



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKR 17.2**

Analisis Kuantitatif 7-Hidroksimitraginin
dan Mitraginin dalam Serbuk Kratom
(*Mitragyna speciosa*)

Tgl : 29-05-2026

Ed : 03

Rev : 01

Hal : 1 dari 2

A. PROSEDUR ANALISIS KUANTITATIF MENGGUNAKAN KCKT (KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI)

1. Preparasi Sampel

- Dilakukan homogenisasi sampel serbuk kratom dengan menggerus sampel hingga homogen, kemudian sampel ditimbang sebanyak 500 mg dan dilarutkan dalam 5 mL metanol 80% (dalam Aquademin) menggunakan tabung reaksi tertutup, dilakukan 3 replikasi sampel.
- Selanjutnya sampel tersebut divortex selama 10 menit, lalu disonikasi selama 1 jam (60 menit) dengan menggunakan ice gel agar suhu tidak naik, kemudian larutan sampel tersebut didiamkan selama 1 jam (60 menit) pada refrigerator bagian chiller suhu 2-6°C.
- Setelah didiamkan, sampel disentrifugasi pada kecepatan 4500 rpm selama 5 menit, dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan membran filter PTFE 0.22 µm. Larutan sampel stok dengan konsentrasi 100.000 ppm siap untuk diencerkan.

2. Kurva Linieritas Standar 7-Hidroksimitraginin

- Disiapkan larutan induk dengan cara menimbang standar acuan 7-hidroksimitraginin bersertifikat pada konsentrasi tertentu, kemudian dilarutkan dalam metanol.
- Dibuat deret standar 7-hidroksimitraginin dari larutan induk pada 6 level konsentrasi yang mewakili rentang kerja sampel pada analisis rutin, kemudian dilarutkan dalam metanol.
- Masing-masing level konsentrasi dibuat sebanyak 6 replika.
- Larutan di saring menggunakan *syringe filter* kemudian dimasukkan kedalam vial dan siap untuk injeksi LC-PDA (UPLC Waters). sesuai dengan kaidah LU-IKA 24 tentang Prosedur Pengoperasian *Liquid Chromatography-Photo Diode Array* (LC-PDA).

3. Analisis Kurva Linieritas dengan LC-PDA

- Larutan standar yang telah dipreparasi kemudian diinjeksikan ke LC-PDA sebanyak 3 kali ulangan untuk masing-masing level konsentrasi mengikuti kaidah LU-IKA 24 Prosedur Pengoperasian *Liquid Chromatography-Photo Diode Array* (LC-PDA).
- Metode LC-PDA yang digunakan adalah **Puslab_3a** sesuai dengan metode instrumentasi LC-PDA.
- Kriteria Keberterimaan :
 - $R^2 = 0,99 \pm 0,005$.
 - Nilai RSD_{area} replika dan ulangan area ($\%RSD_{area}$) pada tiap titik linieritas $\leq 2\%$.

4. Analisis Kuantitatif

a) Analisis Kuantitatif 7-Hidroksimitraginin

- Dari larutan stok masing-masing sampel kratom dengan konsentrasi 100.000 ppm, dilakukan pengenceran bertingkat hingga diperoleh konsentrasi 15.000 ppm.
- Larutan sampel yang telah dipreparasi kemudian diinjeksikan ke LC-PDA sebanyak 3 kali ulangan mengikuti kaidah LU-IKA 24 Prosedur Pengoperasian *Liquid Chromatography-Photo Diode Array* (LC-PDA).
- Metode LC-PDA yang digunakan adalah **Puslab_3a** sesuai dengan metode instrumentasi LC-PDA (metode instrumentasi LC-PDA poin 5).
- Rekaman hasil identifikasi dituangkan dalam LogBook LC sesuai Daftar Identifikasi Logbook (LU/UP-DP 27) dan LU-FRM 20a Formulir Analisis *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Dibuat oleh:
Asisten Penata Laboratorium
Narkotika Ahli Muda
MASTER
Pusat Laboratorium Narkotika BNN

Diperiksa oleh:
Penata Laboratorium
Narkotika Ahli Muda

Disahkan oleh:
Penata Laboratorium
Narkotika Ahli Madya



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKR 17.2**

Analisis Kuantitatif 7-Hidroksimitraginin
dan Mitraginin dalam Serbuk Kratom
(*Mitragyna speciosa*)

Tgl : 29-05-2026

Ed : 03

Rev : 01

Hal : 2 dari 2

b) Analisis Kuantitatif Mitraginin

1. Dari larutan stok masing-masing sampel kratom dengan konsentrasi 100.000 ppm, dilakukan pengenceran bertingkat hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm.
2. Larutan sampel yang telah dipreparasi kemudian diinjeksikan ke LC-PDA sebanyak 3 kali ulangan mengikuti kaidah LU-IKA 24 Prosedur Pengoperasian *Liquid Chromatography-Photo Diode Array* (LC-PDA).
3. Metode LC-PDA yang digunakan adalah **Puslab_3a** sesuai dengan metode instrumentasi LC-PDA (metode instrumentasi LC-PDA poin 5 tersebut diatas).
4. Rekaman hasil identifikasi dituangkan dalam LogBook LC sesuai Daftar Identifikasi *Logbook* (LU/UP-DP 27) dan LU-FRM 20a Formulir Analisis *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

B. LITERATUR

1. Idayu NF, Hidayat MT, Moklas MA, Sharida F, Raudzah AR, Shamima AR, & Apriyani E. (2011). *Antidepressant-like effect of mitragynine isolated from Mitragyna speciosa Korth in mice model of depression*. *Phytomedicine*, 18, 402–407.1-21.
2. Izzati et al. 2021. *HPLC Method for Mitragynine and 7-Hydroxymitragynine Determination in Mitragyna speciose*. *Trans. Malaysian Soc. Plant Physiol.* 28.
3. Tanti et al. 2021. *Mitragynine Percentages of Various Kratom Variants Seized In Indonesia: A Quantitative Analysis Using Liquid Chromatography-Photo Diode Array Detector*. *International Journal of Applied Pharmaceutics*.
4. *United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC), World Drug Report 2013*, diperoleh dari <https://www.unodc.org/unodc/secured/wdr/wdr2013>, 1 Desember 2020.

C. DOKUMEN TERKAIT

1. LU-IKA 24 Prosedur Pengoperasian *Liquid Chromatography-Photo Diode Array* (LC-PDA)
2. LU-FRM 20a Formulir Analisis *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).
3. LU/UP-DP 27 Daftar Identifikasi *Logbook*