

Isolasi senyawa antibakteri dari batang sembung rambat (*Mikania cordata* (Burm.fil.))

Santi Perawati*, Lia Anggresani, Ulfha Deni Swinche, Barmi Hartesi
Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu Jambi, Jambi,
Indonesia, 36132

*Email korespondensi: santiperawati@gmail.com

Accepted: 03 Juni 2020; revision: 03 Juni 2020; published: 30 Juni 2020

Abstrak

Latar Belakang: Tumbuhan sembung rambat merupakan gulma yang memiliki potensi antibakteri yang sangat besar. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan isolat metabolit sekunder dari batang sembung rambat yang mempunyai aktivitas antibakteri.

Metode: Isolasi senyawa antibakteri dari batang sembung rambat dilakukan dengan metode *separation guided by activity* dimulai dengan pembuatan simlisa, ekstraksi dengan pelarut etanol 70%, skrining fitokimia, fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC), Subfraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum (KCV), isolasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) Preparatif, dan pemurnian isolat dengan KLT 2 arah. Aktivitas antibakteri dilakukan pada hasil disetiap tahap pemisahan senyawa. Kemudian isolat yang paling baik daya antibakterinya dilanjutkan dengan karakterisasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

Hasil: Penapisan fitokimia ekstrak batang sembung rambat mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, steroid, tannin dan kuinon. Uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak, fraksi etil asetat (Mc-II), subfraksi (Mc-II-A) dan isolat (Mc-II-A₃) menunjukkan efektivitas terbesar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kesimpulan: Identifikasi isolat aktif antibakteri (Mc-II-A₃) dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Spektrum UV menunjukkan panjang gelombang 222 nm dan analisis FTIR menunjukkan adanya C=C aromatis dan C=O. sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat aktif antibakteri dari batang sembung rambat diduga senyawa *mikanolide*.

Kata kunci: antibakteri, isolasi, *Mikania cordata* (Burm.fil.)

Abstract

Background: Sembung rambat (*Mikania cordata* (Burm.fill.)) Is a weed that has a very large antibacterial potential. The purpose of this study was to obtain secondary metabolite isolates from vines that have antibacterial activity.

Method: Isolation of the antibacterial compound from the stem of *Mikania cordata* is done by the separation guided by activity method starting with the, extraction with 70% ethanol solvent, phytochemical screening, fractionation by the liquid-liquid extraction (LLC) method, subfractionation by vacuum liquid chromatography (KCV) method, isolation using Preparative thin layer chromatography (TLC), and purification of isolates with 2-way TLC. Antibacterial activity was carried out at each stage of compound separation. Then the isolates with the best antibacterial power were followed by the characterization of compounds using UV-Vis and FTIR spectrophotometers.

Results: Phytochemical screening of extracts of stems of *Mikania cordata* containing secondary metabolites of alkaloids, flavonoids, polyphenols, saponins, steroids, tannins and quinones. Antibacterial activity tests on extracts, ethyl acetate (Mc-II), subfraction (Mc-II-A) and isolate (Mc-II-A₃) showed the greatest effectiveness against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Conclusion: Identification of antibacterial active isolates (Mc-II-A₃) was carried out using UV-Vis and FTIR spectrophotometers. The UV spectrum shows a wavelength of 222 nm and FTIR analysis shows the presence of aromatic C = C and C = O. so it can be concluded that the antibacterial active isolate from the stem is seem like to be *Mikanolide*.

Key words: antibacterial, isolation, *Mikania cordata* (Burm.fil.)

PENDAHULUAN

Infeksi sering terjadi disebabkan oleh bakteri. Kejadian penyakit infeksi masih menjadi masalah dimasyarakat. Dimana infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, virus, maupun parasit. Saat ini antibiotik merupakan obat yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri. Namun antibiotik menjadi kurang efektif terhadap penyakit tertentu karena dapat menghasilkan toksisitas sebagai resistensi obat¹. Penyakit yang disebabkan oleh infeksi diantaranya yaitu diare, tipus, bisul dan meningitis. Penyakit diare merupakan salah satu kasus penyakit yang setiap tahunnya meningkat di Provinsi Jambi. Hal ini dapat dilihat dari prevalensi diare berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan Provinsi Jambi dari tahun 2013 – 2018 yakni 2,5 % menjadi 5,0 %. Ini dapat dilihat terjadinya peningkatan sebesar 50% selama 5 tahun².

Dari hasil penelitian tiga jenis tumbuhan yakni, *Mikania cordata*, *Mikania micrantha*, dan *Mikania scandens* yang memiliki sifat antibakteri signifikan adalah ekstrak *Mikania cordata* dan juga memiliki senyawa yang dapat berguna sebagai agen antimikroba spektrum luas¹. Tumbuhan sembung rambat *Mikania cordata* (Burm. fil.) termasuk ke dalam salah satu gulma yang ada di Indonesia. Masyarakat mengenal dan memanfaatkan tumbuhan sembung rambat biasa digunakan daun untuk luka, sakit perut, borok, gatal-gatal, kudis dan penyakit kulit lainnya³. Masyarakat Jambi biasa menggunakan tumbuhan sembung rambat sebagai pakan ternak sapi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat metabolit sekunder dari batang sembung rambat yang mempunyai aktivitas antibakteri.

METODE

Sampel yang digunakan adalah simplisia batang dari tanaman sembung rambat *Mikania cordata* (Burm. fil.) sebanyak 2,5 kg. Proses isolasi dimulai dengan pengestraksian simplisia

menggunakan pelarut etanol 70%⁴, fraksinasi secara ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan *n*-butanol dengan perbandingan (1:1)⁵, subfraksinasi dengan kromatografi cair vakum (KCV) dengan campuran pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan etanol menggunakan berbagai gradient perbandingan. Pemisahan isolat dengan kromatografi lapis tipis (KLT) Preparatif menggunakan plat kaca berlapis silika fluoresensi berukuran 15x15 cm, dan pemurnian isolat dengan KLT 2 arah dengan eluen arah pertama yaitu *n*-heksan : etil asetat (1:1) dan eluen arah kedua yaitu kloroform : metanol (7:3)⁶. Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan pada setiap hasil dari proses tahapan pemisahan senyawa dari ekstrak, fraksi, subfraksi, dan isolat dalam konsentrasi tinggi, sedang, dan rendah. Kontrol negatif berupa DMSO yang digunakan sebagai pelarut dari berbagai bahan uji⁷. Skrining fitokimia menggunakan beberapa reagen dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi untuk mengetahui kandungan metabolit sekundernya^{8, 9}. Sedangkan isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri yang besar dilanjutkan dengan karakterisasi senyawanya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dan FTIR¹⁰.

Tabel 1. Gradien perbandingan pelarut untuk subfraksinasi dengan KCV

<i>n</i> -heksan:etil asetat:etanol (ml)
100:0:0
80:20:0
60:40:0
40:60:0
20:80:0
0:100:0
0:80:20
0:60:40
0:40:60
0:20:80
0:0:100

HASIL

1. Rendemen ekstrak dan fraksi

Sebanyak 2,5 kg simplisia didapatkan ekstrak kental sebanyak 356,58 g. Kemudian sebanyak 300 g ekstrak kental dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol. Perolehan rendemen masing-masingnya dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil ekstraksi dan fraksinasi

Sampel	Bobot (g)	Rendemen (%)
ekstrak	356,58	14,26
Fraksi <i>n</i> -heksan	20,7	6,9
Fraksi etil asetat	9,6	3,2
Fraksi <i>n</i> -butanol	103,5	34,5
Fraksi sisa	146,9	48,96

2. Skrining Fitokimia ekstrak dan fraksi

Tabel 3. Skrining fitokimia ekstrak dan fraksi.

Golongan senyawa	Sampel				
	a	b	c	d	e
Alkaloid	+	-	+	-	-
Flavonoid	+	-	+	-	-
Polifenol	+	+	+	+	-
Tannin	+	-	+	-	-
Saponin	+	+	-	+	-
Terpenoid	-	-	-	-	-
Steroid	+	+	+	-	-
Kuionon	+	-	+	+	-

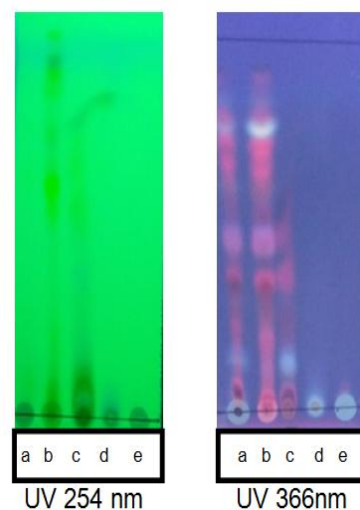
Keterangan:

+ : mengandung senyawa

- : tidak mengandung senyawa

- a : ekstrak
 b : fraksi *n*-heksan
 c : fraksi etil asetat
 d : fraksi *n*-butanol
 e : fraksi sisa

3. Pemisahan senyawa dan Aktivitas antibakteri dari ekstrak batang Sembung Rambat *Mikania cordata* (Burm. fil.)



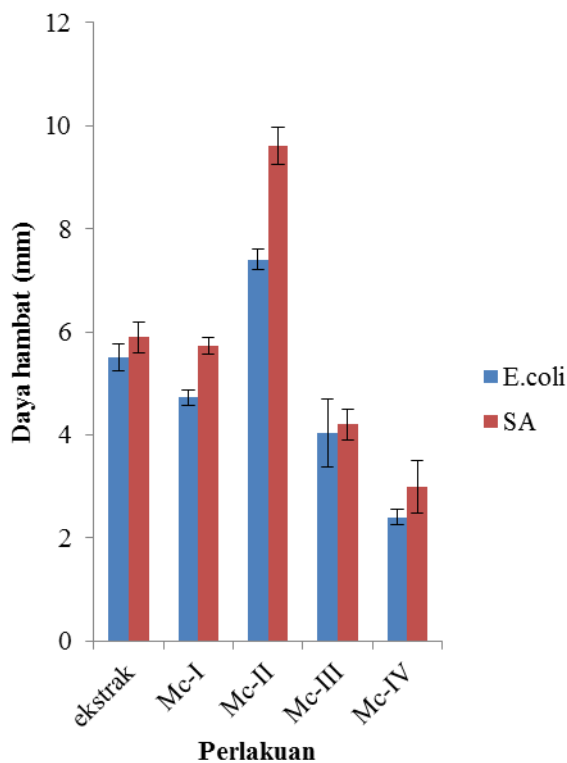
Gambar 1. KLT ekstrak dan fraksi

Keterangan:

- a : ekstrak
 b : fraksi *n*-heksan
 c : fraksi etil asetat
 d : fraksi *n*-butanol
 e : fraksi sisa

Ekstrak dan fraksi dari batang *Mikania cordata* (Burm. fil.) mengandung beberapa senyawa metabolit dapat dilihat dari bercak yang ditimbulkan pada uji KLT yang dilihat pada 2 jenis sinar UV 254 nm dan 366 nm (Gambar 1). Kemudian ekstrak dan fraksi diujikan aktivitas antibakterinya pada konsentrasi 15 % fraksi etil asetat (Mc-II) menunjukkan aktivitas daya hambat yang kuat dibandingkan ekstrak maupun fraksi yang lainnya (Gambar 2). Kemudian Mc-II dilanjutkan pemisahannya dengan KCV dihasilkan 2 subfraksi yaitu Mc-II-A dan Mc-II-B (Gambar 3) dan diujikan aktivitas antibakterinya diketahui subfraksi Mc-II-A yang paling kuat aktivitasnya (Gambar 4).

Subfraksi Mc-II-A dilanjutkan pemisahannya dengan KLT preparatif dihasilkan 7 isolat KLT (Gambar 5) sebelum diujikan aktivitas antibakterinya masing-masing isolat diuji kemurniannya dengan KLT 2 arah. Dari hasil uji aktivitas antibakteri ke 7 isolat diketahui isolat Mc-II-A₃ menunjukkan aktivitas daya hambat yang kuat dibandingkan isolat lainnya (Gambar 6). Bobot isolat Mc-II-A₃ sebesar 134,8 mg.



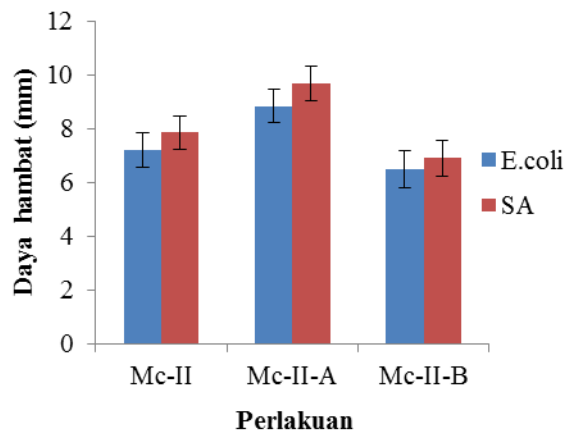
Gambar 2. Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi

Keterangan:

- Mc-I :fraksi n-heksan
- Mc-II :fraksi etil asetat
- Mc-III :fraksi n-butanol
- Mc-IV :fraksi sisa
- E.coli :bakteri *Escherichia coli*
- SA :bakteri *Staphylococcus aureus*



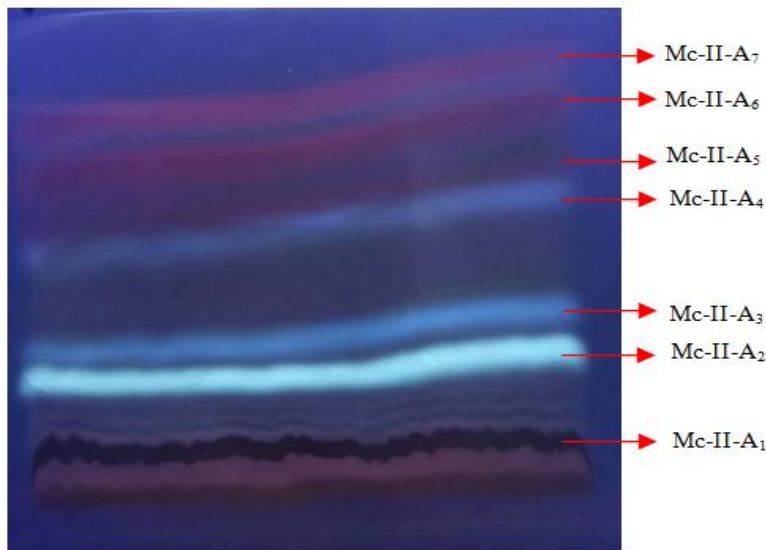
Gambar 3. KLT subfraksi hasil KCV
Keterangan:
A : subfraksi Mc-II-A
B : subfraksi Mc-II-B



Gambar 4. Aktivitas Antibakteri Subfraksi dari fraksi (Mc-II)

Keterangan:

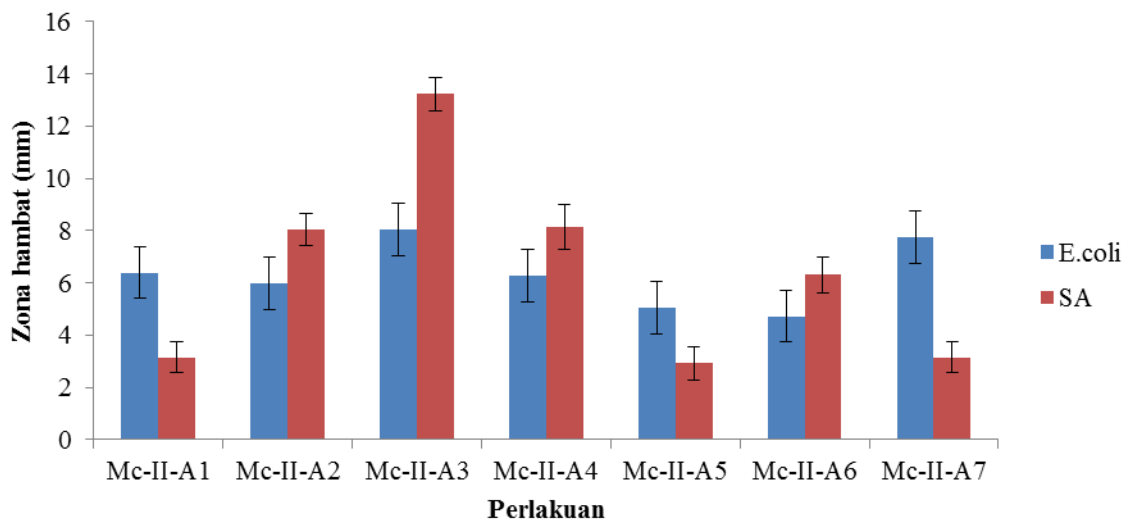
- Mc-II :fraksi etil asetat
- Mc-II-A :subfraksi hasil KCV dari fraksi etil asetat
- Mc-II-B :subfraksi hasil KCV dari fraksi etil asetat
- E.coli :bakteri *Escherichia coli*
- SA :bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 5. Isolat dari subfraksi Mc-II-A

Keterangan:

- | | | | |
|----------------------|-----------|----------------------|-----------|
| Mc-II-A ₁ | :isolat 1 | Mc-II-A ₅ | :isolat 5 |
| Mc-II-A ₂ | :isolat 2 | Mc-II-A ₆ | :isolat 6 |
| Mc-II-A ₃ | :isolat 3 | Mc-II-A ₇ | :isolat 7 |
| Mc-II-A ₄ | :isolat 4 | | |



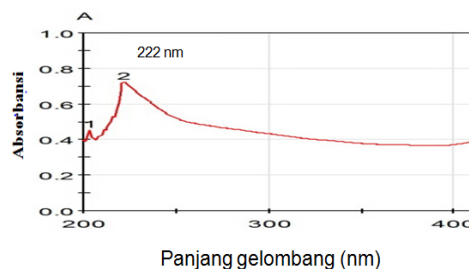
Gambar 6. Aktivitas Antibakteri isolat dari subfraksi (Mc-II-A)

Keterangan:

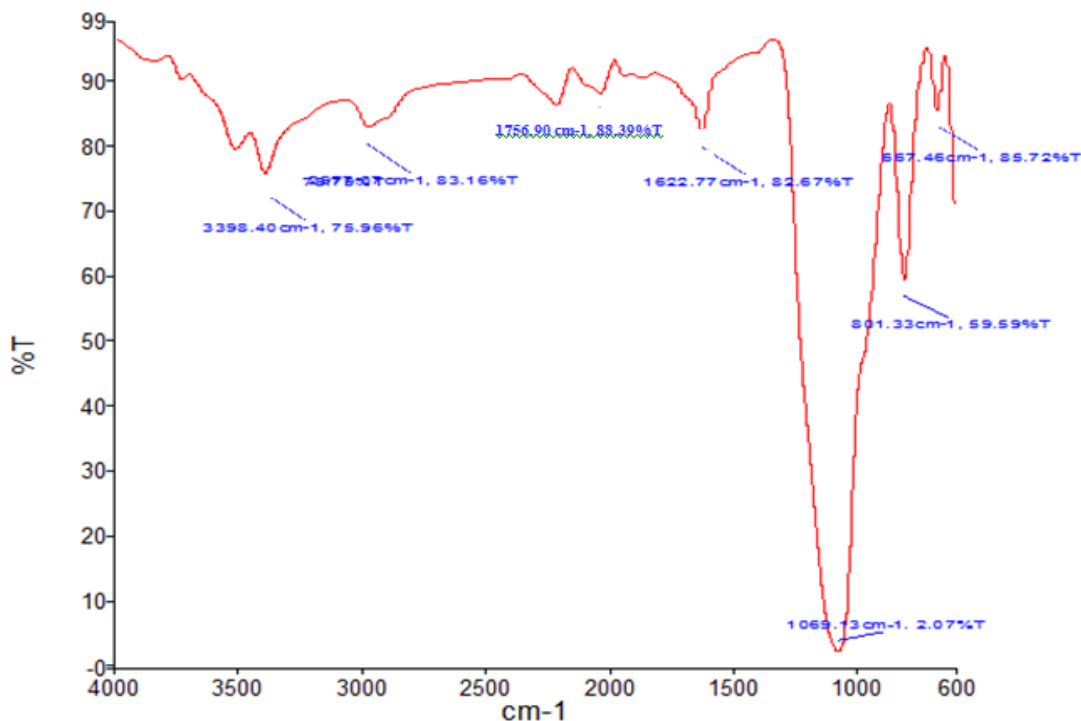
- | | |
|----------------------|---|
| Mc-II-A ₁ | :isolat 1 hasil KLT Preparatif dari subfraksi (Mc-II-A) |
| Mc-II-A ₂ | :isolat 2 hasil KLT Preparatif dari subfraksi (Mc-II-A) |
| Mc-II-A ₃ | :isolat 3 hasil KLT Preparatif dari subfraksi (Mc-II-A) |
| Mc-II-A ₄ | :isolat 4 hasil KLT Preparatif dari subfraksi (Mc-II-A) |
| Mc-II-A ₅ | :isolat 5 hasil KLT Preparatif dari subfraksi (Mc-II-A) |
| Mc-II-A ₆ | :isolat 6 hasil KLT Preparatif dari subfraksi (Mc-II-A) |
| Mc-II-A ₇ | :isolat 7 hasil KLT Preparatif dari subfraksi (Mc-II-A) |
| E.coli | :bakteri <i>Escherichia coli</i> |
| SA | :bakteri <i>Staphylococcus aureu</i> |

4. Karakterisasi isolat Mc-II-A₃ dengan UV-Vis dan FTIR

Berdasarkan hasil spektrum UV-Vis panjang gelombang maksimal isolat Mc-II-A₃ sebesar 222 nm. Analisa gugus fungsi dari spektrum FTIR didapat 7 bilangan gelombang pada Tabel 6.



Gambar 7. Spektrum Uv-Vis isolat Mc-II-A₃



Gambar 8. Spektrum FTIR isolat Mc-II-A₃

Tabel 6. Analisa gugus fungsi isolat 3 (Mc-II-A₃)

Bilangan gelombang (cm ¹)	Intensitas	Bentuk puncak	Interprestasi (11)
801,33	Kuat	Tajam	C-H aromatis
1069,13	Kuat	Tajam	C-O
1622,77	Kuat	Tajam	C=C (aromatis)
1756,90	Kuat	Tajam	C=O
2978,50	Kuat	Tajam	C-H (karbonil)
3398,40	Medium	Lebar	O-H

PEMBAHASAN

Proses ekstraksi batang sembung rambat dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Tujuan dari maserasi

yaitu dengan perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan, sehingga pada proses perendaman, sampel tumbuhan akan

mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik¹².

Serbuk simplisia batang sembung rambat direndam dengan menggunakan etanol 70% hingga menutupi semua permukaan dengan suhu 25-30°C dan dihindarkan dari cahaya matahari. Pemilihan pelarut etanol sebagai pelarut ekstraksi karena merupakan pelarut universal yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena etanol dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel simplisia sehingga proses ekstraksi lebih efisien dalam menarik komponen polar hingga semipolar dan memiliki titik didih rendah 78,37 ° C serta tidak beracun, larut dalam air dan pelarut organik¹³.

Hasil uji penapisan fitokimia memperlihatkan bahwa ekstrak batang sembung rambat mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, polifenol, tannin, saponin, steroid dan kuinon. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Nargis S. chowdhury dkk (2011) yang menyatakan bahwa ekstrak pada tumbuhan sembung rambat (*Mikania cordata* (Burm fill.)) mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tannin. Dari hasil penapisan fitokimia terhadap setiap fraksi, metabolit sekunder yang bersifat antibakteri berada pada etil asetat seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, tannin dan kuinon.

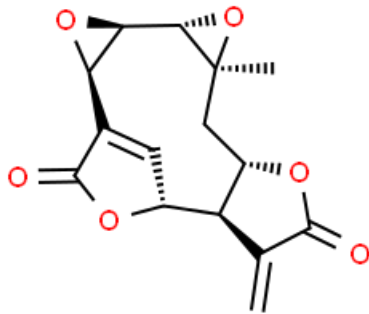
Sebelum dilakukan pengujian ekstrak etanol simplisia batang sembung rambat diidentifikasi komponennya dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan mencoba berbagai campuran pengembang untuk menghasilkan campuran pengembang yang baik. Setiap noda yang terbentuk di analisis dengan menggunakan uji penampak bercak $AlCl_3$ 5% yang digunakan untuk melihat senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid yang

ditandai dengan dihasilkannya noda berfluoresensi kuning atau biru, sedangkan H_2SO_4 10 % digunakan karena larutan ini merupakan penampak bercak yang umum digunakan untuk melihat senyawa organik yang memberikan warna merah, coklat dan merah¹⁴.

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Senyawa-senyawa yang bersifat non polar cenderung larut dalam pelarut non polar sedangkan senyawa yang bersifat polar cenderung larut dalam pelarut polar. Pelarut *n*-heksan yaitu pelarut non polar yang digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa non polar seperti minyak, karotenoid, steroid dan terpenoid. Sedangkan untuk pelarut semi polar seperti etil asetat dapat melarutkan senyawa flavonoid aglikon¹⁵.

Uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak, fraksi, subfraksi dan isolat dapat dilihat bahwa semakin kecil pemisahan yang dilakukan maka semakin besar pula aktivitas antibakteri yang terbentuk. Hal ini dikarenakan senyawa tersebut semakin spesifik terhadap aktivitas antibakteri. Berdasarkan penelitian sebelumnya terhadap isolat daun sembung rambat dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri memiliki kategori sedang dan kuat terhadap bakteri *E.coli*. dan bakteri *S.aureus*, tetapi nilai zona hambat yang terbentuk lebih besar pada batang sembung rambat dibandingkan pada daun sembung rambat⁶.

Dari hasil pengukuran panjang gelombang pada isolat batang sembung rambat didapat hasil panjang gelombang maksimum yaitu 222 nm. Studi literatur yang telah dilakukan terhadap *Mikania cordata*, khususnya bagian batang. Metabolit sekunder yang dilaporkan dari bagian batang *Mikania cordata* antara lain yaitu *deoxymikanolide*, *mikanolide*, *dhydromikanolide*, *11 β -hydroxy-13-chloromikanolide acetate*, *3 β -hydroxy-deoxy-mikanolide*, *3 β -hydroxy-deoxymikanolide*¹⁶.

Gambar 9. Struktur Mikanolide ¹⁷

Spektroskopi FTIR dipilih karena dapat mengetahui gugus fungsi suatu senyawa dengan menentukan vibrasi atom suatu molekul pada masing-masing bilangan gelombang. Pada literatur senyawa penanda *mikanolide* yaitu terletak pada pita 1767 dan 1652 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus benzen, pada pita 1630 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus C=O aldehyd ¹⁷¹⁸. Berdasarkan hasil studi literatur, dengan metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari batang *Mikania cordata* senyawa ini mempunyai kesamaan dengan senyawa *mikanolide*. Untuk memastikan isolat ini merupakan senyawa *mikanolide* maka perlunya karakterisasi senyawa lebih lanjut.

KESIMPULAN

Isolat metabolit sekunder dari batang sembung rambat mempunyai aktivitas antibakteri dengan kategori kuat untuk *S.aureus* (13.233 mm) dan kategori sedang untuk *E.coli* (8.03 mm). Aktivitas antibakteri dalam bentuk isolat lebih kuat dibanding bentuk ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Khatun, R., Nasrin, L., Roy, S., Tantry, M. A. & Abdur Rahman, M. A. Comparative antimicrobial evaluation of available *Mikania* species in Bangladesh. *Int. J. Plant Res.* **7**, 36–38 (2017).
2. Kesehatan, B. P. dan P. in *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia* 1–100 (2018). doi:1 Desember 2013
3. Tari, M. & Lely, N. Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Beberapa Fraksi Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) Terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Kulit. 49–54 (2016).
4. Mukhriani. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *J. Kesehat.* **7**, 361–367 (2014).
5. Mirwan, A. Pada Ekstraksi Cair-Cair Kolom Isian. *Konversi* **2**, 32–39 (2013).
6. Andriani, L., Perawati, S., Pratiwi, P., Sagita, D. & Yulianis. Isolation Of Antibacterial Compound From The Leaves Of *Mikania*. *JPSR* 1–6 (2018).
7. Perawati, S., Andriani, L., & Pratiwi, P. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth). *Chempublish Journal*, **3**, 40–45 (2018).
8. Zhang, Q. W., Lin, L. G. & Ye, W. C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin. Med.* 1–26 (2018). doi:10.1186/s13020-018-0177-x
9. Minarno, E. B. Skrining Fitokimia Dan Kandungan Total Flavanoid Pada Buah *Carica Pubescens* Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cagar, Dan Dataran Tinggi Dieng. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **5**, 73–82 (2015).
10. Mohammed Golam Rasul. Extraction, Isolation and Characterization of Natural Products from Medicinal Plants. *Int. J. Basic Sci. Appl. Comput.* **2**, 1–6 (2018).
11. Herz W, Subramaniam, Santhanam, H. allen I. Structure Elucidation of Sesquiterpene Dilactones from *Mikania Scandens* (L.) Wild. *J. Org. Chem.* **35**, 1453–64 (2013).

12. Nurcahyanti, P. A. H. dan H. Ekstraksi Minyak Atsiri Daun Zodia (*Evodia Suaveolens*) Dengan Metode Maserasi dan Distilasi Air. *J. Bahan Alam Terbarukan* <http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/jbat> **4**, 1–7 (2015).
13. Wati, M. & Tarigan, D. Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat pada daun berwarna merah pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) isolation and identification of secondary metabolites compounds from ethyl acetate fraction on red colored pu. *J. Kim. Mulawarman Vol. 14 Nomor 2 Mei 2017 Kim. FMIPA Unmul* (2017).
14. Lestari, P. P., Kusriani, D. & Anam, K. Anthocyanin Identification of Methanol-HCl Extract Active Fraction in Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) and Its Potential as Xanthine Oxidase Inhibitor *Jurnal Sains dan Matematika. J. Sains dan Mat.* **22**, 72–78 (2014).
15. Dwi Dinni Aulia Bakhtra, Junuary Jubahar, E. Y. Uji Aktivitas Fraksi Dari Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *J. Farm. Higea* **10**, (2018).
16. Rufatto, L. C., Gower, A. & Schwambach, J. Genus *Mikania*: chemical composition and phytotherapeutical activity. *Rev. Bras. Farmacogn. Brazilian J. of Pharmacogn.* **22**, 1384–1403 (2012).
17. Li, Y., Li, J., Li, Y., Wang, X. & Cao, A. Antimicrobial Constituents of the Leaves of *Mikania*. **8**, (2013).
18. Hemavathy, A., Shanthi, P., Sowndharya, C., S, T. S. & Priyadharshni, K. Extraction and Isolation of Bioactive Compounds from a Therapeutic Medicinal Plant - *Wrightia tinctoria* (Roxb.) R. Br. **11**, 199–204 (2019).