

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Batang Brotowali (*Tinospora crispa* Linn)

Isolation and Identification of Secondary Metabolites Compound of Methanol Extract of Bark of Brotowali (*Tinospora crispa* Linn)

¹⁾Musdalifa, ²⁾Ratnawaty Maming, ³⁾Iwan Dini

^{1, 2, 3)}Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Makassar, Jl. Dg Tata Raya Makassar, Makassar 90224
Email : musdalifa049@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol batang brotowali. Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap yaitu maserasi dengan menggunakan pelarut metanol, ekstraksi, fraksinasi, pemurnian, dan identifikasi. Identifikasi dilakukan meliputi uji golongan dan uji spektroskopi IR. Hasil penelitian diperoleh isolat murni berbentuk kristal berwarna putih dan memberikan hasil positif melalui uji pereaksi Wagner dan Meyer. Spektroskopi IR menunjukkan adanya beberapa gugus fungsi isolat yaitu: N–H ulur, C–N, C–H (–CH₃ dan –CH₂) alifatik, C=C ulur dan C–H aromatik. Hasil identifikasi spektrum IR menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh merupakan golongan senyawa alkaloid.

Kata kunci : Isolasi, *Tinospora crispa* Linn, Alkaloid

ABSTRACT

The purpose of this research is to isolate and identify the secondary metabolites compound from methanol extract of bark brotowali. The isolation of secondary metabolite compound include: maseration using methanol, extraction, fractionation, purification, and identification. Identification test is conducted by reagent test and IR spectroscopy. The isolated obtained in white crystal and positive to Wagner and Meyer reagent test. IR spectroscopy showed the presence of some functional groups of isoted that: N–H stretch, C–N, C–H (–CH₃ and –CH₂) aliphatic, C=C stretch and C–H aromatic. Base on those data, it is concluded that the isolate is alkaloid compounds.

Keywords: Isolation, *Tinospora crispa* Linn, Alkaloid

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara dengan kekayaan keanekaragaman hayati. Keanekaragaman tersebut merupakan sumber senyawa-senyawa organik yang tidak terbatas jumlahnya, oleh karena itu topik penelitian bahan alam juga menjadi

tidak terbatas. Khususnya sumber-sumber senyawa organik yang sebagian besar dihasilkan oleh tumbuhan tropis (Atun, 2010).

Tumbuhan tropis merupakan kelompok tumbuhan terbesar yang ada di muka bumi. Tumbuhan tropis

memiliki peranan yang sangat penting dalam kelangsungan hidup manusia karena begitu banyaknya manfaat yang dapat diberikan misalnya dalam hal kesehatan seperti obat-obatan.

Data pada tahun 2004 memperlihatkan penelitian kimiawi tumbuhan tropis yang menunjukkan bahwa hanya 0,4% tumbuhan tingkat tinggi yang sudah dilakukan. Disisi lain obat-obat modern yang diperdagangkan sampai saat ini, menunjukkan 25% diantaranya berasal dari kimiawi tumbuhan tropis, baik sebagai tumbuhan obat atau tumbuhan tingkat tinggi (Ersam, 2004). Berdasarkan hal tersebut Indonesia memiliki potensi yang sangat besar untuk pengembangan dan penemuan senyawa kimia khususnya senyawa metabolit sekunder yang menarik.

Banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari berbagai jenis tumbuhan di Indonesia. Adanya senyawa tersebut, maka tumbuhan tersebut memiliki prospek untuk dimanfaatkan dalam bidang pengobatan. Salah satu tanaman obat yang sering digunakan masyarakat untuk pengobatan tradisional adalah brotowali.

Di daerah Makassar, batang brotowali banyak digunakan untuk mengobati batuk, sakit perut dan sebagai obat dalam. Di daerah Bali, batang brotowali banyak dipakai untuk mengobati sakit perut, demam, dan penyakit kuning. Tumbuhan daunnya banyak digunakan sebagai obat gosok untuk mengobati sakit punggung dan pinggang. Di daerah Jawa, brotowali banyak digunakan untuk mengobati demam dan sebagai obat luar, seperti untuk obat luka dan

gatal-gatal. Air rebusan batangnya banyak dipakai untuk menyembuhkan gatal-gatal, koreng, dan borok-borok yang sulit disembuhkan atau penyakit ganreng, serta untuk mengobati penyakit gula atau kencing manis atau diabetes mellitus (Kresnady, 2003). Brotowali juga digunakan sebagai ramuan kecil oleh masyarakat yang memiliki manfaat dalam rematik kronis, demam malaria dan terapi pada diabetes (Nidhi, 2013).

Brotowali dapat mengobati diabetes mellitus. Selain itu brotowali juga dapat mengobati hepatitis, merangsang kerja pernapasan, menggiatkan pertukaran zat sehingga dapat menurunkan panas, membunuh bakteri pada luka, menambah nafsu makan dan menurunkan kadar gula darah (Afifah, 2005).

Brotowali atau *Tinospora crispa* adalah salah satu jenis tumbuhan obat dari genus *Tinospora* Miers yang termasuk dalam famili Menispermaceae yang terdiri dari 70 genus dan 400 spesies (Prajogo, 1998). Salah satu genus dari famili Menispermaceae adalah genus *Stephania*. Sekitar 28 spesies dari genus *Stephania* yang telah diteliti, ternyata senyawa kimia yang dikandungnya adalah senyawa kimia golongan alkaloid (Gustini, 1989).

Beberapa senyawa kimia dalam brotowali telah diidentifikasi diantaranya yaitu senyawa tinokrisposid. Ekstrak batang brotowali mengandung senyawa tinokrisposid yang terbukti mampu menekan perkembangan bakteri *Plasmodium berghei* dalam darah mencit dan memperpanjang hidup mencit yang terinfeksi. Pemberian

brotowali pada mencit terbukti dapat menurunkan tingkat parasitemia sehingga dapat digunakan sebagai antimalaria (Sawitri, 2006). Pada ekstrak kental n-heksana batang brotowali mengandung senyawa antimakan atau pestisida nabati yaitu senyawa golongan triterpenoid (Sukadana, 2007). Pada ekstrak metanol brotowali dengan uji hepatoprotektor terhadap virus hepatitis B mampu memberikan pertolongan pada perbaikan fungsi hati akibat penginduksian dengan vaksin hepatitis B. Senyawa yang aktif sebagai hepatoprotektor dalam batang brotowali adalah terpen, steroid, flavonoid, glikosida dan alkaloid (Prastiwi, 2011).

Penelitian tentang tumbuhan brotowali telah banyak dilakukan, baik dalam negeri maupun luar negeri. Senyawa-senyawa yang ditemukan pada batang, daun, akar dan bunga tumbuhan brotowali adalah sebagai potensi besar ditemukannya senyawa metabolit sekunder lain yang menarik yang bisa dijadikan obat ataupun manfaat lainnya. Terutama pada bagian batang yang diinformasikan memiliki banyak kandungan senyawa metabolit sekunder yang menarik yang belum banyak diteliti. Selain itu batang brotowali juga mudah diperoleh dibandingkan daun, akar dan bunga brotowali.

Berdasarkan uraian di atas, mengenai khasiat dan kandungan kimia brotowali maka peneliti menganggap perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak metanol batang brotowali.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat untuk preparasi sampel, ekstraksi, fraksinasi, pemurnian dan identifikasi. Alat untuk tahap preparasi sampel yaitu pisau, blender, ayakan dan baskom. Alat untuk tahap ekstraksi, fraksinasi, pemurnian dan identifikasi diantaranya: bejana maserasi, corong biasa, corong pisah, corong Buchner, labu Erlenmeyer, gelas kimia, evaporator, kolom kromatografi cair vakum (KKCV), gelas ukur, hot plate, pipet tetes, neraca analitik, oven, chamber, botol vial, pipa kapiler, batang pengaduk, kolom kromatografi tekan (KKT), lampu UV (panjang gelombang 254 nm dan 365 nm) dan spektroskop IR.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah metanol, n-heksana, etil-asetat, kloroform, aseton, aquadest, beberapa reagen seperti pereaksi Liebermann-Burchard, FeCl_3 1%, Meyer, dan Wagner. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah silika gel G 60, plat KLT aluminium berlapis silika gel G 60 F_{254} , aluminium foil, kertas saring, CeSO_4 2% dan tisu.

B. Prosedur Kerja

1. Ekstraksi

Batang brotowali yang diambil dari Desa Era Baru Kec. Tellulimpoe Kab. Sinjai Sulawesi Selatan dibersihkan dan dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari hingga kering. Batang yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Sebanyak 4,5 kg batang

brotowali yang telah halus tersebut dimaserasi dengan metanol. Maserasi dilakukan dengan metanol sebanyak 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan menggunakan evaporator hingga diperoleh ekstrak kental metanol kemudian dilakukan uji golongan dengan menggunakan berbagai pereaksi diantaranya pereaksi Liebermann-Burchard (terpenoid dan steroid), FeCl_3 (flavanoid), Meyer (alkaloid), dan Wagner (alkaloid).

2. Fraksinasi

Ekstrak kental metanol dianalisis dengan KLT dengan menggunakan berbagai macam eluen pada berbagai perbandingan untuk mengetahui jenis pelarut dan perbandingan yang sesuai pada KKC. Ekstrak kental yang terdiri dari beberapa komponen tersebut difraksinasi dengan metode KKC menggunakan silika gel G 60 (230 – 400 mesh) sebagai fasa diam, sedangkan eluennya menggunakan eluen dari hasil KLT. Eluen yang digunakan dalam KKC ditingkatkan kepolarannya secara bergradien. Hasil fraksinasi KKC selanjutnya dianalisis menggunakan KLT. Hasil fraksinasi diuji KLT dengan eluen yang sama, kemudian yang sama profil nodanya digabungkan.

Selanjutnya fraksi gabungan difraksinasi menggunakan KKT. Tujuan dari KKT adalah untuk memisahkan senyawa yang diperoleh dari fraksinasi KKC sehingga lebih murni. Fraksi-fraksi yang diperoleh dianalisis menggunakan KLT. Fraksi-fraksi yang mempunyai profil noda yang sama digabung menjadi

fraksi gabungan kemudian diuapkan hingga diperoleh padatan.

3. Pemurnian

Komponen padatan yang diperoleh dari fraksi gabungan dikristalisasi atau direkristalisasi. Kemurnian senyawa yang diperoleh ditentukan dengan melakukan KLT sistem tiga eluen dengan eluen n-heksana : etil asetat, n-heksana : kloroform, etil asetat : kloroform.

4. Identifikasi

Identifikasi melalui uji golongan dengan beberapa pereaksi yang digunakan yaitu pereaksi Liebermann-Burchard, FeCl_3 , Wagner dan Meyer untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dan identifikasi lebih lanjut dilakukan uji spektroskopi dengan menggunakan spektrofotometer inframerah untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Ekstraksi

Batang brotowali yang telah dibersihkan kemudian dipotong-potong kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar selama ± 1 bulan. Proses pengeringan tidak dilakukan dibawah sinar matahari karena panas dari sinar matahari dikhawatirkan dapat merusak senyawa metabolit sekunder yang ada pada batang brotowali.

Batang brotowali yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan ditapis untuk memperoleh serbuk yang lebih halus dengan tujuan untuk

memperluas permukaan dari batang brotowali. Serbuk halus batang brotowali sebanyak 4,5 kg dimaserasi dengan menggunakan metanol selama 3x24 jam untuk menarik senyawa metabolit sekunder yang ada pada batang brotowali dan volume total metanol yang digunakan adalah 20 liter. Proses ekstraksi dilakukan dengan maserasi, karena proses ekstraksi dengan cara maserasi mudah dilakukan dan sangat kecil kemungkinan untuk terjadi kerusakan senyawa kimia yang ada pada batang brotowali.

Maserat yang diperoleh dari proses maserasi sebanyak 13 liter. Maserat yang diperoleh kemudian disaring dengan corong Buchner dengan menggunakan kertas saring Whatman. Maserat yang telah disaring dievaporasi dengan tujuan untuk menguapkan pelarutnya (metanol) sehingga diperoleh 600 mL ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol diuapkan pelarutnya pada suhu kamar sehingga di peroleh ekstrak metanol sebanyak 84 gram.

Selanjutnya dilakukan uji golongan terhadap ekstrak kental metanol dengan menggunakan pereaksi Meyer, Liebermann-Burchard, besi (III) klorida (FeCl_3), dan Wagner untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel. Hasil dari uji golongan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Golongan Ekstrak Metanol

Pereaksi	Pengamatan	Keterangan
FeCl_3 1%	Coklat pekat → hijau pekat	(+) Flavonoid

Liebermann-Burchard	Coklat pekat → hijau kehitaman	(+) Steroid
Meyer	Coklat pekat → kuning	(+) Alkaloid
Wagner	Coklat pekat → endapan coklat	(+) Alkaloid

2. Fraksinasi

Sebanyak 8 gram ekstrak kental metanol difraksinasi dengan KKCV. Sebelum dilakukan KKCV terlebih dahulu dilakukan KLT untuk mengetahui jenis eluen yang akan digunakan pada saat KKCV. Berdasarkan hasil KLT, diperoleh bahwa eluen n-heksana : etil asetat dengan perbandingan (6:4) menunjukkan pola pemisahan noda yang baik.

Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan fasa diam berupa silika gel G 60 dan menggunakan fasa gerak berupa eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien dimulai dari n-heksana 100%, n-heksana : etil asetat sampai etil asetat 100%. Dari hasil KKCV diperoleh sebanyak 47 fraksi. Selanjutnya fraksi-fraksi diidentifikasi menggunakan KLT menggunakan eluen yang sama dengan perbandingan (6:4). Fraksi-fraksi yang memiliki profi noda yang sama digabung sehingga diperoleh fraksi gabungan sebanyak 11 fraksi.

Fraksi J dan K digabung menjadi fraksi Y karena mempunyai pola noda yang sama dan setelah kedua fraksi tersebut digabung dan diuapkan diperoleh padatan berupa kristal berwarna kuning kecoklatan dengan berat 444,2 mg. Isolat yang diperoleh kemudian difraksinasi

lebih lanjut dengan KKT. Sebelum dilakukan KKT terlebih dahulu dilakukan KLT untuk menentukan eluen yang akan digunakan pada KKT. Berdasarkan hasil KLT diperoleh bahwa eluen n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 3:7 memiliki pemisahan yang baik.

Sampel yang telah dimasukkan kedalam kolom kemudian dielusi dengan eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien dimulai dari n-heksana 100%, n-heksana : etil asetat sampai etil asetat 100%, sehingga diperoleh sebanyak 221 fraksi. Fraksi-fraksi yang diperoleh kemudian di KLT untuk melihat kesamaan profil nodanya.

Fraksi gabungan Y16 berupa padatan berbentuk kristal berwarna kuning kecoklatan dengan berat 89 mg. Fraksi tersebut di KKT lebih lanjut untuk memperoleh isolat yang murni. Fraksi gabungan Y16 dianalisis KLT untuk mendapatkan eluen yang cocok pada KKT lebih lanjut. Eluen yang menunjukkan kromatogram yang baik yaitu n-heksana : etil asetat (2:8).

Sampel yang telah dimasukkan kedalam kolom kemudian dielusi dengan eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien dimulai dari n-heksana 100%, n-heksana : etil asetat sampai etil asetat 100%, sehingga diperoleh sebanyak 160 fraksi. Fraksi-fraksi yang diperoleh kemudian di KLT untuk melihat kesamaan profil nodanya.

Fraksi-fraksi yang memiliki profil noda yang sama digabung sehingga diperoleh sebanyak 14 fraksi gabungan. Selanjutnya dilakukan KLT terhadap fraksi

gabungan yang diperoleh, dan pelarut dari masing-masing fraksi dibiarkan menguap hingga diperoleh padatan.

3. Pemurnian

Fraksi gabungan Y16₉ berupa isolat berbentuk kristal berwarna kuning dengan berat 8,1 mg. Isolat tersebut direkristalisasi untuk memisahkan isolat dari pengotornya. Proses rekristalisasi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang dapat melarutkan pengotor dari isolat yang diperoleh dan pelarut yang digunakan adalah etil asetat. Setelah dilakukan rekristalisasi diperoleh isolat murni berbentuk kristal berwarna putih dengan berat 1,3 mg.

Isolat yang diperoleh diuji kemurniannya dengan metode sistem tiga eluen. Pada metode sistem tiga eluen kemurnian isolat yang diperoleh ditandai dengan munculnya noda tunggal pada setiap plat KLT. Adapun tiga jenis eluen yang digunakan yaitu n-heksana : kloroform (1:9) dengan R_f 0,275; n-heksana : etil asetat (2:8) dengan R_f 0,3; dan etil asetat : kloroform (4:6) dengan R_f 0,7 dan hasil yang diperoleh berupa noda tunggal.

B. Pembahasan

1. Identifikasi Golongan

Isolat yang diperoleh sebelumnya diuji kelarutannya dengan menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Berdasarkan hasil identifikasi tersebut diketahui bahwa isolat yang diperoleh larut baik dalam pelarut metanol, larut dalam pelarut etil asetat, tidak larut dalam pelarut n-heksana. Berdasarkan hasil uji

kelarutannya diketahui bahwa isolat yang diperoleh bersifat polar. Isolat murni yang diperoleh diidentifikasi lebih lanjut dengan uji golongan dan menggunakan spektroskopi IR. Uji golongan dilakukan dengan menggunakan pereaksi Wagner, Meyer, FeCl_3 1%, dan Liebermann-Burchard. Hasil uji golongan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Golongan Ekstrak Isolat Murni

Pereaksi	Pengamatan	Keterangan
FeCl_3 1%	Bening → kuning	(-) Flavonoid
Liebermann-Burchard	Bening → bening	(-) Steroid
Meyer	Bening → endapan putih	(+) Alkaloid
Wagner	Bening → endapan coklat	(+) Alkaloid

Hasil uji golongan yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat murni merupakan senyawa golongan alkaloid. Hal ini ditunjukkan dengan reaksi positif antara isolat murni dengan pereaksi Meyer dan Wagner yang ditandai dengan perubahan dari bening menjadi endapan putih dan endapan coklat.

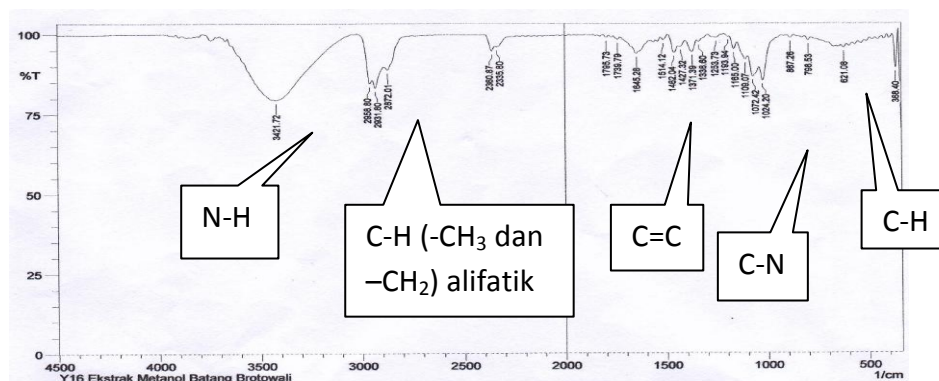
2. Identifikasi IR

Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan menggunakan spektroskopi IR Shimadzu Prestige-21 yang bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi dari senyawa yang diperoleh. Serapan-serapan bilangan gelombang isolat murni dan gugus fungsinya dapat dilihat pada Tabel 3 dan ditunjukkan pada Gambar 1.

Tabel 3. Serapan IR isolat murni ekstrak metanol batang brotowali

Bilangan Gelombang (cm^{-1}) Brotowali Fraksi Y16	Pita serapan (cm^{-1}) FTIR	Gugus Fungsi	Intensitas
3421,72	3550-3250*	N-H ulur	Sedang
2872,01; 2931,8	2990-2850*	C-H ($-\text{CH}_3$ dan $-\text{CH}_2$) alifatik	Sedang
1645,28	1680-1620*	C=C ulur	Lemah
1024,2; 1072,42; 1109,07	1250-1020**	C-N	Lemah
798,53	1000-650**	C-H aromatik	Lemah

Sumber: *Mohrig (2006) **Tengo (2013).



Gambar 1. Spektrum Infra Merah Isolat F

Daerah serapan dari spektrum IR menunjukkan adanya beberapa gugus fungsi. Serapan dengan intensitas sedang dan lebar pada bilangan gelombang $3421,72\text{ cm}^{-1}$ yang diidentifikasi adanya gugus N-H ulur. Hal ini didukung dengan adanya serapan pada bilangan gelombang $1024,20\text{ cm}^{-1}$; $1072,42\text{ cm}^{-1}$ dan $1109,07\text{ cm}^{-1}$ yang diidentifikasi adanya gugus C-N. Serapan dengan intensitas sedang hingga lemah dan tajam pada bilangan gelombang $2872,01\text{ cm}^{-1}$ dan $2931,8\text{ cm}^{-1}$ diidentifikasi adanya gugus C-H ($-\text{CH}_3$ dan $-\text{CH}_2$) alifatik. Serapan dengan intensitas lemah pada bilangan gelombang $1645,28\text{ cm}^{-1}$ yang diidentifikasi adanya gugus C=C ulur. Serapan dengan intensitas lemah nampak pada bilangan gelombang $798,53\text{ cm}^{-1}$ diidentifikasi adanya gugus C-H aromatik.

Berdasarkan data spektrum IR dan uji golongan diketahui bahwa isolat fraksi Y16₉ ekstrak metanol batang brotowali adalah golongan senyawa alkaloid.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa senyawa metabolit

sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol batang brotowali adalah golongan alkaloid, flavonoid dan steroid. Fraksinasi dan pemurnian ekstrak metanol di peroleh isolat murni, berdasarkan uji golongan dengan pereaksi Wagner dan Meyer yang menunjukkan positif senyawa golongan alkaloid dan interpretasi data IR menunjukkan adanya gugus N-H ulur, C-N, C-H ($-\text{CH}_3$ dan $-\text{CH}_2$) alifatik, C=C ulur dan C-H aromatik.

B. Saran

Hal-hal yang disarankan berkaitan dengan penyempurnaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Melanjutkan identifikasi terhadap struktur senyawa yang diperoleh dengan menggunakan NMR atau GCMS untuk memastikan struktur senyawa yang sebenarnya.
2. Melakukan uji bioaktivitas terhadap isolat yang diperoleh untuk mengetahui kemampuan dari isolat tersebut.
3. Melakukan uji golongan terhadap fraksi akhir yang di peroleh, selain dari pada fraksi yang di uji pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, Efi. 2005. *Tanaman Obat untuk Mengatasi Hepatitis*. Tangerang : PT Agro Media Pustaka.
- Atun, Sri. 2010. *Pemanfaatan Bahan Alam Bumi Indonesia Menuju Riset yang Berkualitas Internasional*. Kimia Bahan Alam, FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Ersam, Taslim. 2004. *Keunggulan Biodiversitas Hutan Tropika Indonesia dalam Merekayasa Model Molekul Alami*. Artikel Seminar Nasional Kimia VI, Jurusan Kimia FMIPA ITS.
- Gustini, SY. 1989. *Alkaloid dari Stephania Corymbosa Bl (Menispermaceae)*. Perpustakaan Digital ITB. <http://digilib.itb.ac.id>. Di akses pada tanggal 6 juni 2014.
- Kresnady, Budi. 2003. *Khasiat dan Manfaat Brotowali*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Nidhi, Patel. 2013. *Indian Tinospora Species*. International Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (IJPBCS), (Vol. 9 No. 2).
- Prajogo, Bambang. 1998. *Studi Taksonomi Brotowali (Tinospora crispa L. Miers Ex Hook F. & Thoms)*. Jurnal Warta Tumbuhan Obat Indonesia (Vol. 4 No. 2).
- Prastiwi, Rini. 2011. *Efek Hepatoprotektor Brotowali (Tinospora cordifolia Miers) terhadap Virus Hepatitis B*. Jurnal Ilmiah Biologi Dan Kesehatan.
- Sawitri, Retno. 2006. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Batang Tinospora crispa Dibandingkan dengan Klorokuin terhadap Tingkat Parasitemia Mencit Swiss yang Diinfeksi Plasmodium Berghei*. Artikel Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Sukadana, I. M. 2007. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antimakan dari Batang Tumbuhan Brotowali (Tinospora tuberculata Beumee)*. Jurnal Jurusan kimia FMIPA Universitas Udayana.