

## EFEK ANTIHIPERURISEMIA FRAKSI KLOOROFORM DAN FRAKSI ETIL ASETAT BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa*) PADA MODEL MENCIT HIPERURISEMIA

### *Antihyperuricemic Effect of Chloroform and Ethyl Acetate Fractions of Tinospora crispa Stem in Hyperuricemia Mice Model*

Harwoko<sup>1\*</sup>, Esti Dyah Utami<sup>1</sup>, Warsinah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto 53123,  
Indonesia

\*e-mail: harwoko@unsoed.ac.id

#### ABSTRACT

*Tinospora crispa* is traditionally used to treat gout, rheumatoid arthritis, and internal inflammation. Brotowali, a local name of *T. crispa*, is reported to exhibit antioxidant, antinociceptive, and antiinflammatory activities. In our previous study, the ethanolic extract and n-hexane insoluble fraction of *T. crispa* stem which contain high flavonoid, revealed an equal antihyperuricemic effect compared to allopurinol. This study aimed to assess antihyperuricemic effect of chloroform and ethyl acetate fractions from *T. crispa* stem in an acute hyperuricemic mice model induced by potassium oxonate. The stem of *T. crispa* was extracted with 70% ethanol, then the extract was sequentially partitioned with n-hexane, chloroform, and ethyl acetate. Phytochemical analysis was performed by thin layer chromatography. Serum uric acid level was determined by enzymatic-colorimetric method using spectrophotometer. In this study, flavonoids were neither detected in chloroform fraction, were they present in ethyl acetate fraction. Treatment of hyperuricemic mice with chloroform and ethyl acetate fraction at dose 100 mg/kg showed the in vivo uric acid-lowering effects by 39% and 52%, respectively. In summary, chloroform and ethyl acetate fractions of *T. crispa* stem may have a potency for treating hyperuricemia.

**Keywords:** Antihyperuricemic, brotowali, flavonoids, gout, *Tinospora crispa*.

#### ABSTRAK

Brotowali (*Tinospora crispa*) secara tradisional dimanfaatkan untuk mengobati penyakit *gout*, artritis rheumatoid, dan peradangan internal. Studi bioaktivitas dari batang brotowali menunjukkan efek antioksidan, antinosiseptif, dan antiinflamasi. Studi kami sebelumnya telah melaporkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi tidak larut n-heksana batang brotowali yang memiliki kandungan flavonoid yang tinggi, menunjukkan efek antihiperurisemia yang sebanding dengan allopurinol. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek antihiperurisemia fraksi kloroform dan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol batang brotowali pada mencit model hiperurisemia akut yang diinduksi potasium oksonat. Batang brotowali diekstraksi dengan etanol 70%, kemudian dipartisi secara berurutan dengan n-heksana, kloroform, dan etil asetat. Analisis fitokimia dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, sedangkan kadar asam urat serum diukur dengan metode enzimatis-kolorimetri. Pada studi ini, flavonoid tidak terdeteksi dalam fraksi kloroform (FKTS), namun ditemukan lebih dominan dalam fraksi etil asetat (FETS). Perlakuan FKTS dan FETS masing-masing pada dosis 100 mg/kg menunjukkan persentase penurunan kadar asam urat secara *in vivo* berturut-turut sebesar 39% dan 52%. Dengan demikian, fraksi kloroform dan etil asetat batang brotowali berpotensi digunakan dalam pengobatan hiperurisemia.

**Kata Kunci:** Antihiperurisemia, brotowali, flavonoid, *gout*, *Tinospora crispa*.

Received : 14-08-2021  
Revised : 10-01-2022  
Accepted : 10-11-2022  
Publish : 27-12-2022

## PENDAHULUAN

*Gout* merupakan peradangan sendi yang paling umum terjadi di seluruh dunia, prevalensinya pada pria lebih tinggi daripada wanita (Singh & Gaffo, 2020). Prevalensi radang sendi di Indonesia dilaporkan pada kisaran 15,5–18,9%, bahkan menduduki peringkat kedua setelah hipertensi (Balitbangkes, 2018). Patogenesis *gout* terkait erat dengan kondisi hiperurisemia yang juga berhubungan dengan peningkatan risiko hipertensi, gangguan kardiovaskular, penyakit ginjal, dan sindrom metabolik. Manajemen terapi hiperurisemia jangka panjang saat ini menggunakan agen urikostatik dan urikosurik. Obat urikostatik misalnya allopurinol paling banyak diresepkan, yang dapat mengurangi produksi asam urat melalui penghambatan kompetitif xantin oksidase. Sementara itu, agen urikosurik seperti probenesid dan *sulphinpyrazone* dapat meningkatkan ekskresi asam urat melalui urin dengan menghalangi reabsorpsi asam urat di tubulus ginjal (Stamp, 2014). Sayangnya, agen penurun asam urat memiliki keterbatasan dalam efikasi dan keamanan disebabkan oleh adanya efek samping, interaksi obat, dan *outcome* klinis yang kurang memuaskan (Becker *et al.*, 2005). Menurut konsensus terkini, obat-obat tersebut bahkan tidak direkomendasikan pada kondisi hiperurisemia dengan komorbid, seperti hipertensi, gangguan ginjal, sindrom metabolik, atau diabetes (Johnson *et al.*, 2018).

*Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook.f.Thoms yang termasuk dalam familia *Menispermaceae* tersebar luas di benua Asia termasuk Filipina, India, Indonesia, Malaysia, Thailand, dan Vietnam. Tanaman yang dikenal dengan nama lokal brotowali ini dimanfaatkan batangnya sebagai komponen jamu, obat tradisional di Thailand, dan diaplikasikan dalam Ayurveda di India untuk mengobati rematik dan *gout* (Ahmad *et al.*, 2016). Metabolit sekunder yang terkandung dalam brotowali, antara lain alkaloid (*aporphine*, *furonoquinolone*, protoberberin), glikosida (pikoretosid, tinokrisposid, tinosporin), terpenoid, steroid, dan flavonoid (Ahmad *et al.*, 2016; Yusoff *et al.*, 2014). Ekstrak etanol brotowali dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi, antinosiseptif, dan antioksidan (Singh & Gaffo, 2020; Sulaiman *et al.*, 2008; Warsinah *et al.*, 2020).

Salah satu golongan senyawa yang potensial dalam menghambat enzim xantin oksidase ialah flavonoid seperti dilaporkan pada tanaman kacang-kacangan (Spanou *et al.*, 2012). Sebagai contoh, kuersetin, puerarin, mirisetin, morin, dan kaempferol dilaporkan sebagai inhibitor xantin oksidase yang poten dan mampu menurunkan kadar asam urat secara *in vivo* (Mo *et al.*, 2007). Dalam skrining bioaktivitas tanaman obat yang potensial sebagai agen antihiperurisemia, ditemukan bahwa ekstrak etanol batang brotowali memiliki kandungan flavonoid yang tinggi, diantaranya glikosida flavonol (Harwoko & Choironi, 2016; Warsinah *et al.*, 2020). Hasil investigasi kami sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi tidak larut n-heksana batang brotowali berpotensi sebagai antihiperurisemia (Harwoko & Warsinah, 2020). Namun demikian, kajian terhadap fraksi-fraksi lain dari ekstrak etanol batang brotowali yang berpotensi sebagai antihiperurisemia belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek antihiperurisemia dari fraksi kloroform dan fraksi etil asetat batang brotowali pada model hewan hiperurisemia guna memperkaya bukti-bukti ilmiah tentang khasiatnya dalam pengobatan *gout*.

## METODE

### Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tabung maserator, corong pisah, *rotary evaporator*, penangas air, *blender*, *oven*, timbangan analitik, pelat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub>, *chamber*, pipa kapiler, pipet ukur, mikrohematokrit, spektrofotometer *Vitalab Micro*, *vortex*, pinset, gunting

steril, sonde oral, jarum suntik, tabung sentrifus, sentrifugator, mikropipet, *yellow tip*, dan alat-alat gelas.

### **Bahan penelitian**

Tanaman brotowali dikoleksi dari Kelurahan Sumampir, Purwokerto Utara, Banyumas dan dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman (UNSOED) dengan surat keterangan nomor 657/FB.Unsoed/Taks.Tumb/IV/2014. Batang brotowali dipotong-potong dan ditimbang, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari langsung selama 3 hari dan dilanjutkan dengan oven pada suhu 70°C selama hampir 3x24 jam, Simplisia yang telah kering kemudian ditimbang kembali dan dipulverisasi menjadi serbuk simplisia.

Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain etanol 70%, n-heksana, kloroform, etil asetat, metanol, n-butanol, asam asetat glasial, amonia, akuades, potasium oksonat (*Aldrich Chemical Company*), Na-CMC (*Natrium-Carboxymethyle Cellulose*), allopurinol, rutin dan kuersetin (*Sigma, USA*), silika gel 60 F<sub>254</sub> (*E. Merck*), reagen kit *uric acid* FS\*TBHBA (*2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid*) (*DyaSys*), serta pereaksi Dragendorff dan sitroborat.

### **Hewan uji**

Penelitian ini menggunakan mencit jantan galur Balb/C yang berumur 3–4 bulan dengan kisaran bobot 20–50 g. Hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu di laboratorium selama satu minggu, dipelihara dengan mengikuti protokol penanganan hewan percobaan (*National Research Council, 2011*) dan diberikan perlakuan sesuai dengan protokol uji *in vivo* yang telah mendapatkan persetujuan etik nomor 082/KEPK/IV/2014 dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan UNSOED.

### **Pembuatan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol batang brotowali**

Simplisia batang brotowali (2,1 kg) dipulverisasi menjadi serbuk simplisia (1,95 kg). Sebanyak 1 kg serbuk simplisia dimaserasi menggunakan etanol 70% dengan rasio 1:5 selama 24 jam, kemudian disaring. Residu diremaserasi dengan pelarut yang sama (1:5) selama 2x24 jam. Kemudian diuapkan pelarutnya sampai diperoleh 193,4 gram ekstrak etanol kental batang brotowali (EETS) yang berwarna coklat, berbau khas, dan berasa pahit. Ekstrak etanol batang brotowali ditambah etanol, kemudian difraksinasi bertingkat menggunakan corong pisah dengan 100 mL n-heksana, dikocok secukupnya. Setelah itu dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan dan diambil fraksi yang tidak larut n-heksana (residu) (Harwoko & Warsinah, 2020). Residu difraksinasi kembali dengan 100 mL kloroform seperti perlakuan sebelumnya hingga diperoleh fraksi kloroform (FKTS) dan residu. Residu kemudian difraksinasi dengan etil asetat hingga diperoleh fraksi etil asetat (FETS). Selanjutnya ketiga fraksi yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dipisahkan di atas penangas air (Irianti *et al.*, 2015).

### **Analisis kromatografi lapis tipis**

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dan alkaloid pada fraksi-fraksi (FKTS dan FETS) menggunakan fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub>. Fase gerak n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5) digunakan untuk mendeteksi keberadaan flavonoid dengan pereaksi penampak bercak sitroborat atau amonia, sebagai pembanding digunakan rutin dan kuersetin (Harborne, 1998). Fase gerak kloroform : metanol (9:1) digunakan untuk mendeteksi keberadaan alkaloid dengan pereaksi penampak bercak Dragendorff (Wagner & Bladt, 1996). Sebelum dan setelah disemprot atau diuapi dengan larutan

pereaksi, bercak diamati di bawah sinar tampak dan sinar ultraviolet (UV) pada panjang gelombang 254 dan 366 nm, kemudian dihitung nilai hRf ( $100 \times \text{Retardation factor}$ ).

### Uji aktivitas antihiperurisemia

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap, dimana 36 ekor mencit Balb/C dibagi menjadi 9 kelompok perlakuan, masing-masing terdiri dari 4 ekor menurut perhitungan rumus Federer (Stevani, 2016).

- Kelompok I : kontrol normal, tidak diinduksi potasium oksonat dan hanya diberikan Na-CMC 0,5% per oral
- Kelompok II : kontrol hiperurisemia, diinduksi potasium oksonat namun tidak diberikan sediaan uji
- Kelompok III : kontrol positif, diinduksi potasium oksonat dan diberikan allopurinol dosis 10 mg/kg per oral
- Kelompok IV-VI : diinduksi potasium oksonat dan diberi perlakuan fraksi kloroform dosis 50, 100, dan 200 mg/kg per oral
- Kelompok VII-IX : diinduksi potasium oksonat dan diberi perlakuan fraksi etil asetat dosis 50, 100, dan 300 mg/kg per oral

Kelompok II-IX merupakan hewan model hiperurisemia akut yang dibuat dengan cara menginjeksi mencit secara intraperitoneal dengan potasium oksonat dosis 250 mg/kg. Sediaan uji diberikan 1 jam sebelum diinduksi potasium oksonat dan pengambilan darah dilakukan melalui *sinus orbitalis* 2 jam setelah induksi. Selanjutnya, darah disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk diambil serumnya. Kadar asam urat serum ditetapkan dengan metode enzimatis-kolorimetri menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 20  $\mu\text{L}$  serum ditambahkan 1000  $\mu\text{L}$  reagen 1, divortex, didiamkan 5 menit, kemudian ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  reagen 2. Serum yang telah dicampur homogen dengan pereaksi *uric acid* FS\*TBHBA diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, larutan sampel, standar, dan blanko dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm (Harwoko & Warsinah, 2020).

### Analisis data

Analisis data dilakukan secara deskriptif evaluatif terhadap profil KLT. Kadar asam urat serum dianalisis dengan menentukan persentase penurunan kadar asam urat menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Penurunan kadar asam urat} = \frac{\text{rerata kontrol hiperurisemia} - \text{kelompok perlakuan}}{\text{rerata kontrol hiperurisemia} - \text{kontrol normal}} \times 100\%$$

Data-data berupa kadar asam urat dan persentase penurunan disajikan sebagai rata-rata  $\pm$  standar error ( $\bar{x} \pm \text{SE}$ ), kemudian dianalisis secara statistik dengan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui distribusi data. Bila data terdistribusi normal, diuji dengan analisis varian (ANAVA) satu jalan dan dilanjutkan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf signifikansi 5% ( $\alpha=0,05$ ).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

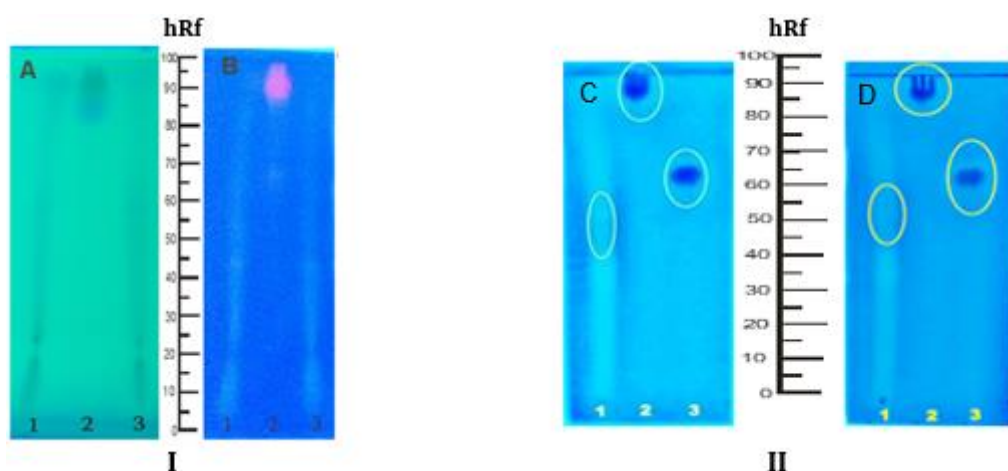
Ekstrak etanol batang brotowali difraksinasi secara bertingkat dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dimulai dari pelarut nonpolar hingga polar (n-heksan, kloroform, dan etil asetat) dengan rendemen yang diperoleh tersaji pada Tabel 1. Pelarut n-heksana digunakan untuk membersihkan ekstrak kasar dari pengotor seperti lipid, klorofil, dan

resin (Irianti *et al.*, 2012). Fraksi tidak larut n-heksana kemudian dipartisi cair-cair dengan kloroform dan dilanjutkan dengan etil asetat untuk memisahkan senyawa semipolar dari ekstrak kasar (Irianti *et al.*, 2015).

Tabel 1. Hasil ekstraksi dan fraksinasi batang brotowali

No.	Bahan	Bobot (g)	Rendemen (%)
1	Serbuk simplisia	1.000	49,7
2	Ekstrak etanol 70%	193,4	19,3
3	Fraksi tidak larut n-heksan	101,3	52,4
4	Fraksi kloroform	9,3	9,2
5	Fraksi etil asetat	0,07	0,8

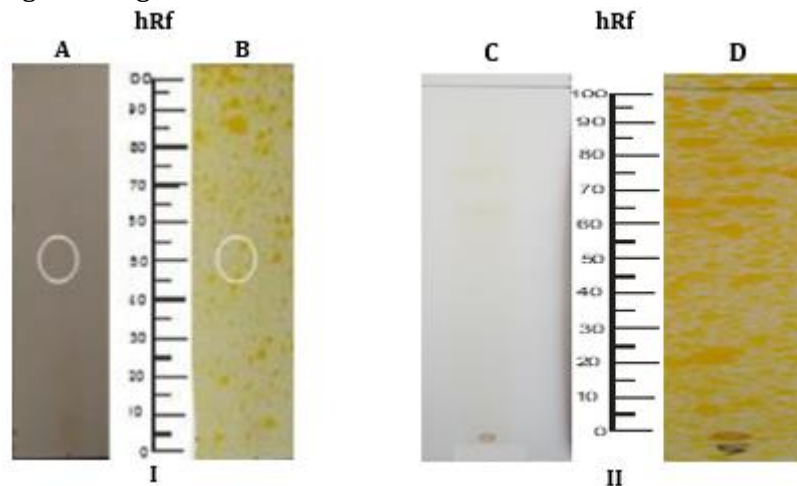
Alkaloid dan flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam batang brotowali (Ahmad *et al.*, 2016; Yusoff *et al.*, 2014). Berdasarkan profil KLT, fraksi kloroform tidak menunjukkan bercak berwarna hijau kuning yang cukup jelas setelah diuapi amonia ataupun disemprot dengan pereaksi sitroborat (Gambar 1-I). Sebaliknya, fraksi etil asetat terjadi peredaman pada sinar UV<sub>254</sub> dan terlihat bercak berwarna kekuningan pada sinar UV<sub>366</sub>, setelah disemprot dengan sitroborat warna bercak terlihat lebih terang (Gambar 1-II). Perbandingan nilai hRf dan warna fluoresensi bercak antara fraksi etil asetat dan standar menunjukkan kemiripan dengan rutin. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa fraksi etil asetat mengandung glikosida flavonoid, diantaranya rutin (Amom *et al.*, 2009). Pada penelitian ini dibuktikan bahwa kandungan flavonoid lebih dominan ditemukan pada fraksi etil asetat dibandingkan dengan fraksi kloroform. Berdasarkan penelitian kami sebelumnya dilaporkan bahwa fraksi tidak larut n-heksan memiliki kadar flavonoid total jauh lebih besar dibandingkan kadar alkaloid totalnya (Harwoko & Warsinah, 2020). Bahkan ekstrak etanol mengandung flavonoid total yang hampir sama dengan fraksi tidak larut n-heksan (Harwoko & Choironi, 2016).



Gambar 1. Profil KLT fraksi kloroform (I) dan fraksi etil asetat (II) batang brotowali dibandingkan dengan kuersetin (2) dan rutin (3) di bawah sinar UV<sub>254</sub> (A, C) dan UV<sub>366</sub> (B, D). Keterangan: fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub>, fase gerak BAA (4:1:5, lapisan atas), sebelum (A, C) dan setelah (B, D) disemprot pereaksi sitroborat.

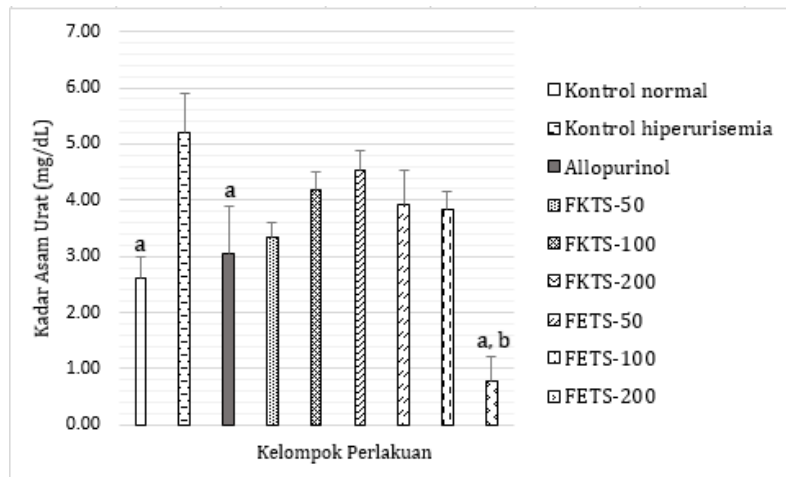
Profil KLT fraksi kloroform memberikan bercak berwarna oranye di bawah sinar tampak setelah disemprot pereaksi Dragendorff (Gambar 2-I). Hal ini mengindikasikan bahwa fraksi kloroform batang brotowali mengandung alkaloid, seperti dilaporkan bahwa senyawa alkaloid dan zat pahit pikoretin dapat tersari dalam kloroform (Harborne, 1998; Widyaningsih *et al.*,

2009). Profil KLT fraksi etil asetat (Gambar 2-II) di bawah sinar tampak terlihat bercak berwarna oranye lebih merata setelah disemprot pereaksi Dragendroff yang menandakan masih adanya alkaloid pada fraksi etil asetat (Harborne, 1998). Pelarut etil asetat dilaporkan dapat menarik golongan metabolit seperti glikosida, flavonoid, dan alkaloid (Koay & Amir, 2013). Berdasarkan analisis KLT diketahui bahwa kandungan alkaloid lebih dominan ditemukan dalam fraksi kloroform dibandingkan dengan fraksi etil asetat.



Gambar 2. Profil KLT fraksi kloroform (I) dan fraksi etil asetat (II) batang brotowali di bawah sinar tampak. Fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub>, fase gerak kloroform : metanol (9:1), pengamatan sebelum (A, C) dan setelah (B, D) disemprot pereaksi Dragendorff.

Efek antihiperurisemia dari fraksi kloroform dan fraksi etil asetat batang brotowali diuji secara *in vivo* pada model mencit hiperurisemia akut. Kelompok kontrol normal memiliki rerata kadar asam urat sebesar 2,62 mg/dL, sementara pada kontrol hiperurisemia rerata kadar asam urat mencapai 5,2 mg/dL. Hal ini menandakan bahwa pemberian potasium oksonat 250 mg/kg pada kelompok kontrol hiperurisemia dapat menyebabkan mencit mengalami kondisi hiperurisemia akut. Mekanisme potasium oksonat sebagai induktor hiperurisemia terjadi melalui penghambatan kompetitif terhadap enzim urikase yang dimiliki oleh rodensia seperti mencit dan tikus. Enzim urikase dapat memecah asam urat menjadi alantoin yang larut dalam air dan mudah diekskresikan. Potasium oksonat berfungsi mencegah perubahan asam urat menjadi alantoin sehingga terjadi akumulasi asam urat dalam darah yang memicu kondisi hiperurisemia (Stavric & Nera, 1978). Mencit dinyatakan mengalami kondisi hiperurisemia bilamana kadar asam urat melampaui 3,3 mg/dL (Mo *et al.*, 2007). Menariknya, kadar asam urat pada kelompok perlakuan FKTS 50 mg/kg, FETS 200 mg/kg, dan allopurinol menurun hingga di bawah 3,3 mg/dL seperti pada kontrol normal (Gambar 3).



Gambar 3. Kadar asam urat serum pada semua kelompok perlakuan. Keterangan: data disajikan sebagai rata-rata ± standar error ( $\bar{x} \pm SE$ ), a: berbeda nyata dengan kontrol hiperurisemia, b: berbeda nyata dengan allopurinol.

Efek penurunan kadar asam urat yang ditunjukkan oleh kedua fraksi masih fluktuatif, terutama pada FKTS yang cenderung menurun. Sebaliknya pada FETS menunjukkan kenaikan persentase penurunan kadar asam urat seiring dengan peningkatan dosis. Hasil ini berlawanan dengan fraksi tidak larut n-heksan yang dilaporkan memiliki efek antihiperurisemia tidak tergantung dosis (Harwoko & Warsinah, 2020). Persentase penurunan kadar asam urat serum yang terbesar ditunjukkan pada dosis yang bervariasi dari ketiga fraksi (Tabel 2). Pada dosis yang sama, efek antihiperurisemia dari fraksi tidak larut n-heksan 100 mg/kg jauh lebih besar dibandingkan dengan FKTS maupun FETS. Namun hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna dalam penurunan kadar asam urat antara fraksi kloroform 50 mg/kg dan allopurinol ( $p > 0,05$ ). Hasil yang mengejutkan ditunjukkan oleh fraksi etil asetat dosis tertinggi (200 mg/kg) dengan efek antihiperurisemia yang lebih besar dibandingkan allopurinol 10 mg/kg ( $p < 0,05$ ). Hal serupa dilaporkan oleh Putra *et al.*, (2019) bahwa ekstrak etanol daun kelor pada kisaran dosis 70–280 mg/kg menunjukkan persentase penurunan kadar asam urat yang lebih tinggi daripada allopurinol 5 mg/kg.

Tabel 2. Penurunan kadar asam urat fraksi-fraksi ekstrak etanol batang brotowali

No.	Sediaan Uji	Penurunan Kadar Asam Urat (%)		
		Dosis 50 mg/kg	Dosis 100 mg/kg	Dosis 200 mg/kg
1	Fraksi tidak larut n-heksana <sup>a</sup>	48,78 ± 5,18	78,06 ± 16,34	73,17 ± 12,02
2	Fraksi kloroform	71,40 ± 9,88	39,10 ± 12,10	26,06 ± 13,76
3	Fraksi etil asetat	49,03 ± 23,39	52,41 ± 12,44	170,17 ± 16,67 <sup>b</sup>

Keterangan: % penurunan pada allopurinol 10 mg/kg= 82,98 ± 16,34% dan ekstrak hidroalkoholik 500 mg/kg= 88,57 ± 5,76%; <sup>a</sup>data dikutip dari (Harwoko & Warsinah, 2020); <sup>b</sup>berbeda signifikan dibandingkan dengan allopurinol ( $p < 0,05$ ).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa alkaloid dalam batang brotowali menunjukkan aktivitas antioksidan, antimikroba, dan antidiabetes (Hamid *et al.*, 2015; Hazrulrizawati, 2013). Aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang ditunjukkan oleh batang brotowali diduga turut berkontribusi terhadap efek antihiperurisemia (Irianti *et al.*, 2012; Sulaiman *et al.*, 2008).

Kandungan flavonoid seperti rutin dan kuersetin pada batang brotowali dilaporkan sebelumnya berpotensi sebagai agen urikostatik dan antioksidan (Harwoko & Warsinah, 2020; Warsinah *et al.*, 2020). Rutin merupakan salah satu flavonoid terbesar yang terdapat pada batang brotowali (Amom *et al.*, 2009), terutama yang diperoleh dari fraksi etil asetat. Meskipun telah dilaporkan bahwa ekstrak kloroform dan ekstrak etil asetat batang brotowali juga mengandung kuersetin (Ibrahim *et al.*, 2011; Warsinah *et al.*, 2020). Gugus hidroksi pada flavonoid dianggap berperan penting dalam bioaktivitasnya sebagai antihiperurisemia (Mo *et al.*, 2007). Di sisi lain, polisakarida yang terkandung dalam batang *T. cordifolia* juga dilaporkan memiliki efek urikosurik dan antihiperurisemia (Shah & Shah, 2015). Hasil penelitian ini menguatkan bukti bahwa kandungan flavonoid yang tinggi dalam batang brotowali bertanggungjawab terhadap efek antihiperurisemia secara *in vivo*. Namun demikian, dapat dilakukan uji lebih lanjut secara *in vitro* untuk mengetahui bioaktivitas fraksi-fraksi yang potensial sebagai inhibitor enzim xantin oksidase.

## KESIMPULAN

Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol batang brotowali mengandung lebih banyak flavonoid dibandingkan dengan fraksi kloroform. Fraksi kloroform dan fraksi etil asetat pada dosis 100 mg/kg dapat menurunkan kadar asam urat pada model mencit hiperurisemia berturut-turut sebesar 39% dan 52%. Dengan demikian, fraksi kloroform dan fraksi etil asetat batang brotowali potensial untuk dikembangkan sebagai agen urikostatik dalam pengobatan gout.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Universitas Jenderal Soedirman atas bantuan pendanaan melalui riset institusi Unsoed (2023/UN23.10/PN/2014). Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr.phil.nat. apt. Sudarsono (Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta) dan seluruh tim riset brotowali (Ayu Wikha Noviyana, Intan Diah Pertiwi, dan Nurmaningtias Fitri Rachmawati) yang telah berkontribusi sebagai pelaksana teknis dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, W., Jantan, I., & Bukhari, S. N. A. (2016). *Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson: A review of its ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological aspects. *Frontiers in Pharmacology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00059>
- Amom, Z., Bahari, H., Isemail, S., Ismail, N. A., & Arsyad, M. S. (2009). Nutritional composition, antioxidant ability and flavonoid content of *Tinospora crispa* stem. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 3(1), 88–94.
- Balitbangkes. (2018). *Hasil Utama RISKESDAS 2018*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Becker, M. A., MacDonald, P. A., & Streit, J. (2005). Febuxostat compared with allopurinol in patients with hyperuricemia and gout. *The New England Journal of Medicine*, 353, 2450–61. [10.1056/NEJMoa050373](https://doi.org/10.1056/NEJMoa050373).
- Hamid, H. A., Yusoff, M. M., Liu, M., & Karim, M. R. (2015).  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory constituents of *Tinospora crispa*: Isolation and chemical profile confirmation by ultra-high



- performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight/mass spectrometry. *Journal of Functional Foods*, 16, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.011>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed). Chapman and Hall. London.
- Harwoko, H., & Choironi, N. A. (2016). Quality standardization of brotowali (*Tinospora crispa*) stem extract. *Majalah Obat Tradisional*, 21, 6–11.
- Harwoko, H., & Warsinah, W. (2020). Phytochemical analysis and evaluation of purified extract of *Tinospora crispa* stem for in vivo antihyperuricemic effect. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 9(1), 46. [https://doi.org/10.4103/jrptps.JRPTPS\\_45\\_19](https://doi.org/10.4103/jrptps.JRPTPS_45_19)
- Hazrulrizawati. (2013). Characterisation and biological activities of *Tinospora crispa* (Menispermaceae) extract with emphasis on alkaloids. *Dissertation*. Faculty of Industrial Sciences and Technology, University of Malaysia Pahang, Malaysia
- Ibrahim, M. J., Wan-Nor I'zzah, W. M. Z., Narimah, A. H. H., Nurul, A. Z., Siti-Nur, S. S., & Froemming, G. A. (2011). Anti-proliferative and antioxidant effects of *Tinospora crispa* (Batawali). *Biomedical Research*, 22(1), 57–62.
- Irianti, T., Puspitasari, A., Mach wiyah, L., & Rabbani, H. R. (2015). The activity of radical scavenging of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (dpph) by ethanolic extracts of mengkudu leaves (*Morinda citrifolia* L. *Majalah Obat Tradisional*, 20(3), 140–148.
- Irianti, T., Puspitasari, A., & Septiani, D. (2012). Uji aktivitas penangkapan radikal dan deteksi golongan senyawa ekstrak etanolik. terpurifikasi batang brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers). *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8(3), 172–180.
- Johnson, R. J., Bakris, G. L., Borghi, C., Chonchol, M. B., Feldman, D., Lanasa, M. A., Merriman, T. R., Moe, O. W., Mount, D. B., Sanchez Lozada, L. G., Stahl, E., Weiner, D. E., & Chertow, G. M. (2018). Hyperuricemia, acute and chronic kidney disease, hypertension, and cardiovascular disease: report of a scientific workshop organized by the national kidney foundation. *American Journal of Kidney Diseases*, 71(6), 851–865. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2017.12.009>
- Koay, C. K., & Amir, F. (2013). A review of the secondary metabolites and biological activities of *Tinospora crispa* (Menispermaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(4), 641–649. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i4.30>
- Mo, S.-F., Zhou, F., Lv, Y.-Z., Hu, Q.-H., Zhang, D.-M., & Kong, L.-D. (2007). Hypouricemic action of selected flavonoids in mice: structure-activity relationships. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(8), 1551–1556. <https://doi.org/10.1248/bpb.30.1551>
- National Research Council. (2011). *Guide for the care and use of laboratory animals* (8th ed.). The National Academies Press. Washington DC. <https://doi.org/10.17226/12910>
- Putra, B., Azizah, R. N., & Clara, A. (2019). Potensi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dalam menurunkan kadar asam urat tikus putih. *ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(2). <https://doi.org/10.24252/djps.v2i2.11273>
- Shah, P. A., & Shah, G. B. (2015). Uricosuric activity of *Tinospora cordifolia*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 10(4), 884. <https://doi.org/10.3329/bjp.v10i4.25160>
- Singh, J. A., & Gaffo, A. (2020). Gout epidemiology and comorbidities. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 50(3), S11–S16. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2020.04.008>
- Spanou, C., Veskoukis, A. S., Kerasiotti, T., Kontou, M., Angelis, A., Aligiannis, N., Skaltsounis, A.-L., & Kouretas, D. (2012). Flavonoid glycosides isolated from unique legume plant extracts as novel

- inhibitors of xanthine oxidase. *PLoS ONE*, 7(3), e32214. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032214>
- Stamp, L. K. (2014). Safety profile of anti-gout agents: An update. *Current Opinion in Rheumatology*, 26(2), 162–168. <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000031>
- Stavric, B., & Nera, E. A. (1978). Use of the uricase-inhibited rat as an animal model in toxicology. *Clinical Toxicology*, 13(1), 47–74. <https://doi.org/10.3109/15563657808988228>
- Stevani, H. (2016). *Praktikum Farmakologi*. Pusdik SDM Kesehatan, Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Sulaiman M.R, Zakaria Z. A., & Lihan, R. (2008). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Tinospora crispa* in various animal models. *International Journal of Tropical Medicine*, 3(3), 66–69.
- Wagner, H., & Bladt, S. (1995). *Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas*. Springer. New York.
- Warsinah, W., Baroroh, H. N., & Harwoko, H. (2020). Phytochemical analysis and antioxidant activity of brotowali (*Tinospora crispa* L. Mier) Stem. *Molekul*, 15(2), 73. <https://doi.org/10.20884/1.jm.2020.15.2.533>
- Widyaningsih, W., Widyarini, Y., Agustina, A., & Sofia, V. (2009). The antipiretic effect from fractination of ethanolic extract brotowali stem on male rats Wistar strain. *Media Farmasi*, 8(1), 33-38.
- Yusoff, M., Hamid, H., & Houghton, P. (2014). Anticholinesterase inhibitory activity of quaternary alkaloids from *Tinospora crispa*. *Molecules*, 19(1), 1201–1211. <https://doi.org/10.3390/molecules19011201>