

## Identifikasi dan Karakterisasi Tanaman Kratom melalui Pendekatan Profil Kandungan Senyawa Penanda secara LC-HRMS QToF dan Penetapan Nilai *Retention Index* secara GCMS

Dona Fitria<sup>a,1,\*</sup>, Puspita Ayu Wardani<sup>a,2</sup>, Aan Risma Uli N.<sup>a,3</sup>, Farida Kurniawati<sup>a,4</sup>

<sup>a</sup>Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan POM, Jl. Percetakan Negara 23, Jakarta, 10440

<sup>1</sup>[dona.fitria@pom.go.id](mailto:dona.fitria@pom.go.id) ; <sup>2</sup>[puspita.ayuardani@pom.go.id](mailto:puspita.ayuardani@pom.go.id) ; <sup>3</sup>[risma.uli@pom.go.id](mailto:risma.uli@pom.go.id) ;

<sup>4</sup>[farida.kurniawati@pom.go.id](mailto:farida.kurniawati@pom.go.id)

\*corresponding author

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT / ABSTRAK

#### Article history

Received: 22  
Agustus 2022

Revised: 20  
Januari 2023

Accepted: 20  
Januari 2023

DOI:  
<https://doi.org/10.54384/eruditio.v3i1.141>

Penggunaan kratom dilarang dalam obat tradisional dan suplemen kesehatan. Untuk mengidentifikasi tanaman kratom diperlukan suatu metode analisis yang dapat mengidentifikasi senyawa penanda yang terdapat di dalam tumbuhan tersebut. Saat ini senyawa penanda yang diperlukan sulit diperoleh di peredaran karena termasuk senyawa dilarang di Indonesia. Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan alternatif metode tanpa baku pembandingan dengan pendekatan profil kandungan senyawa penanda menggunakan spektrometer massa. Spektrometri massa dilakukan baik menggunakan gas kromatografi maupun *liquid chromatography high resolution mass spectrometry* (LC-HRMS). Kedua metode tersebut dikembangkan untuk uji konfirmasi identitas senyawa penanda pada tanaman kratom. Uji spektrometri massa dilakukan setelah senyawa penanda diekstraksi dari tanaman. Uji gas kromatografi dilakukan menggunakan mode *selected ion monitoring* (SIM) pada  $m/z$  214, 397, 383, dan 269. Sistem kromatografi LC-HRMS menggunakan *modifier ion* asam formiat 0.1% dalam air dan asetronitril sebagai fase gerak. Analisis dilakukan menggunakan spektrometer massa *quadrupole time of flight* (QToF) sebagai *mass analyzer*, mode ionisasi  $ESI^+$  dan mode *scan*. Analisis kualitatif menggunakan data waktu retensi (Rt) dan fragmen ion senyawa penanda tanaman kratom. Diperoleh 3 (tiga) senyawa penanda tanaman kratom, yaitu *speciociliatine*, *speciogynine*, dan *mitragynine*. Uji spesifisitas dilakukan dengan membandingkan waktu retensi yang dikonfirmasi dengan nilai *Retention Index* (RI) secara GCMS serta nilai  $m/z$  senyawa penanda secara LC-HRMS QToF. Hasil analisis menunjukkan bahwa 3 (tiga) senyawa penanda utama dapat digunakan dalam identifikasi tanaman kratom. Metode ini dapat diaplikasikan sebagai uji konfirmasi kandungan tanaman kratom dalam obat tradisional dimana metode LC-HRMS QToF merupakan metode yang lebih

sensitif dibandingkan dengan GCMS dengan nilai LOD 149.2 µg/g dan 67.6 mg/g sehingga dapat digunakan sebagai metode konfirmasi setelah sampel diekstraksi dan diisolasi secara KLT.

*Kratom is illegally used in traditional medicine and health supplement products. Thus, the analytical method development is needed to identify its presence in final products. Currently, the availability of its markers is limited due to it belongs to restricted substance in Indonesia. The research was conducted to produce alternative analytical method without the use of reference standard. In addition, the research was developed by biomarker profiling approach using mass spectrometer. Mass spectrometry was performed using either gas chromatography or liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HRMS). Both systems were developed to confirm the presence of kratom. A mass spectrometry test was carried out after the marker compounds were extracted from the leaves. The gas chromatography test was carried out using selected ion monitoring (SIM) mode at  $m/z$  214, 397, 383, and 269. The LC-HRMS chromatography system used 0.1 % formic acid as an ion modifier. The analysis was carried out using a quadrupole time of flight (QToF) mass spectrometer as a mass analyzer with electrospray ionization (ESI) in positive mode, running in scan mode analysis. Qualitative analysis was carried out using retention time (Rt) data and ionic fragments of kratom marker compounds. There were three marker compounds obtained, namely speciociliatine, speciogynine, and mitragynine. Specificity test was carried out by identifying their retention time, followed by the determination of their Retention Index (RI) value by GCMS. In addition,  $m/z$  value of the marker compounds were confirmed by LC-HRMS QToF. The results showed that three main marker compounds can be used in the identification of kratom adulteration in traditional medicines. This method can be applied as a confirmation test of kratom adulteration in traditional medicine where the LC-HRMS QToF method is more sensitive than GCMS and TLC with LOD values of 149.2 µg/g and 67.6 mg/g respectively after extracted and isolated by TLC.*

**Keywords:** kratom, *mitragynine*, biomarker

**Kata Kunci:** kratom, *mitragynine*, senyawa penanda

## 1. Pendahuluan

Kratom merupakan tumbuhan yang termasuk dalam famili *Rubiaceae* dengan nama latin *Mitragyna speciosa* Korth banyak dijumpai di Asia Tenggara (E. Adkins, W. Boyer, and R. McCurdy 2011). Di Indonesia, kratom banyak ditemukan di wilayah Kalimantan. Kratom sering disalahgunakan dan dijual dalam bentuk serbuk atau ekstrak melalui *online shop*, diantaranya dengan nama *smoke shops* (Raini 2017). Kratom digunakan untuk memperoleh efek seperti opium untuk mengatasi kecanduan opium, namun tujuan penggunaan kratom untuk hal tersebut masih diperdebatkan (Todd et al. 2020). Penggunaan kratom secara rutin atau dalam suatu periode dapat menimbulkan adiksi dan ketergantungan. Pengguna yang mencoba menghentikan penggunaan kratom dapat menyebabkan gejala putus obat, diantaranya anoreksia, nyeri dan kejang otot, nyeri pada tulang dan sendi, mata/hidung berair, rasa panas, demam, nafsu makan turun, diare, halusinasi, *delusion*, *mental confusion*, gangguan emosional, dan insomnia. *United Nations Office on Drugs and*

*Crime* (UNODC) telah memasukkan kratom ke dalam *New Psychoactive Products* (NPS) (Raini 2017). Kratom merupakan barang ilegal di Malaysia, Thailand, Birma, dan Australia, sedangkan di beberapa negara lain yaitu Denmark, Jerman, Finlandia, Rumania, dan Selandia Baru penggunaan kratom dikendalikan dan dimasukkan dalam narkotika golongan I (Istyanawan et al. n.d.). Di Indonesia, Badan Pengawas Obat dan Makanan telah melarang penggunaan kratom sebagai 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 (BPOM 2016).

Identifikasi kandungan senyawa dalam kratom telah dilakukan diantaranya adalah karakterisasi dan isolasi alkaloid yang telah mengidentifikasi adanya 19 alkaloid dalam kratom, antara lain *mitragynine* dan diastereoisomernya (*speciociliatine*, *speciogynine*, dan *mitraciliatine*) (Flores-Bocanegra et al. 2020). *Mitragynine* merupakan alkaloid utama dalam daun tanaman kratom dengan kandungan 1-2% dari berat daun kering, dapat mencapai 2/3 bagian dari total alkaloid (Kruegel and Grundmann 2018). Meskipun lebih dari 40 alkaloid lain telah berhasil diisolasi, tetapi penelitian berfokus pada alkaloid paling dominan yaitu *mitragynine* yang juga menunjukkan afinitas terhadap reseptor opioid (Adkins, 2015).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengidentifikasi *mitragynine* menggunakan metode *Gas Chromatography* (GC) dan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) serta *Capillary Electrophoresis* (CE) dan *Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry* (CE-MS). Penelitian tersebut menggunakan standar *mitragynine* sebagai pembanding (Fu et al. 2015). Standar *mitragynine* yang digunakan dalam pengujian laboratorium merupakan senyawa yang dibatasi peredarannya. Sebagai alternatif, pengujian di laboratorium dilakukan menggunakan metode profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) terhadap senyawa yang terkandung dalam daun kratom. Metode profil KLT sudah umum digunakan untuk memperoleh gambaran kandungan ekstrak tanaman. Jika ekstrak tanaman satu dengan yang lain memiliki profil yang sama maka dapat dipastikan juga memiliki aktivitas biologis yang sama. Profil KLT dapat digunakan untuk memastikan kualitas dan keamanan suatu produk (Boffa et al. 2018). Pada pengujian secara KLT, senyawa dalam ekstrak tanaman dapat dipisahkan dengan metode yang cepat dan sederhana. Sebagai konfirmasi dan karakterisasi kandungan senyawa dalam tanaman herbal, pengujian dilanjutkan secara spektrometri massa dengan mode *electrospray ionization* (Cheng et al. 2018). Selain profil secara KLT dan LC-MS/MS, pendekatan identifikasi kratom tanpa menggunakan standar sebagai pembanding dapat dilakukan menggunakan nilai *Retention Index* (RI). RI suatu analit dalam sampel adalah angka yang diperoleh dengan interpolasi (biasanya logaritmik), yang menghubungkan antara volume retensi atau retensi faktor analit dari dua standar yang dielusi sebelum dan sesudah puncak analit dengan n-alkana berfungsi sebagai standar pada analisis secara kromatografi gas yang ditandem dengan spektroskopi massa (*retention index in column chromatography*, I 2008).

Untuk mengatasi kendala pengawasan yang disebabkan oleh adanya keterbatasan standar *mitragynine*, Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional (PPPOMN) melakukan pengembangan metode analisis untuk identifikasi kandungan senyawa dalam kratom menggunakan pendekatan profil kandungan yang didukung dengan identifikasi nilai RI senyawa penanda. Penelitian dilakukan dalam rangka mendukung pengawasan penyalahgunaan kratom dalam obat tradisional dan suplemen kesehatan melalui identifikasi senyawa penanda dalam tanaman kratom.

## 2. Metodologi penelitian

Isolasi senyawa penanda didahului dengan ekstraksi sampel menggunakan teknik ekstraksi cair-cair. Selanjutnya, dilakukan isolasi lanjutan menggunakan teknik KLT untuk memperoleh senyawa penanda. Senyawa penanda tersebut dikarakterisasi melalui profil spektrum, nilai  $m/z$ , dan nilai RI

(Rivier 2003). Karakterisasi senyawa penanda melalui perhitungan data RI dilakukan secara GCMS, sementara karakterisasi nilai  $m/z$  senyawa dilakukan menggunakan LCMS-HRMS QToF.

## 2.1. Bahan dan pereaksi

Serbuk daun kratom diperoleh dari Kedeputusan Bidang Penindakan Badan POM sebagai sampel dalam rangka pengawasan yang dilakukan oleh BBPOM di Pontianak.

Metanol, n-heksan, etil asetat, amonia 25%, asam asetat, asam formiat, asetonitril, lempeng KLT silika gel GF 254 diperoleh dari Merck (Jerman).

## 2.2. Ekstraksi dan isolasi senyawa penanda

Serbuk daun kratom ditambahkan asam asetat 10%, diekstraksi menggunakan n-heksan, kemudian lapisan atas (lapisan n-heksan) dibuang. Lapisan bawah diambil dan dibasakan dengan larutan amonia 25% hingga pH 9, kemudian diekstraksi 2 kali menggunakan n-heksan. Fase n-heksan hasil ekstraksi diuapkan dan sisa penguapan dilarutkan dalam metanol (Elsa 2016).

## 2.3. Instrumen

### 2.3.1. Peralatan KLT

Pengujian KLT meliputi proses aplikasi sampel, eluasi, visualisasi bercak, dan pemindaian bercak. Instrumen yang digunakan untuk proses tersebut berturut-turut adalah CAMAG ATS 4, CAMAG ADC 2, CAMAG UV TLC Visualizer, dan CAMAG TLC Scanner 4. Eluasi dilakukan menggunakan fase gerak n-heksan-etil asetat-amonia 25% (30:15:1).

### 2.3.2. LC-HRMS-Q-ToF

Sistem kromatografi menggunakan ACQUITY UPLC I-Class *system* yang dilengkapi dengan kolom ACQUITY UPLC HSS C18 berdimensi 2.1 mm x 150 mm dengan ukuran partikel 1.8  $\mu\text{m}$ . Sebagai spektrometer massa yang digunakan Xevo G2-S QToF dilengkapi dengan *software Unifi* untuk pengaturan kondisi instrumen dan pengolahan data (Waters, USA). Fase gerak menggunakan 5 mM amonium formiat pH 3.0 sebagai fase gerak A dan 0.1 % asam formiat dalam asetonitril sebagai fase gerak B. Kondisi analisis diawali dengan 87% fase gerak A selama 0.5 menit. Kemudian pada menit ke 10 konsentrasi turun menjadi 50%. Pada menit 10.75 konsentrasi turun menjadi 5% dan ditahan selama 1.5 menit. Pada menit 12.5 konsentrasi kembali menjadi 87% sampai menit ke 15 untuk memberikan kondisi sama seperti awal penyuntikan sampel. Ionisasi menggunakan ESI positif pada mode *scan* dengan rentang massa 50-600 Da (Avula et al. 2015).

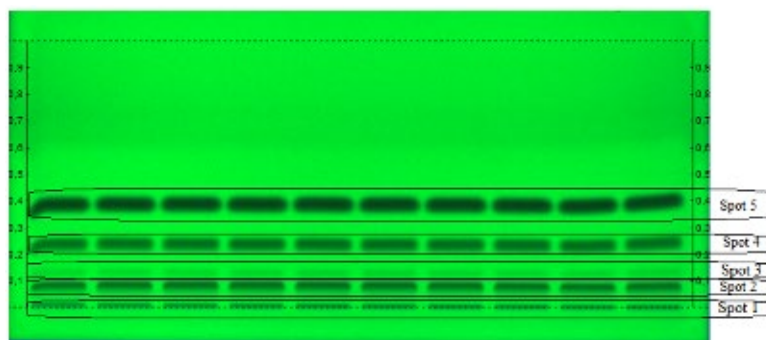
### 2.3.3. GCMS

Sistem kromatografi menggunakan GC *system* 7890B yang dilengkapi dengan detektor spektrometer massa *single quad* Agilent MS 5977B menggunakan *software* Agilent GCMS *Enhanced Mass Hunter* untuk kondisi percobaan dan pengolahan data (*Agilent Technologies*, USA). Kromatograf gas dilengkapi dengan kolom kapiler DB5-MS dengan dimensi 0,25 mm x 30 m dengan ukuran partikel 0,25  $\mu\text{m}$ . Gas pembawa yang digunakan adalah helium, penyuntikan sampel mode *splitless*, laju alir kolom 1,0 ml/menit, suhu pada *ion source* 230 °C, suhu MSD *transfer line* 300 °C, *spectrum mass scan* 50-500 Da, volum penyuntikan 2  $\mu\text{l}$ . Analisis menggunakan program suhu dengan suhu awal 200 °C ditahan selama 2 menit, suhu naik menjadi 300 °C dengan kenaikan suhu 10 °C/menit dan ditahan selama 13 menit (Elsa 2016).

### 3. Hasil dan pembahasan

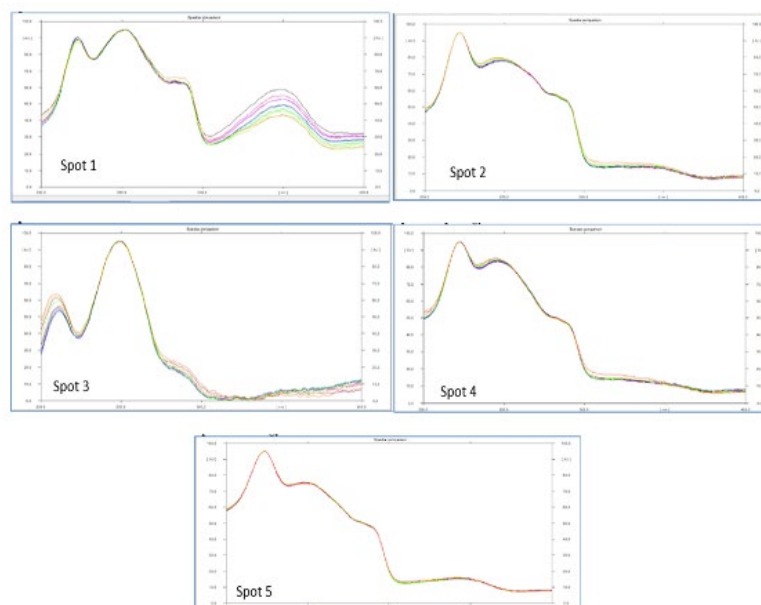
#### 3.1. Pendekatan profil senyawa penanda kratom secara KLT

Ekstrak metanol ditotolkan sebanyak 10 totolan pada lempeng KLT dan dieluasi menggunakan fase gerak n-heksan-etil asetat-amonia 25% (30:15:1) dan diamati adanya bercak dibawah sinar UV 254 nm. Terdapat 5 bercak dimana semakin tinggi nilai Rf semakin berkurang polaritasnya. Hal tersebut dikarenakan fase gerak yang digunakan bersifat non polar sehingga dapat disimpulkan bercak dengan nilai Rf tertinggi adalah yang paling non polar (Reich 2019). 3 bercak yang mempunyai intensitas dominan, yaitu bercak 2, 4, dan 5 (**Gambar 1**). Metode KLT memberikan hasil waktu retensi relatif terhadap bercak 5 dari bercak 2, bercak 4, dan bercak 5 berturut-turut 0,23; 0,66; dan 1,00.



**Gambar 1.** Hasil KLT ekstrak metanol kratom setelah dieluasi menggunakan fase gerak n-heksan- etil asetat-amonia 25% (30:15:1).

Pemindaian dilakukan terhadap seluruh bercak menggunakan CAMAG TLC Scanner 4 untuk memperoleh profil spektrum dengan rentang panjang gelombang 200-400 nm (**Gambar 2**). Dari hasil pemindaian diperoleh spektrum dengan pola yang sama pada bercak 2, 4 dan 5.

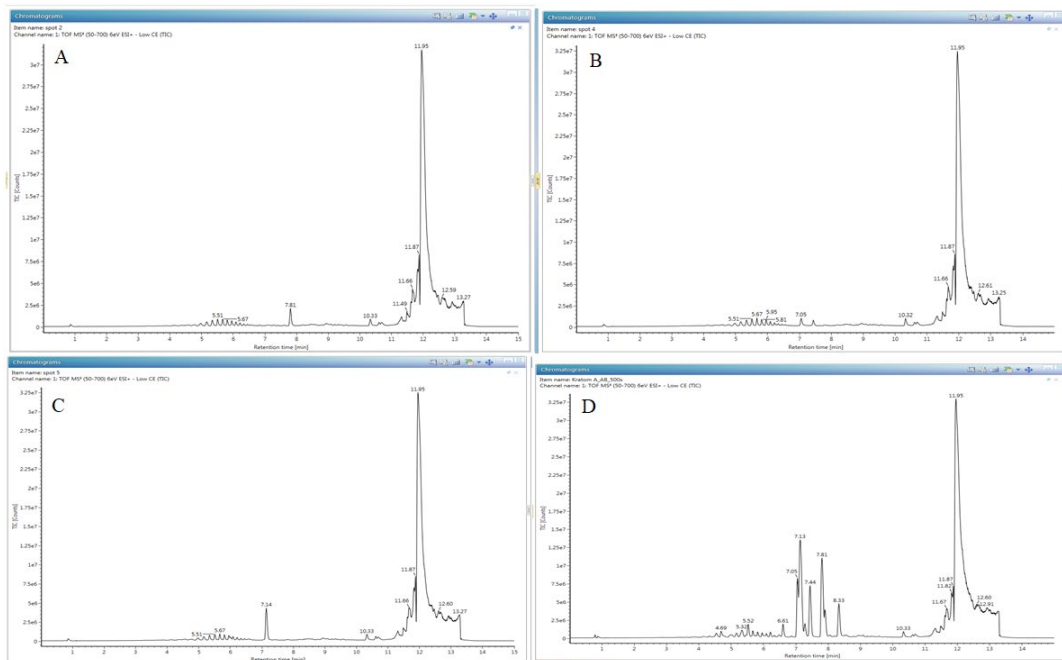


**Gambar 2.** Profil spektrum hasil pemindaian pada lempeng KLT setelah dieluasi menggunakan fase gerak n-heksan-etil asetat-amonia 25% (30:15:1)

Dari 5 bercak hasil KLT; setelah dilakukan pemindaian sinar UV 254 nm; bercak 2, 4, dan 5 mempunyai profil spektrum yang sama, sedangkan bercak 1 dan 3 mempunyai profil spektrum yang berbeda. Senyawa yang memiliki profil spektrum yang hampir sama kemungkinan besar adalah senyawa diastereomer, yaitu senyawa dengan konfigurasi karbon kiral yang mempunyai sifat fisik berbeda sehingga lebih mudah dipisahkan dibandingkan dengan senyawa enantiomer (Sardjono 2015). Uji konfirmasi senyawa dengan profil spektrum yang sama diperlukan metode dengan tingkat spesifisitas dan sensitifitas yang lebih tinggi, dalam penelitian ini digunakan LC-HRMS QTof dan GCMS.

### 3.2. Pendekatan profil senyawa penanda kratom secara LC-HRMS QTof

Berdasarkan hasil pada Gambar 2, uji lanjutan dipilih bercak 2, 4, dan 5 yang memiliki kemiripan profil spektrum. Selanjutnya, uji profil senyawa penanda dilakukan secara spektrometri massa, dalam hal ini LC-HRMS QTof. Bercak 2, 4, dan 5 masing-masing dikerok, dilarutkan dan diencerkan dengan metanol secara terpisah. Larutan tersebut dianalisis untuk memperoleh gambaran mengenai rumus molekul, pola fragmentasi dan struktur kimia senyawa dari masing-masing bercak. Selain itu juga dilakukan analisis pada larutan ekstrak metanol tanaman kratom yang telah diencerkan 500 kali untuk melihat profil keseluruhan tanaman kratom (**Gambar 3**).



**Gambar 3.** Kromatogram LC-HRMS QTof bercak 2 (A), bercak 4 (B), bercak 5 (C), dan ekstrak metanol tanaman (D).

**Tabel 1.** Hasil analisis senyawa penanda pada kratom secara LC HRMS QtoF

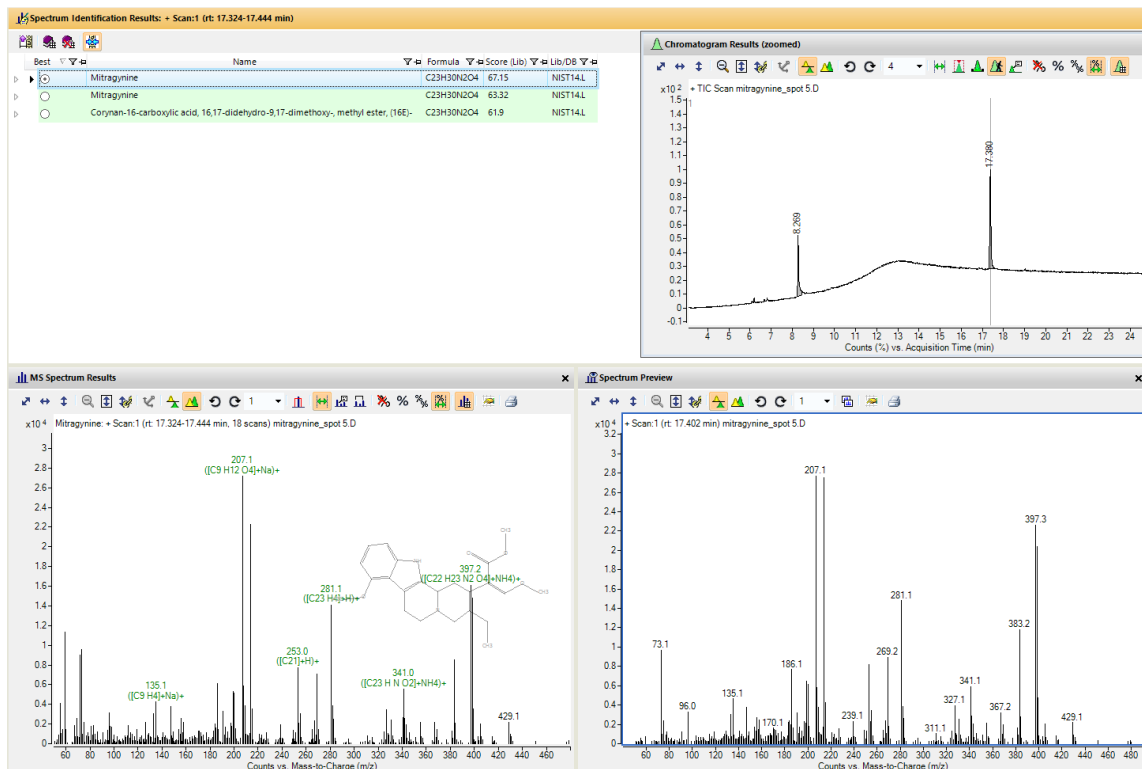
Nama Larutan	RT (menit)	Exact mass m/z	Observed m/z	Error (mDA)	Rumus Molekul	Fragmen ion (m/z)	Nama Senyawa
Bercak 5	7.14	398.22056	399.2274	-0.5	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	174.0900 238.1428 367.2005 226.1429 110.0961	<i>Myragynine</i>
Bercak 4	7.44	398.22056	399.2269	-0.6	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	174.0908 238.1428 226.1429 110.096	<i>Speciogynine</i>
Bercak 2	7.81	398.22056	399.2271	-0.7	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	174.0908 238.1428 226.1429 110.0961	<i>Speciociliatine</i>

Hasil analisis menunjukkan senyawa penanda kratom dapat dibedakan berdasarkan waktu retensi (Rt) dan fragmen ion. Urutan bercak berdasarkan waktu retensi adalah bercak 5, bercak 4, dan bercak 2 dengan waktu retensi berturut-turut 7,14; 7,44; dan 7,81. Berdasarkan library *Waters Toxicological* yang tersedia di instrumen LC- HRMS QtoF; bercak 2, 4, dan 5 selanjutnya teridentifikasi sebagai *speciociliatine*, *speciogynine* dan *myragynine*. Hasil identifikasi ketiga senyawa tersebut berdasarkan nilai Rt dan fragmen ion, sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya (Avula et al. 2015).

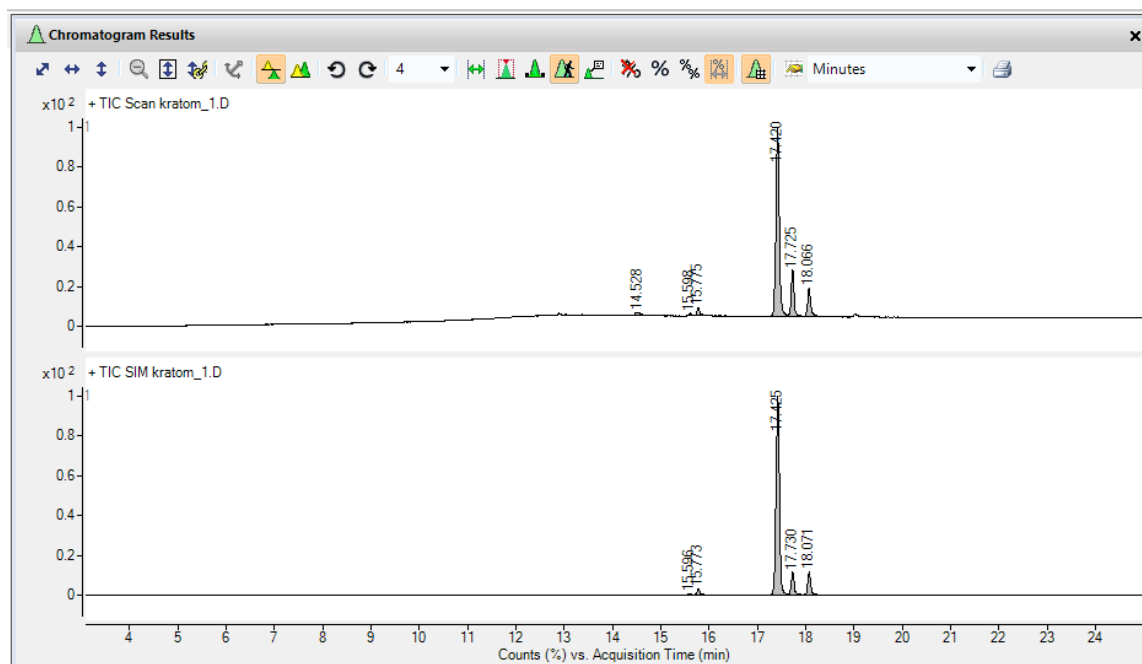
*Myragynine*, *speciogynine* dan *speciociliatine* adalah senyawa diastereoisomer yang memiliki rumus molekul yang sama. *Mitragynine* merupakan senyawa yang paling dominan pada tanaman kratom dan diisolasi sebagai senyawa utama. Hasil analisis spektrometri massa menunjukkan rumus molekul C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> dari data HR-ESI-MS positif (m/z 399.2274 [M+H]<sup>+</sup>). Fragmen ion utama MS/MS adalah m/z 174.0900, 238.1428, 367.2005, 226.1429, dan 110.0961 (Tabel 1). Fragmen ion MS/MS paling melimpah, [M + H-225]<sup>+</sup> yaitu hilangnya turunan *piperidine* (C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>) membentuk fragmen ion metil tersubstitusi dengan nilai m /z 174.0900. Fragmen ion dengan massa genap ini mempunyai rumus molekul C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>NO menunjukkan jumlah nitrogen ganjil yang merupakan karakteristik alkaloid indole. Hasil analisis juga menunjukkan fragmen ion m/z 367.2005 yang didapat dari hilangnya gugus metoksi (CH<sub>3</sub>OH) dengan kelimpahan sedikit. Ion produk dengan m/z 367.2005 dan 174.0900 mengandung fragmen indole, sedangkan m/z 238.1428, 226.1429, dan 110.0961 hanya berisi bagian non-aromatik dari molekul (Avula et al. 2015). Senyawa *speciogynine* dan *speciociliatine* merupakan diastereoisomer *myragynine* sehingga didapatkan fragmen ion yang sama dengan mitragynine (Flores-Bocanegra et al. 2020). Namun demikian, ketiga senyawa tersebut secara kromatografi dapat dipisahkan dan diidentifikasi berdasarkan perbedaan waktu retensi.

### 3.3. Pendekatan Profil Senyawa Penanda Kratom secara GCMS

Selanjutnya bercak 2, bercak 4, bercak 5, dan larutan ekstrak metanol tanaman dianalisis secara GCMS. Hasil uji secara GCMS bercak 2 dan 4 memberikan respon yang kecil, sehingga analisis hanya dilakukan terhadap bercak 5 dan larutan ekstrak metanol. Analisis *mitragynine* secara GCMS juga tidak menggunakan standar sebagai pembanding, melainkan berdasarkan waktu retensi dan nilai RI. Larutan bercak 5 dalam metanol dan larutan ekstrak metanol disuntikkan ke dalam instrument GCMS untuk melihat profil kromatogram senyawa penanda tanaman kratom. Pengamatan dilakukan terhadap waktu retensi dan spektrum massa dengan nilai m/z 214, 297, 383 yang dibandingkan dengan *library* NIST (**Gambar 4**).



Gambar 4. Kromatogram GCMS bercak 5 hasil isolasi *mitragynine*



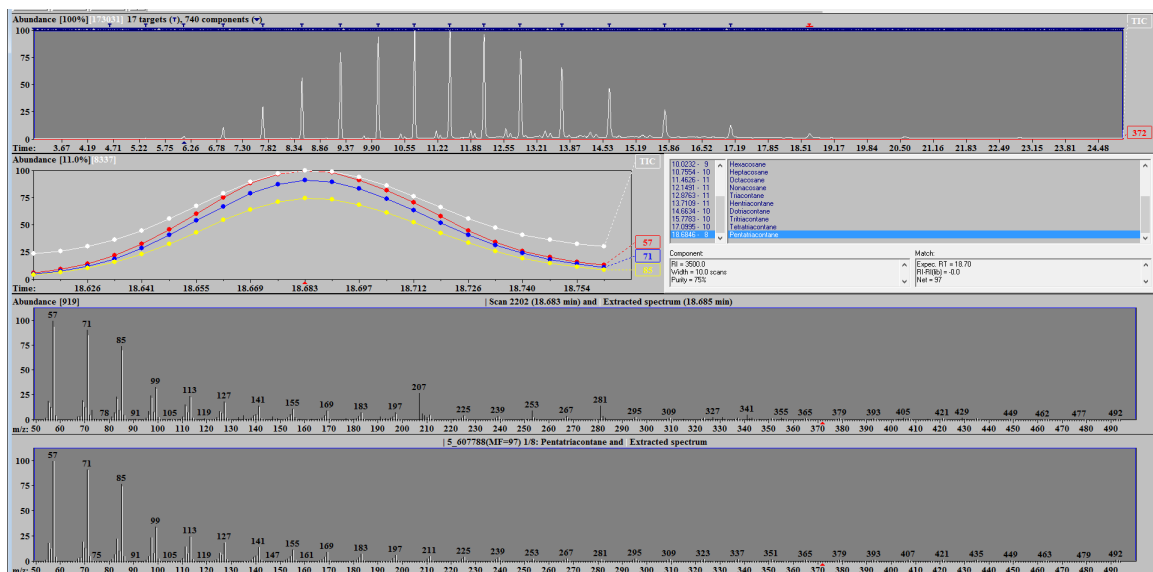
Gambar 5. Kromatogram GCMS hasil ekstrak larutan kratom

Hasil analisis GCMS pada Gambar 4 menunjukkan bahwa bercak 5 merupakan puncak tunggal pada Rt 17.380 dengan pola spektrum massa yang sama dengan mitragynine berdasarkan *library* NIST, sedangkan puncak pada Rt 8.269 merupakan silika dari hasil kerokan plat KLT. Hasil analisis ekstrak tanaman kratom pada Gambar 5 menunjukkan kratom memiliki 3 puncak penanda, yaitu

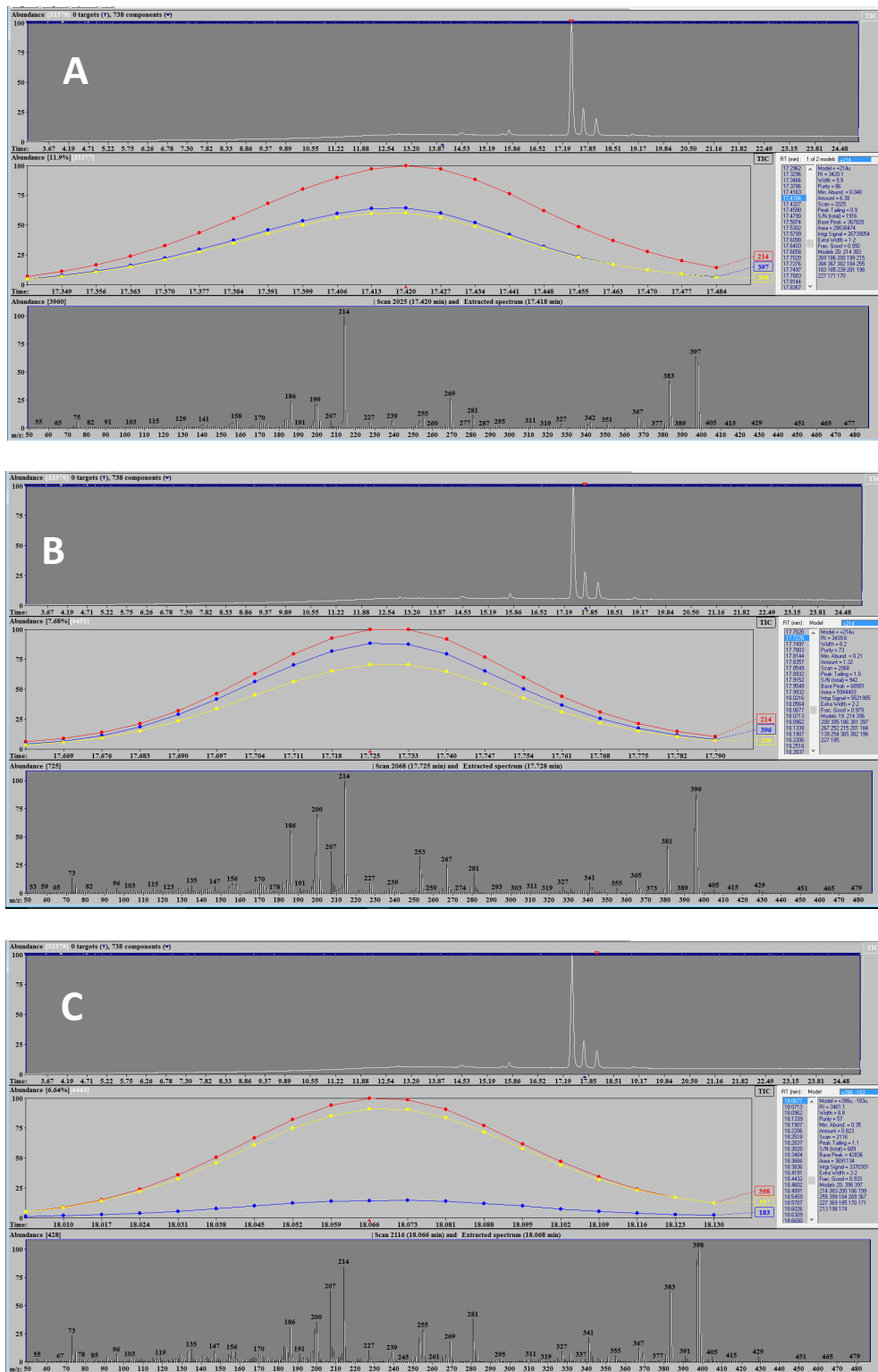


*mitragynine* sebagai puncak utama pada Rt 17.420, diikuti dengan 2 puncak lainnya yaitu pada Rt 17.725 dan Rt 18.066. Hal ini sejalan dengan penelitian lain menggunakan GCMS yang juga menunjukkan bahwa kratom memiliki 3 puncak penanda (Casey et al. 2015).

Pada penelitian ini juga dilakukan perhitungan nilai *Retention Index* (RI) melalui program *Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System* (AMDIS) yang dapat digunakan sebagai konfirmasi dalam metode identifikasi secara GCMS. Nilai RI diperoleh dari perhitungan Rt suatu senyawa dengan Rt hidrokarbon, dimana Rt senyawa yang dianalisis berada pada rentang Rt larutan hidrokarbon. Rt senyawa *myrtraginin* dan kedua puncak penanda lainnya berada pada rentang Rt larutan hidrokarbon C9-C35 yaitu pada menit 4.6384 sampai dengan 18.6848 (Gambar 6). Pengolahan data menggunakan program AMDIS memberikan nilai RI untuk masing-masing puncak penanda tanaman kratom berturut-turut yaitu 3420.1, 3439.6 dan 3461.1 (Gambar 7). Nilai RI tersebut dapat digunakan sebagai penanda tanaman kratom yang dianalisis secara GCMS.



Gambar 6. Profil waktu retensi larutan hidrokarbon C<sub>9</sub>-C<sub>35</sub>



Gambar 7. Nilai RI masing-masing puncak ketiga senyawa penanda tanaman kratom pada Rt 17.420 (A), 17.725 (B), dan 18.066 (C).

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tanaman kratom dapat diidentifikasi secara kimia melalui pendekatan profil kandungan senyawa penanda *mitragynine*, *speciogyne* dan *speciociliatine* dengan menggunakan metode KLT, KLT-densitometri, GC-MS dan LC-HRMS QToF. Metode KLT memberikan hasil waktu retensi relatif terhadap bercak 5 untuk bercak 2, bercak 4, dan bercak 5 berturut-turut 0,23; 0,66; dan 1,00. Profil bercak 5 pada pengujian GCMS mempunyai nilai m/z 214, 297, dan 383. Bercak 5 ini memberikan 3 puncak pada GCMS dengan nilai RI 3420.1, 3439.6 dan 3461.1. Pengujian bercak 2 dan 4 menggunakan GCMS memberikan intensitas yang kecil, sehingga tidak dilanjutkan untuk dikarakterisasi. Hasil pengujian secara LC-HRMS QToF memiliki nilai m/z 174.0908; 238.1428; 226.1429 dan 110.096 dengan waktu retensi bercak 2, bercak 4, dan bercak 5 masing-masing adalah 7,81; 7,44; 7,14 menit. Metode isolasi secara KLT dan konfirmasi secara LC-HRMS QToF dan GCMS menunjukkan bahwa metode ini selektif dan dapat digunakan untuk identifikasi adanya tanaman kratom dalam produk obat tradisional dan suplemen kesehatan.

#### Daftar Referensi

- Avula, Bharathi et al. 2015. "Identification and Characterization of Indole and Oxindole Alkaloids from Leaves of *Mitragyna Speciosa* Korth Using Liquid Chromatography - Accurate QToF Mass Spectrometry." *Journal of AOAC International* 98(1): 13–21.
- Boffa, Luisa et al. 2018. "Alkaloid Profiles and Activity in Different *Mitragyna Speciosa* Strains." *Natural Product Communications* 13(9): 1111–16.
- BPOM. 2016. "Surat Edaran Pelarangan Penggunaan *Mitragyna Speciosa* (Kratom) Dalam Obat Tradisional Dan Suplemen Kesehatan Tahun 2016." *Badan Pengawas Obat dan Makanan*.
- Casey, Christine R et al. 2015. "Quantitative and Qualitative Analysis of Mitragynine in Kratom ( *Mitragyna Speciosa* ) by GC-MS , LC-MS/MS and UPLC-PDA." *Journal of Regulatory Science* 02: 1–14.
- Cheng, Sy Chyi, Suhail Muzaffar Bhat, Chi Wei Lee, and Jentaie Shiea. 2018. "Thin Layer Chromatography Combined with Electrospray Ionization Mass Spectrometry for Characterizing Herbal Compounds." *International Journal of Mass Spectrometry* 434: 264–71. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2018.09.024>.
- E. Adkins, Jessica, Edward W. Boyer, and Christopher R. McCurdy. 2011. "*Mitragyna Speciosa*, A Psychoactive Tree from Southeast Asia with Opioid Activity." *Current Topics in Medicinal Chemistry* 11(9): 1165–75.
- Elsa, Livia. 2016. "Pengembangan Metode Isolasi Dan Identifikasi Mitragynine Dalam Daun Kratom (*Mitragyna Speciosa*)." *Jurnal Biosains Pascasarjana* 18(3): 191.
- Flores-Bocanegra, Laura et al. 2020. "The Chemistry of Kratom [ *Mitragyna Speciosa*]: Updated Characterization Data and Methods to Elucidate Indole and Oxindole Alkaloids." *Journal of Natural Products* 83(7): 2165–77.
- Fu, Hanzhuo et al. 2015. "Screening and Identification of Mitragynine and 7-Hydroxymitragynine in Human Urine by LC-MS/MS." *Chromatography* 2(2): 253–64.
- Istyawan, M, A Fadholi, ... D Surtikanthi - JURNAL, and undefined 2022. "Legalitas Narkotika Jenis Baru (Kratom): Antara Ancaman Dan Peluang Bagi Ketahanan Nasional Indonesia." *Jurnal.Politap.Ac.Id*: 69–80. <https://jurnal.politap.ac.id/index.php/literasi/article/view/170>.
- Kruegel, Andrew C., and Oliver Grundmann. 2018. 134 Neuropharmacology *The Medicinal Chemistry and Neuropharmacology of Kratom: A Preliminary Discussion of a Promising Medicinal Plant and Analysis of Its Potential for Abuse*. Elsevier Ltd. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.08.026>.
- Raini, Mariana. 2017. "Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth): Manfaat, Efek Samping Dan Legalitas." *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan* 27(3): 175–84.
- Reich, Eike. 2019. *Encyclopedia of Analytical Science Thin-Layer Chromatography | Overview*. Elsevier Inc.

- <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.00540-0>.
- “Retention Index in Column Chromatography, I.” 2008. *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology* 819: 5360.
- Rivier, Laurent. 2003. “Criteria for the Identification of Compounds by Liquid Chromatography – Mass Spectrometry and Liquid Chromatography – Multiple Mass Spectrometry in Forensic Toxicology and Doping Analysis.” 492: 69–82.
- Sardjono, Ratnaningsih E. 2015. “Modul 2 Isomeri.” *Isomeri*.  
[http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR.\\_PEND.\\_KIMIA/196904191992032-RATNANINGSIH\\_EKO\\_SARDJONO/MODUL\\_2\\_isomer\\_20\\_6\\_08\\_revisi.pdf](http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._KIMIA/196904191992032-RATNANINGSIH_EKO_SARDJONO/MODUL_2_isomer_20_6_08_revisi.pdf).
- Todd, D. A. et al. 2020. “Chemical Composition and Biological Effects of Kratom (*Mitragyna Speciosa*): In Vitro Studies with Implications for Efficacy and Drug Interactions.” *Scientific Reports* 10(1): 1–13.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-76119-w>.