

## Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Batang Kratom (*Myragyna Speciosa* Korth)

### Phytochemical Test and Toxicity Test for Secondary Metabolite Compound Kratom Stem Ethyl Acetate Extract (*Myragyna speciosa* Korth)

<sup>1</sup>Pince Salempa, <sup>2</sup>Gusma Harfiana Abbas, <sup>3</sup>Diana Eka Pertiwi, <sup>4</sup>Muh. Akbar  
<sup>1,2,3,4</sup>Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Makassar, Indonesia  
Email: [Pince\\_salempa@yahoo.com](mailto:Pince_salempa@yahoo.com)

#### ABSTRAK

Kratom (*Mitragyna Speciose* Korth) merupakan salah satu jenis tumbuhan potensial yang dapat ditingkatkan nilai kegunaannya, karena sejak dahulu *M. Speciosa* sudah dimanfaatkan secara tradisional. Penelitian eksplorasi ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat batang kratom (*M. Speciosa* Korth) yang berasal dari kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Penelitian ini dilakukan beberapa tahap yaitu preparasi sampel, ekstraksi atau maserasi, fraksinasi, dan uji fitokimia dan bioaktivitas menggunakan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil penelitian yang diperoleh berupa Uji fitokimia menggunakan pereaksi FeCl<sub>3</sub>, Wegner dan Dragendroff ekstrak Etil Asetat Batang *M. Speciosa* mengandung Flavanoid dan Alkaloid. Nilai LC50 sebesar 36, 2576 ppm yang menunjukkan bahwa fraksi bersifat toksik

**Kata kunci:** Isolasi, *M. Speciosa*, dan Alkaloid.

#### ABSTRACT

Kratom (*M. Speciose* Korth) is a type of potential plant whose useful value can be increased, because *M. Speciosa* has been used traditionally for a long time. This exploratory research aims to identify secondary metabolite compounds from the E acetate extract of kratom stems (*Mitragyna Speciosa* Korth) originating from Maros district, South Sulawesi. This research was carried out in several stages, namely sample preparation, extraction or maceration, fractionation, and testing stages in the form of phytochemical and bioactivity BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). The research results obtained were in the form of a phytochemical test of the Ethyl Acetate extract of *M. Speciosa* Stems containing Flavanoids and Alkaloids using FeCl<sub>3</sub> and Wegner and Dragendroff reagents. The resulting LC50 value is 36.2576 ppm which indicates that the fraction is toxic

**Keywords:** Isolation, Kratom Steam, *M. Speciosa*, Alkaloid, Toxicity

## PENDAHULUAN

Tumbuhan kratom (*M. spisiosa*) merupakan famili Rubiaceae yang memiliki famili yang sama dengan tumbuhan kopi. Tumbuhan kratom ini hidup di daerah tropis, 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 untuk pengobatan tradisional berbagai penyakit di masyarakat. seperti diare, batuk, nyeri otot, relaksasi, menurunkan panas badan, dan mengurangi gula darah (Veltri dan Grundmann, 2019). Penggunaan pengobatan tradisional ini merupakan efek dari senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan sebagai pertahanan hidup. Senyawa metabolit sekunder tumbuhan kratom dapat memberikan antioksidan cukup tinggi dibandingkan vitamin C dan bersifat antidiare yang disebabkan bakteri *Escherichia coli*. (Yuniarti, Suhaimin, dkk. 2020). Penelitian Rabani, dkk (2017) pada konsentrasi 10% isolat murni tumbuhan kratom mampu menghambat pertumbuhan Bakteri *E. coli*, serta penggunaan sebagai anatesi terhadap efek relaksasi otot melalui sistem saraf responsif (Chittrakarn, dkk., 2010)

Kandungan utama pada tumbuhan kratom adalah alkaloid

dimana lebih dari 40 jenis alkaloid sudah diisolasi dari daun kratom diantaranya, 7-hidroksimitraginin, 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-hidroksimitraginin ini merupakan senyawa indol 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, digitoksigenin, tumbuhan *H. corymbosa* L. dilaporkan mengandung golongan steroid dan flavaoid pada bagian batang, serta uji toksisitas fraksi etil asetat diperoleh nilai LC50 0.3389 ppm (*higt toxic*).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka penulis tertarik untuk meneliti kandungan senyawa aktif ekstrak etil asetat pada tumbuhan kratom khususnya pada bagian batang, dilanjutkan dengan uji fitokimia menggunakan Pereaksi Liebermann-Burchard, FeCl<sub>3</sub> dan perekasi Dragendorff Serta uji bioaktivitas menggunakan BSLT.

## METODE PENELITIAN

### A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya wadah maserasi, beberapa alat kaca seperti gelas kimia dan gelas ukur bebragai

ukuran, corong Buchner, corong pisah, batang pengaduk, pipet tetes, dan botol vial. Beberapa alat instrument seperti evaporator Hahn Shin<sup>®</sup> HS2005VN, hot plate Stuart<sup>®</sup>, neraca analitik Cheetah<sup>®</sup> FA2204B.

Bahan yang digunakan adalah serbuk batang *M. speciosa* untuk ekstraksi, bahan-bahan kimia yaitu metanol, n-Heksan, etil-asetat, kloroform, aseton, aquades, reagen seperti pereaksi besi(III) klorida (FeCl<sub>3</sub> 1%) yang digunakan untuk uji kualitatif flavanoid, pereaksi Dragendorff dan Wagner untuk uji kualitatif alkaloid, pereaksi Liebermann-Buchard untuk uji kualitatif steroid, aluminium foil, tissue, label dan kertas saring Whatman nomor 41, telur udang *Artemia salina* Leach.

## B. Prosedur Kerja

### 1. Pengambilan Sampel

Sampel batang *M. Speciosa* diperoleh dari desa Bonto Tallasa, Kecamatan Simbang, Kabupaten Maros, Provinsi Sulawesi Selatan.

### 2. Ekstraksi

Sampel sebanyak 5,5 kg dimaserasi dengan metanol selama 5 x 24 jam. Ekstrak metanol yang diperoleh disaring dan diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental berupa residu berwarna coklat. Kemudian dipartisi dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-Heksan dengan perbandingan volum ekstrak metanol : n-Heksan = 1:1. Ekstrak metanol yang diperoleh dipartisi kembali dengan pelarut etil asetat perbandingan 1:1. Ekstrak etil

asetat yang diperoleh dipekatkan menggunakan evaporator pada suhu rendah (45°C) hingga diperoleh ekstrak kental etil asetat.

### 3. Uji Fitokimia

Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian dilakukan uji fitokimia dengan menggunakan Pereaksi Liebermann-Burchard untuk terpenoid dan steroid, FeCl<sub>3</sub> untuk flavonoid, Wagner untuk alkaloid, dan Dragendorff untuk alkaloid.

### 4. Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Sampel disiapkan pada konsentrasi 1000 mg/l, 100 mg/l, 10 mg/l dalam 3 botol berbeda. Air laut yang mengandung 10 larva udang ditambahkan hingga volume akhir 5 dan disimpan dalam cahaya selama 24 jam. Masing-masing konsentrasi direplikasi sebanyak 3 kali dan dibandingkan dengan kontrol. Amati dan hitung jumlah larva yang mati. Angka kematian diperoleh dari rumus (Meyer, 1982).

$$\% \text{ kematian} = \frac{\sum \text{Jumlah larva yang mati}}{\sum \text{larva awal}} \times 100\%$$

Selanjutnya nilai akan digunakan untuk mencari data nilai probitnya, kemudian nilai probit diplot ke dalam grafik sebagai sumbu y dan log konsentrasi larutan uji ekstrak sebagai sumbu x. Persamaan yang diperoleh dari grafik kemudian digunakan untuk menentukan nilai *lethal concentration* 50 (LC<sub>50</sub>) ekstrak sebagai indikator tingkat toksisitasnya (Zuraida, 2018).

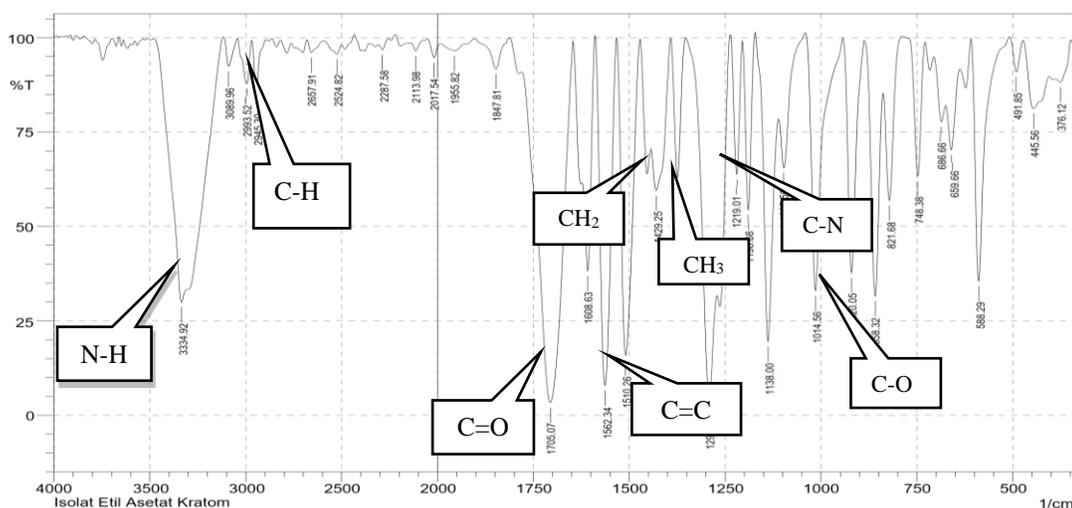
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penelitian

#### 1. Ekstraksi

Hasil ekstraksi melalui metode maserasi selama 5x24 jam, serta proses partisi dengan pelarut metanol, n Heksana, dan etil asetat, diperoleh ekstrak kental etil asetat dengan berat 33,5173 gr berwarna Orange. Hasil

ekstrak yang diperoleh selanjutnya Identifikasi dilanjutkan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR Prestige-21 Shimadzu untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari suatu senyawa yang diperoleh. Hasil identifikasi berupa spektrum IR dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Spektrum Infra Merah

Berdasarkan analisis spektroskopi inframerah diperoleh serapan pada bilangan gelombang  $3334.92\text{ cm}^{-1}$  dengan intensitas kuat yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur N-H sekunder dengan pita tajam yang didukung oleh adanya serapan tajam dengan intensitas kuat pada bilangan gelombang  $1219.01\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan vibrasi ulur C-N. Pada bilangan gelombang  $1562.344\text{ cm}^{-1}$  diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C=C aromatik dengan pita tajam dan intensitas kuat (Sastrohamidjojo, 2013). Serapan tajam pada bilangan gelombang  $2993.52\text{ cm}^{-1}$  dengan

intensitas lemah menunjukkan vibrasi ulur C-H alifatik (Silverstein, 2005). Serapan gelombang ini, mengidentifikasi bahwa ekstrak mengandung senyawa metabolik sekunder golongan alkaloid dengan vibrasi kuat dan tajam pada gugus N-H yang banyak pada golongan alkaloid.

#### 4. Identifikasi

##### A.Uji Golongan

Hasil uji fitokimia menggunakan Wegner, Dragendorff,  $\text{FeCl}_3$ , dan Liebermann-Burchard yang tertera pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Uji Golongan Ekstrak Etil Asetat

Pereaksi	Perubahan warna yang terjadi	Keterangan	Gambar
FeCl <sub>3</sub>	Orange → Hijau Kehitaman	+ Flavonoid	
Liebermann-Burchard	Orange → Orange	- Steroid	
Wagner	Orange → Endapan Coklat	+ Alkaloid	
Dragendroff	Orange → Endapan Jingga	+ Alkaloid	

Berdasarkan tabel 1, menunjukkan tanda positif alkaloid pada pereaksi wegner berupa endapan coklat, pereaksi Dragendoff juga menunjukkan tanda positif alkaloid dengan terbentuknya endapan jingga, serta menunjukkan hasil positif Flavonoid dengan terbentuknya warna kehitaman. Hasil identifikasi ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat batang *M. Speciosa* mengandung senyawa metabolit sekunder golongan

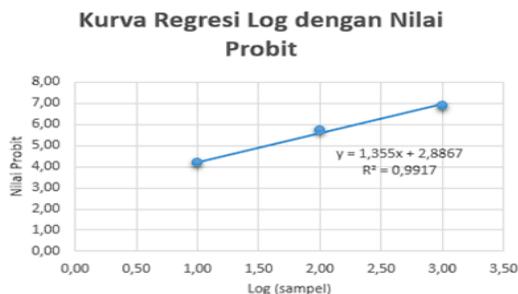
alkaloid dan flavanoid.

### B. Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrike Lethality Test* (BSLT)

Hasil uji toksisitas menggunakan *Brine Shrike Lethality Test* (BSLT) tertera pada Tabel 2. Grafik hubungan antara probit dengan log konsentrasi terhadap ekstrak etil asetat batang kratom dapat dilihat pada Gambar 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji Larva Udang (*Artemia Salina* Leach) terhadap fraksi Etil asetat batang kratom (*M. Speciosa* Korth.)

Kode	[sampel] (ppm)	Sumbu x (log [sampel])	% kematian larva – kontrol	Sumbu y (nilai probit)
Sampel	10	1.00	20	4,17
	100	2.00	77	5.74
	1000	3.00	97	6.88

**Gambar 2.** Grafik Kurva Regresi Log dengan Nilai Probit

Dari grafik di atas diperoleh persamaan regresi  $y = 1,355x + 2,887$ . Sehingga nilai  $LC_{50}$  dihitung berdasarkan persamaan tersebut, maka:

$$(y - 2,887)/1,355 = x$$

$$(5 - 2,887)/1,355 = 1,5594$$

$$\text{Jadi } \log x = 1,5594$$

$$x = \text{antilog } 1,5594$$

$$x = 36,2576 \text{ ppm}$$

Berdasarkan analisis BSLT pada ekstrak etil asetat *M.Speciosa Korth* menunjukkan adanya peningkatan jumlah kematian dari larva *Artemia salina* Leach pada peningkatan konsentrasi ekstrak 10, 100, dan 1000 ppm. Data ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak etil asetat berbanding lurus dengan persentase kematian larva *Artemia salina* Leach. Kemudian dilakukan perhitungan dengan  $LC_{50}$  untuk kombinasi ekstrak etil asetat batang *M.Speciosa Korth* adalah 36,2576 ppm. Hasil menandakan suatu zat aktif, atau toxic jika nilai  $LC_{50} \leq 1000$  ppm (Mayer,1982). Tingkat toksisitas ini memberikan peluang besar terhadap penggunaan ekstrak etil asetat batang kratom *M. Speciosa* sebagai anti bakteri.

Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etil asetat batang *M.Speciosa Korth*, merupakan komponen aktif yang bekerja pada saraf yang dapat mengganggu pencernaan sehingga berakibat sebagai racun pada larva. Senyawa metabolit adalah alkaloid yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak dapat mengenali makanan dan mati kelaparan (Khasanah, 2020). Senyawa inilah yang punya potensi untuk dilanjutkan pada

proses isolasi senyawa untuk penggunaan sebagai obat anti bakteri.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang telah diisolasi dari ekstrak E asetat batang *M. Speciosa* merupakan senyawa golongan alkaloid dan Flavanoid berdasarkan hasil uji positif reagen  $FeCl_3$  Hijau kehitaman, Wegener endapan Coklat dan Dragendroff endapan jingga. Serta hasil uji toksisitas  $LC_{50}$  diperoleh nilai sebesar 36,2576 ppm yang bersifat toksik.

### B. Saran

1. Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut menggunakan spektrofotometer FTIR, NMR, GC-MS, dan UV-VIS agar lebih mendukung data struktur senyawa yang diperoleh.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut isolasi senyawa pada fraksi-fraksi KKCVC agar dapat diperoleh senyawa metabolit sekunder yang lain.

## 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].
- Chittrakarna, 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
- Khasanah, Nur Wakidatul., Bhakti Karyadi dan Agus Sundaryono. 2020. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum sp.* terhadap *Artemia salina* Leach. *Journal of Science Education*. 4(1); 47-53
- Meyer, H.N. 1982. Brine Shrimp Lethality Test: *Med. Plant Research*. Vol. 45 No. 3. Amsterdam, Hipokrates Verlag Gmbrl
- Rabani, Farah Diba, dan Muflihati. 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
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.
- Silverstein, Robert. M., Francis X Webster., & David J Kiemle. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compound Seventh Edition*. Amerika: State University of New York College of Enviromental Science & Forestry.
- 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
- Zuraida. 2018. Analisis Toksisitas Beberapa Tumbuhan Hutan dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (*BSLT*), *Penelitian Hasil Hutan*. 36 (3); 239-246.