkan vitamin C dan bersifat antidiare, penyebabnya bakteri *Escherichia coli*. (Yuniarti, Suhaimin, dkk. 2020). Penelitian Rabani, dkk (2017) pada konsentrasi 10% isolat murni tumbuhan kratom mampu menghambat pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Serta penggunaan anatesi terhadap efek relaksasi otot melalui sistem saraf responsif (Chittrakarn, dkk., 2010)

Kandungan utama pada tumbuhan kratom adalah alkaloid

dimana ada lebih dari 40 jenis alkaloid yang sudah diisolasi dari daun kratom diantaranya, 7-hidroksimitragini, painantein, spesioginin, spesiosiliatin dan beberapa jenis glikosida (Cinosi dkk., 2015). Isolat daun kratom juga mengandung alkaloid Mitrayinine yang memiliki efek sitotoksi yang tinggi terhadap penyakit Parkinson antiproliferatif terhadap kanker (Goh, dkk, 2014) Senyawa 7-hidroksimitragini inilah yang merupakan senyawa indol (Rahman, 2012), yang memiliki aktivitas analgesik atau penghilang rasa nyeri atau sering digunakan sebagai stimulan.

Senyawa metabolit sekunder yang ditemukan dalam beberapa tumbuhan famili *Rubiaceae*, seperti batang *M. citrifolia* ditemukan golongan steroid senyawa digitoksigenin, tumbuhan *H. corymbosa* L. dilaporkan mengandung golongan steroid dan flavonoid pada bagian batang, serta ditemukan pada fraksi etil asetat dalam uji toksisitas adanya nilai LC₅₀ 0.3389 ppm (*high toxic*). Hal tersebut memberikan kemungkinan potensi adanya senyawa metabolit sekunder fraksi fraksi etil asetat batang tumbuhan kratom yang belum dilakukan pengujian lebih lanjut. (Mukmilah dkk., 2012; Rahmawati, dkk., 2017; dan Salempa, dkk., 2017)

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian kandungan senyawa aktif pada tumbuhan kratom khususnya pada bagian batang. Mengingat belum adanya penelitian mengenai isolasi senyawa aktif metabolit sekunder yang terkandung dalam batang. Terkhusus isolasi kandungan

senyawa metabolic sekunder pada ekstrak etil asetat fraksi batang tumbuhan kratom (*M. speciosa*).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain alat, kromatografi kolom flash (KKF), pompa vakum, oven, chamber, neraca digital seperangkat alat gelas, statif dan klem, waterbath, pompa tiup Boyu, plat tetes, spoit 1 mL, hair drayer, spatula, hot plate, botol semprot, botol vial, lampu UV VL-4.LC 254-365 nm, chamber wadah KLT, pipa kapiler, statif dan klem, serta Spektrofotometer FTIR Shidmazu Prestige-21.

Bahan

Bahan pelarut digunakan adalah aquades, methanol teknis, n-heksana teknis, etil asetat teknis, aseton teknis, methanol Pa, n-heksana Pa, etil asetat Pa, dan kloroform Pa, serta pereaksi Liebermann-Buchard, FeCl_3 , Wagner, dan Mayer. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah serum sulfat (CeSO_4 10%), aluminium foil, kertas saring Whatman nomor 41, plat KLT aluminium berlapis silika gel 60 GF254, silika gel G 60, dan silika gel G 60 (230-400 mesh).

Prosedur kerja

1. Fraksinasi

Fraksi E di murnikan pada Kromatografi Kolom Flash, dengan Langkah awalnya ekstrak diimpregnasi dengan silika gel G 60. Menggunakan fase diam, silika gel G 60 (70-230 mesh) yang dikemas rapat dan fase gerak adalah eluen n-heksan, etil asetat, aseton, sera methanol sebanyak 50 mL yang tingkat kepolarannya diatur secara

bergradien. Fraksi yang dihasilkan kemudian di uji KLT untuk penggabungan fraksi sejenis dengan eluen perbandingan etil asetat: n-heksana (5:5). Kemudian dilakukan penggabungan fraksi dengan karakteristik yang Fraksi-fraksi yang memiliki noda, warna dan pola pemisahan yang sama selanjutnya digabungkan dan diuapkan pada suhu ruangan. Fraksi-fraksi yang memiliki pola noda dan kromatogram yang sama digabung hingga diperoleh isolat E1 dan E2 dalam fasa padatan.

2. Pemurnian

Isolat direkristalisasi dengan pelarut aseton dan etil asetat. Kemurnian senyawa yang diperoleh ditentukan kemuniannya dengan melakukan KLT sistem tiga eluen. Eluen yang digunakan etil asetat: n-heksana (2:8), etil asetat: kloroform (6,5:3,5), dan etil asetat: aseton (3 :7). Hasil KLT memperlihatkan pola tunggal, senyawa tersebut relatif murni secara KLT.

3. Identifikasi

a. Uji Golongan/Pereaksi

Isolat yang diperoleh diuji menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard (terpenoid dan steroid), (FeCl_3 1%), (senyawa fenol), Wagner, dan Mayer (alkaloid) untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam isolat.

b. Uji Spektroskopi

Identifikasi lebih lanjut dilakukan uji spektroskopi dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR Prestige-21 SHIMADZU® untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam isolat tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Fraksinasi

Sampel Fraksi E ekstrak etil asetat diperoleh dari fraksinasi awal yakni KKCW yang telah melewati tahapan preparasi, maserasi, pengujian identifikasi senyawa. Ekstrak difraksinasi ini menggunakan pelarut n heksana, etil asetat, aseton, dan methanol yang diatur kepolaranya hingga diperoleh beberapa fraksi yang terdiri dari komponen komponen A-G yang dengan memiliki berat dan klasifikasi noda KLT, sementara fraksi E di lanjutkan karena memiliki berat 3,878 mg , terbentuk 2 noda kromatogram, dan uji fitokimia yang mengandung 2 golongan senyawa metabolit sekunder.



Gambar 1. Kromatogram KLT Fraksi Etil Asetat: N-Heksana (5:5)

Uji fitokimia pendahuluan positif mengandung alkaloid dan flavonoid pada Tabel 1. Data tersebut dilanjutkan pada proses fraksinasi lanjutan untuk pemisahan senyawa pada kepolaran terdekat menggunakan fraksinasi KKF.

Tabel 1. Hasil Pengujian Golongan

Pereaksi	Keterangan
FeCl ₃	+ Flavonoid
Dragendroff	+ Alkaloid
Liebermann-Burchard	- Steroid
Wagner	+ Alkaloid

Fraksinasi KKF diperoleh 65 fraksi dengan noda kromaogram yang bervariasi pada plat KLT penggabungan. Noda sama yang teridentifikasi disatukan sehingga diperoleh 2 fraksi ekstrak dapat diperhatikan pada Tabel 2.

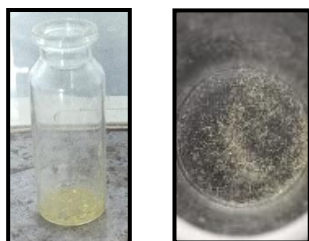
Tabel 2. Hasil Fraksi Penggabungan KKF

Fraksi	Fraksi Gabungan	Berat (mg)
14-15	E1	375,3
16-29	E2	95,5

Berdasarkan tabel 2 fraksi E2 dilanjutkan pada proses pemurnian karena menampilkan noda tunggal pada uji KLT yang berarti mengandung senyawa tunggal dan tidak menunjukkan noda ekor (Harborne, 1987).

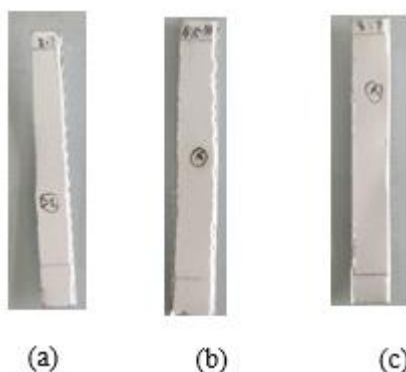
B. Pemurnian

Fraksi E2 yang terbentuk direkristalisasi untuk memurnikan isolat, menggunakan pelarut yang mampu melarutkan zat selain isolate. Fraksi E2 diperoleh kital 27,4 mg.



Gambar 2. Isolat fraksi E2 setelah dimurnikan

Kristal hasil pemurnian dilakukan pengujian dengan menggunakan KLT sistem 3 eluen pelarut dan perbandingan berbeda. 3 jenis eluen yang digunakan 1), Etil asetat : n-heksan (2:8), 2) Etil asetat : kloroform (6,5:3,5), dan 3) Etil asetat : Aseton (3:7), sistem 3 eluen ini senyawa disimpulkan bersifat semi polar dengan noda tunggal pada masing masing kepolaran eluen. Kromatogram KLT sistem tiga eluen dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram Isolat Murni E2 pada KLT Sistem Tiga Eluen

Keterangan:

- (a) Etil asetat : n-heksan (2:8),
- (b) Etil asetat : kloroform (6,5:3,5)
- (c) Etil asetat : Aseton (3:7)

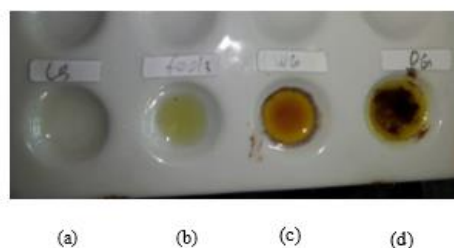
C. Identifikasi

1. Uji golongan/pereaksi

Identifikasi pertama menggunakan pereaksi golongan diperoleh, bahwa senyawa metabolit sekunder batang tumbuhan kratom setelah pemurnian adalah alkaloid. berdasarkan tabel 3 dan gambar 3.

Tabel 3. Hasil pengujian Golongan Setelah Pemurnian

Pereaksi	Keterangan
Liebermann Burchard	- Steroid
FeCl ₃	- Flavonoid
Dragendroff	+ Alkaloid
Wagner	+ Alkaloid

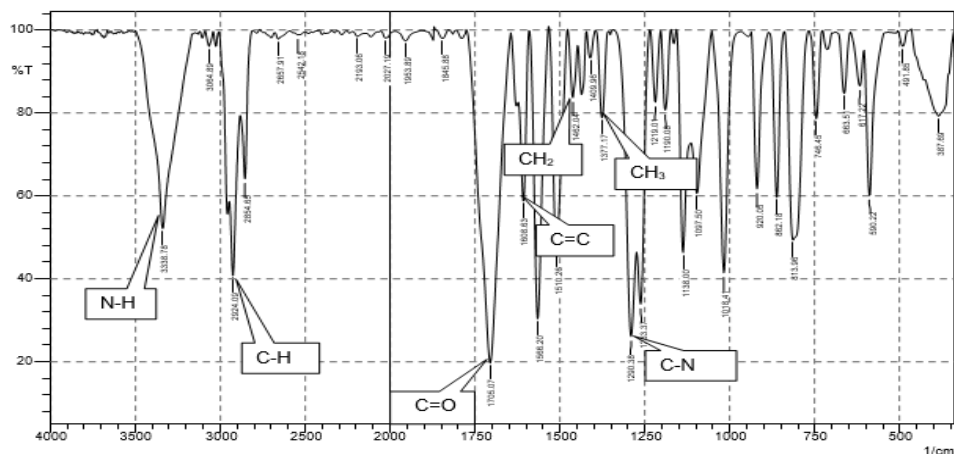


Gambar 4. Hasil Uji Golongan Isolat Murni E2

- (a) Liebermann-Burchard
- (b) FeCl₃ 1%
- (c) Wagner dan
- (d) Dragendroff

2. Uji Spektroskopi

Identifikasi selanjutnya dengan menggunakan spektrofotometer FTIR untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari suatu senyawa yang diperoleh. Hasil identifikasi berupa spektrum IR dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektrum Infra Merah Isolat murni E2

Hasil spektrum FT-IR pada rentang bilangan gelombang 4000-250 cm^{-1} , diperoleh 3338.78 cm^{-1} intensitas kuat adanya gugus N-H sekunder (Sastrohamidjojo, 2013). Penunjukan lainnya diperoleh adanya C-N pada serapan tajam pada 1290.38 cm^{-1} . Spectrum lainnya didapatkan, adanya serapan tajam pada bilangan gelombang 2924.09 cm^{-1} dan 2854.65 cm^{-1} , menunjukkan intensitas kuat pada gugus C-H pada alkana dan aldehida. Gugus metilen juga ditemukan berdasarkan temuan spectrum bilangan gelombang 1462.04 cm^{-1} (CH_2) dan 1377.17 cm^{-1} (CH_3) pada intensitas lemah (Sastrohamidjojo, 2013). Gugus C=O ditemukan dengan penunjukan bilangan gelombang 1705.07 cm^{-1} intensitas kuat (Pine, 1980).

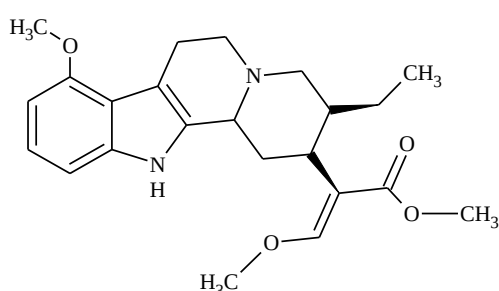
Berdasarkan penelitian sebelumnya Fachriyah, (2017) Alkaloid pada *Peperomia pellucida* di tunjukkan data Spektrum IR tabel 4.

Tabel 4. Spektrum IR Alkaloid *Peperomia pellucida*

Bilangan Gelombang (cm^{-1}) Isolat E ₂	Bentuk Pita	Gugus Fungsi
3432.13	Tajam	Vibrasi N-H
3118.60	Tajam	Vibrasi C-H
1644.52	Tajam	Vibrasi C=O
1232.61	Tajam	Vibrasi, C-N aromatik

Berdasarkan data Spektrum bilangan gelombang FT-IR tersebut, golongan senyawa metabolik sekunder ekstrak fraksi etil asetat batang Kratom adalah alkaloid. Diperkuat juga Berdasarkan penelitian (Rybarczyk, 2019), pada bagian daun ditemukan senyawa metabolik sekunder golongan alkaloid lebih dominan begitu pula pada batangnya.

Penyusunnya adalah Mitraginin 66 %, 7-hidroksimitraginin 2 % , Paynanthein 9%, *Speciogynin* 7%, dan *Speciociliatin* 1% dari masing masing total alkaloid. Berdasarkan gugus fungsi yang teridentifikasi pada ekstrak fraksi etil asetat. Berikut kemungkinan struktur alkaloid pada batang *M. Speciosa*.



Gambar 5. struktur senyawa Mitraginin.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil Penelitian Isolasi dan Identifikasi ekstrak fraksi etil asetat tumbuhan kratom *M. Speciosa* merupakan senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid berupa serbuk berwarna kuning, ditandai dengan uji golongan yang menunjukkan hasil positif pada pereaksi Wegner dan Dragendorff. Beserta serapan Bilangan gelombang menunjukan serapan N-H yang merupakan gugus pada senyawa golongan alkaloid.

B. Saran

Adapun hal-hal yang disarankan untuk penyempurnaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut menggunakan spektrofotometer NMR, GC-MS, dan UV-VIS agar lebih

mendukung struktur senyawa yang diperoleh.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada fraksi hasil KKF yang lainnya sehingga dapat diperoleh senyawa metabolit sekunder.

DAFTAR PUSTAKA

- Cinosi E, Martinotti G, Simonato P, Singh D, Demetrovics Z, Roman-Urrestarazu A, 2015. Following (the roots) of kratom (*Mitragyna speciosa*): The evolution of an enhancer from a traditional use to increase work and productivity in Southeast Asia to a recreational psychoactive drug in Western Countries. *BioMed Research International* [Internet]. [cited 2017 May 1].
- Fachriyah, E., M A Ghufari, K Anan. 2017. Isolation, Identification, and Xanthine Oksidase Inhibition Activity of Alkaloid Compound From *Paperomia Pellucida*. *IOP Conf. Materials Science and Engineering* 349.
- Chittrakarn, Somsorn, Niwat Keawpradubb, Kitja Sawangjaroen, Supaporn Kansanalaka, dan Benjamas Janchawee. 2010. The neuromuscular blockade produced by pure alkaloid, mitragynine and methanol extract of kratom leaves (*Mitragyna speciosa* Korth.). *Journal of Ethnopharmacology*. 129 (2010) 344–349
- Goh, T.B., Koh, R.Y., Mohd, R.M., Sharif, M.M., 2014, Antioxidant Value and Antiproliferative Efficacy of Mitragynine and a Silane Reduced Analogue. *Asian*

- Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15, 14:5659-5665
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung:Institut Teknologi Bandung.
- Fachriyah, E., M A Ghufari, K Anan. 2017. Isolation, Identification, and Xanthine Oksidase Inhibition Activity of Alkaloid Compound From *Paperomia Pellucida*. *IOP Conf. Materials Science and Engineering* 349.
- Mukmilah, Y.L., Zalinah, U., dan Elis, L. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk). *Jurnal Valensi*. Vol. 2, No. 5.
- Rabani, Farah Diba, dan Muflihah. 2017. Penghambatan Pertumbuhan Jamur *Schizophyllum Commune Fries* Oleh Ekstrak Etanol Daun Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth) (Inhibition Of Fungal Growth *Schizophyllum Commune Fries* By Ethanol Extract Of Leaves Of Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth)). *Jurnal Hutan Lestari*. Vol. 5 (3) : 831 - 839 831. Universitas Tanjungpura.
- Rahmawati, Meita., dan Nurul Hidajati. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Journal of Chemistry*. UNESA. Vol. 6, No.
- Rybarczyk, Kyle Steven. 2019. Quantitative Analysis of Mitragynine in consumer Products labeled as kratom. Thesis. Liberal Art & Sciences. Chemical Sciences. University of Illinois: Chicago
- Salempa, Pince., Muharram, dan Muhammad Danial. 2017., Uji toksisitas fraksi-fraksi etil asetat Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* L.). *Diseminasi Hasil Penelitian melalui Optimalisasi Sinta dan Hak Kekayaan Intelektual*. Universitas Negeri Makassar. ISBN : 978-602-5554-71-1
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Veltri, C., dan Grundmann, O. Current perspectives on the impact of Kratom use., Substance abuse and rehabilitation. 2019; 10:23–31.
- Yuniarti, R., S. Nadia, A. Alamanda, M. Zubir, Syahputra, dan M. Nizam. 2020. Characterization, Phytochemical Screenings and Antioxidant Activity Test of Kratom Leaf Ethanol Extract (*Mitragyna speciosa* Korth) Using DPPH Method. *Journal of Physics: Conf. Series* 1462 (2020) 012026. Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah.