

VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA ETIL p-METOKSISINAMAT DALAM PLASMA DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Revika Rachmaniar, Natalia Suryanata, Nela Simanjuntak*

Program Studi Sarjana Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Jawa Barat, Indonesia.

*Penulis Korespondensi: nela12345@stfi.ac.id

ABSTRAK

Etil p-metoksisinamat (EPMS) hasil isolasi dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga L*) sedang dikembangkan di STFI. Untuk melakukan analisis EPMS secara *in vivo*, validasi analisis EPMS dalam plasma darah menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi metode analisis EPMS dalam plasma darah menggunakan KCKT. Kolom KCKT yang digunakan dalam validasi KCKT ini adalah kolom C18, dengan fase gerak metanol:asam fosfat 70:30 dan 80:20, kecepatan laju alir 1,0 mL/menit, dan panjang gelombang maksimum 310 nm. Plasma darah yang digunakan merupakan plasma darah tikus putih jantan galur Wistar. EPMS ditambahkan ke dalam plasma darah dan dianalisis menggunakan KCKT. Parameter validasi yang digunakan adalah uji kesesuaian sistem, linearitas, akurasi, presisi, *limit of detection* (LOD), dan *limit of quantification* (LOQ). Hasil penelitian menunjukkan fase gerak yang optimum untuk menganalisis EPMS di dalam plasma adalah metanol:asam fosfat dengan perbandingan 70:30. Berdasarkan hasil validasi didapatkan hasil regresi linier 0,998. Pada uji akurasi didapatkan rentang nilai rata-rata persen perolehan kembali sebesar 98% - 102%. Pada uji presisi didapatkan rentang nilai rata-rata persen *relative standard deviation* (RSD) sebesar 4,10% - 68,83%. Nilai LOD sebesar 2,747 µg/mL dan nilai LOQ sebesar 9,158 µg/mL. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa EPMS dalam plasma darah dapat dianalisis menggunakan KCKT dengan kolom C18, fase gerak metanol:asam fosfat 70:30.

Kata kunci: Validasi metode, Etil p-Metoksisinamat, Kromatografi Cair KinerjaTinggi.

ABSTRACT

Ethyl p-methoxycinnamate (EPMC) isolated from the rhizome of kencur (*Kaempferia galanga L*) is being developed at STFI. Validation of EPMC analysis in blood plasma using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) needs to be conducted to perform *in vivo* EPMC analysis. This study aims to validate the EPMC analysis method in blood plasma using HPLC. The HPLC column used is column C18, with methanol : phosphoric acid 70:30 and 80:20 mobile phases, a flow rate of 1.0 mL/min, and a maximum wavelength of 310 nm. The blood plasma used was the blood plasma of white male rats of the Wistar strain. EPMC was added to blood plasma and analyzed using HPLC. Parameter validation used is system suitability test, linearity, accuracy, precision, limit of detection (LOD), and limit of quantification (LOQ). The results showed that the optimum mobile phase for analyzing EPMS in plasma was methanol : phosphoric acid with a ratio of 70:30. Based on the validation, the linear regression was 0.998.

In the accuracy test, the average value range for the percent recovery is 98% - 102%. In the precision test, the average value of the RSD percentage was 4.10% - 68.83%. The LOD value is 2.747 g/mL, and the LOQ value is 9.158 g/mL. Based on this research, it can be concluded that EPMS in blood plasma can be analyzed using KCKT with column C18 and mobile phase methanol : phosphoric acid 70:30.

Keywords: Method validation, Ethyl p-Methoxycinnamate, High-Performance Liquid Chromatography.

PENDAHULUAN

Etil p-Metoksisinamat (EPMS) merupakan salah satu hasil isolat dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L). EPMS memiliki cincin benzen dan gugus metoksi yang bersifat non polar. EPMS juga mengandung gugus karbonil yang mengikat etil yang bersifat polar. Oleh sebab itu, EPMS dapat larut pada beberapa pelarut polar dan nonpolar (Kurniawati, 2016). Pelarut polar yang dapat melarutkan EPMS diantaranya yaitu metanol, etanol, dan air (0,0301 mg/mL) (Rachmaniar, 2020). Pelarut non polar yang dapat melarutkan EPMS yaitu etil asetat dan heksana. EPMS memiliki kelarutan rendah dalam air sehingga memiliki kelarutan dan disolusi yang rendah. Penelitian EPMS mengenai peningkatan kelarutan dan disolusi masih terbatas dan terus berkembang. Kelarutan dan disolusi yang rendah akan menghambat absorpsi dalam saluran cerna sehingga sulit mencapai saluran sistemik kemudian efek farmakologi akan lambat tercapai

(Shargel *et al*, 2012).

Kelarutan dan disolusi EPMS yang rendah ini menyebabkan terbatasnya data profil EPMS dalam sampel biologis, salah satunya adalah plasma darah. Analisis EPMS dalam plasma darah penting dilakukan karena data yang dihasilkan dapat digunakan untuk melakukan uji lebih lanjut yaitu profil bioavailabilitas dan farmakokinetika EPMS dalam plasma darah. Profil EPMS tersebut digunakan sebagai parameter untuk mempertimbangkan dosis, rute pemberian, bentuk sediaan, formulasi obat, dan efektivitas terapeutik dari EPMS (Shargel *et al*, 2012). Sebelum melakukan penelitian secara *in vivo* menggunakan plasma darah, perlu diketahui terlebih dahulu metode analisis yang dapat digunakan untuk menganalisis EPMS dalam plasma darah. Penelitian mengenai metode analisis EPMS dalam plasma darah menggunakan KCKT belum dilakukan. Metode KCKT digunakan untuk menganalisis EPMS dalam plasma

darah karena KCKT mampu memisahkan EPMS dari senyawa lain yang ada di plasma, analisisnya cepat, dan memiliki kepekaan tinggi (Susanti dkk, 2014). Validasi metode analisis pada KCKT untuk menganalisis EPMS dalam plasma penting untuk dilakukan.

Adapun kebaruan dari penelitian ini adalah metode analisis EPMS asal rimpang kencur menggunakan KCKT yang sebelumnya belum pernah dilakukan, tetapi sangat penting dilakukan untuk dapat melakukan evaluasi profil bioavailabilitas dan farmakokinetika EPMS dalam plasma darah.

METODE PENELITIAN

Penetapan Panjang Gelombang Maksimal EPMS Standar

EPMS standar ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam 100 mL metanol menggunakan labu ukur 100 mL. Larutan tersebut diukur nilai serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel. Hasil puncak yang terbentuk dianalisis untuk mendapatkan panjang gelombang maksimumnya (Kurniawati, 2016).

Penetapan Waktu Retensi EPMS Standar

EPMS standar ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dengan 100 mL metanol dalam labu ukur 100 mL. Larutan tersebut disaring menggunakan *syringe filter* 0,45 μm sebanyak 10 mL dan diinjeksikan sebanyak 50 μL pada KCKT dengan fase gerak metanol:asam fosfat 70:30, kecepatan laju alir 1,0 mL/menit, dan panjang gelombang maksimum. Hasil kromatogram yang didapatkan kemudian dianalisis untuk mendapatkan waktu retensi. Penetapan dilakukan kembali dengan menggunakan fase gerak metanol:asam fosfat 80:20 (Kurniawati, 2016).

Preparasi Plasma Tikus

Tikus sebanyak 3 ekor dipuasakan selama 24 jam. Setelah itu, tikus dilakukan pengambilan darah melalui ekor sebanyak 1 mL. Darah tikus dimasukkan ke dalam tabung litium heparin dan disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Plasma tikus ditambahkan metanol (1:1) dan dikocok menggunakan vortex selama 2 menit. Setelah itu, plasma tikus disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Hasil

sentrifugasi diambil lapisan paling atas (supernatan) (Fernando, 2020).

Validasi Metode EPMS Standar

a. Uji Kesesuaian Sistem EPMS standar

Larutan EPMS standar sebanyak 0,3 mL ditambahkan dalam plasma tikus 0,3 mL. Larutan plasma diinjeksikan sebanyak 50 μ L pada KCKT dengan fase gerak metanol:asam fosfat 70:30, kecepatan laju alir 1,0 mL/menit, dan panjang gelombang maksimum. Uji kesesuaian sistem dilakukan dengan mengukur resolusi (R_s), *tailing factor*, kapasitas kolom (K'), jumlah lempeng teoritis (N), dan nilai simpangan baku relatif (RSD) dengan pengulangan sebanyak 6 kali. Pengujian dilakukan kembali dengan menggunakan fase gerak metanol:asam fosfat 80:20 (Harahap, 2006).

b. Uji Linearitas EPMS standar

Larutan EPMS standar sebanyak 0,3 mL ditambahkan dalam plasma tikus sebanyak 0,3 mL. Larutan plasma diinjeksikan sebanyak 50 μ L pada KCKT dengan fase gerak metanol:asam fosfat 70:30, kecepatan laju alir 1,0 mL/menit, dan panjang gelombang maksimum. Uji linearitas dilakukan

dengan mengukur luas puncak kromatogram dengan pengulangan sebanyak 3 kali (Harahap, 2006).

c. Uji Akurasi EPMS standar

Larutan EPMS standar sebanyak 0,3 mL ditambahkan dalam plasma tikus 0,3 mL. Larutan plasma diinjeksikan sebanyak 50 μ L pada KCKT dengan fase gerak metanol:asam fosfat 70:30, kecepatan laju alir 1,0 mL/menit, dan panjang gelombang maksimum. Uji akurasi dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali (Harahap, 2006).

d. Uji Presisi EPMS standar

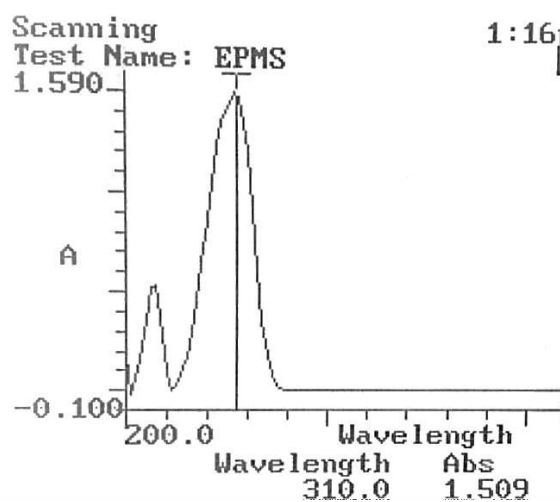
Larutan EPMS standar sebanyak 0,3 mL ditambahkan dalam plasma tikus 0,3 mL. Larutan plasma diinjeksikan sebanyak 50 μ L pada KCKT dengan fase gerak metanol:asam fosfat 70:30, kecepatan laju alir 1,0 mL/menit, dan panjang gelombang maksimum. Uji presisi dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali pada hari yang sama dan pada 3 hari yang berbeda (Harahap, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Etil p-Metoksisinamat (EPMS)

Penentuan panjang gelombang maksimum senyawa EPMS standar

menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Penggunaan spektrofotometer UV- Visibel dapat memberikan hasil analisis kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif yang didapatkan berupa panjang gelombang maksimum dan data kuantitatif yang didapatkan berupa nilai A (absorbansi). Penentuan panjang gelombang maksimum EPMS diukur pada rentang 200-400 nm, karena EPMS memiliki gugus kromofor sehingga dapat diperoleh spektrum serapannya. Panjang gelombang maksimum memiliki kepekaan yang maksimal hal ini menjadi dasar penggunaan panjang gelombang sebagai data awal penelitian. EPMS standar memiliki panjang gelombang maksimum pada 310 nm dapat dilihat pada Gambar 1. Hal ini sudah sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhang (2020).



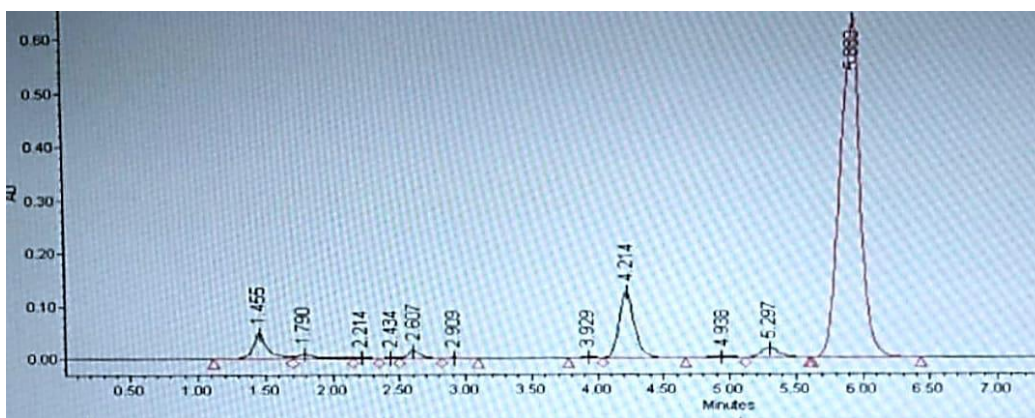
Gambar 1. Spektrum UV EPMS.

Penetapan Waktu Retensi EPMS

Waktu retensi merupakan waktu yang diperlukan sampel keluar dari kolom dan terdeteksi oleh detektor, setiap senyawa memiliki waktu retensi yang berbeda-beda karena dipengaruhi oleh laju alir dan fase gerak. Semakin rendah laju alir maka kemampuan untuk memisahkan komponen senyawa akan semakin tinggi serta menghemat penggunaan fase gerak dan waktu yang dibutuhkan untuk analisis akan semakin lama. Fase gerak yang digunakan pada penetapan waktu retensi EPMS ini adalah campuran metanol dan asam fosfat. Dasar pemilihan metanol adalah kepolaran dari fase gerak yang dapat disesuaikan. Asam fosfat digunakan pada fase gerak untuk mengurangi terbentuknya *tailing* pada puncak EPMS. Hal yang mendasari pemilihan asam fosfat daripada asam lain karena asam fosfat merupakan asam yang lebih kuat daripada asam asetat, tetapi lebih lemah dari asam sulfat dan asam klorida. Selain itu, juga terkait dengan pencucian dari kolom. Asam fosfat akan lebih mudah untuk terlarut dalam metanol saat pencucian dari kolom. Asam yang tertinggal dalam kolom dapat merusak rantai C18. Perbandingan komposisi fase

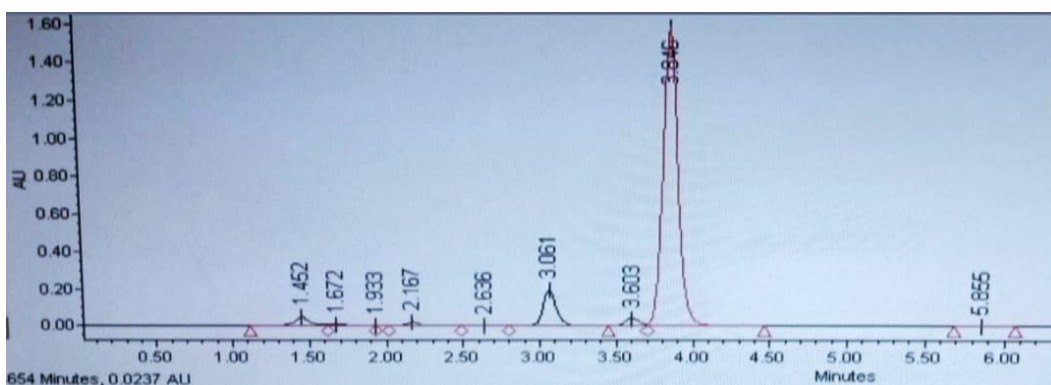
gerak yang digunakan dalam penelitian ini untuk mendapatkan hasil analisis EPMS yang optimal. Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini adalah fase gerak metanol:asam fosfat perbandingan 70:30 dan 80:20. Peningkatan jumlah

metanol dalam sistem KCKT fase terbalik dilakukan agar EPMS dapat terelusi dengan mudah. Waktu retensi EPMS standar pada perbandingan metanol:asam fosfat 70:30 adalah 5,880 menit, dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram EPMS Fase Gerak Metanol:Asam Fosfat 70:30.

Waktu retensi EPMS standar pada perbandingan metanol:asam fosfat 80:20 adalah 3,846 menit, dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram EPMS Fase Gerak Metanol:Asam Fosfat 80:20

Waktu retensi EPMS pada fase gerak metanol:asam fosfat perbandingan 80:20 lebih cepat karena memiliki jumlah metanol yang lebih banyak

dibandingkan fase gerak metanol:asam fosfat 70:30 sehingga polaritas fase geraknya meningkat. Jumlah metanol yang lebih besar dalam sistem KCKT

fase terbalik akan membuat sampel terelusi lebih mudah.

Preparasi Plasma Tikus

Tikus diaklimatisasi selama 14 hari hal ini bertujuan agar hewan uji dapat beradaptasi dengan baik. Aklimatisasi mempengaruhi hasil penelitian, hal ini akan terjadi bila hewan uji stress atau tidak mendapatkan perlakuan yang sesuai. Sebelum uji dilakukan hewan uji dipuaskan selama 24 jam, sampel yang digunakan adalah darah yang diambil dari *vena lateralis* yang berada pada bagian ekor tikus. Darah tikus ditampung dalam tabung litium heparin yang bertujuan agar tidak terjadi koagulasi pada darah yang diambil. Volume maksimal darah yang diambil dari hewan uji tidak lebih dari 10% dihitung dari masing-masing bobot badan tikus. Setelah itu, darah tikus akan disentrifugasi untuk mengendapkan sel darah merah sehingga didapatkan plasma darah. Plasma darah ini akan berada di bagian atas dan sel darah merah akan berada di bagian bawah karena adanya perbedaan berat jenis antara sel darah merah dan plasma darah. Plasma darah kemudian ditambahkan dengan metanol yang bertujuan untuk mengendapkan protein

yang terdapat di dalam plasma. Metanol akan mengendapkan protein berdasarkan prinsip polaritas dan menurunkan solubilitas dari protein. Plasma darah yang telah ditambahkan metanol selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex sehingga proses pengendapan protein dalam plasma darah berjalan optimal. Setelah itu, plasma akan disentrifugasi kembali untuk memisahkan plasma dengan protein plasma. Plasma darah ini akan berada di bagian atas dan protein plasma akan berada di bagian bawah karena adanya perbedaan berat jenis antara protein plasma dan plasma darah. Plasma darah ini yang digunakan sebagai bahan pengujian dengan EPMS standar. Plasma darah digunakan karena obat yang masuk ke dalam darah akan berikatan dengan protein plasma yang sifatnya *reversible*.

Validasi Metode

Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem ini dilakukan untuk memastikan dan menjamin bahwa sistem dan metode yang digunakan harus mampu memberikan data yang dapat diterima. Uji kesesuaian sistem dilakukan dengan menginjeksikan plasma yang

mengandung EPMS sebanyak 6 kali dan dihasilkan data berupa lempeng teoritis (*N plate*), faktor *tailing*, kapasitas kolom (*K+*), Resolusi (*Rs*), dan simpangan baku relatif (*RSD*). Pada uji

kesesuaian sistem ini dilakukan dengan menggunakan dua tipe fase gerak, yaitu metanol:asam fosfat 70:30 dan metanol:asam fosfat 80:20.

Tabel 1. Syarat Uji Kesesuaian Sistem Menurut *International Council of Harmonisation (ICH) Guideline*.

No	Parameter	Syarat
1	Faktor <i>tailing</i> (TF)	<2
2	Kapasitas kolom (<i>K+</i>)	2-10
3	Lempeng teoritis (<i>N plate</i>)	>2000
4	Resolusi (<i>Rs</i>)	>1,5
5	Simpangan baku relatif (<i>RSD</i>)	<2

Menurut Gandjar (2006), suatu metode dapat diterima apabila dari uji kesesuaian sistem terdapat minimal dua parameter yang memenuhi persyaratan.

Persyaratan uji kesesuaian sistem menurut *International Council of Harmonisation (ICH) Guideline* ada pada Tabel 1.

Tabel 2. Syarat Uji Kesesuaian Sistem menurut *International Council of Harmonisation (ICH) Guideline*.

Perbandingan Pelarut	TF	K+	N Plates	RS	RSD
70:30	1,072	4,411	8188,339	1,93	7,317
80:20	1,134	2,506	8025,860	1,4	1,540

Hasil uji kesesuaian sistem pada Tabel 2 menggunakan fase gerak metanol:asam fosfat perbandingan 70:30 dan 80:20 terdapat hasil yang sesuai dengan persyaratan yang disebutkan dalam *ICH Guideline* dapat disimpulkan bahwa sistem yang digunakan telah sesuai dan data yang

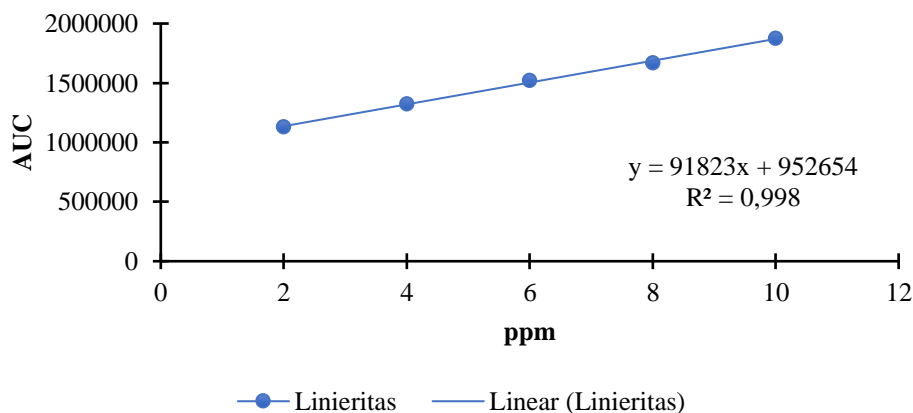
dihasilkan dari eksperimen dapat diterima.

Linearitas

Uji linearitas dilakukan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi analit dengan luas area dibawah kurva yang dilihat dari nilai

koefisien relasi (r). Uji linearitas dilakukan dalam 5 konsentrasi, yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

Berdasarkan hasil uji linearitas pada gambar 3.4 ini didapatkan nilai $R^2 = 0,998$.



Gambar 4. Linieritas EPMS Dalam Plasma.

Hasil data yang didapatkan telah memenuhi syarat uji linearitas dengan nilai koefisien relasi mendekati 1. Linearitas EPMS dalam plasma ini hasilnya dapat dipengaruhi dari faktor ikatan dari plasma darah dengan EPMS. Ikatan plasma darah dengan EPMS sifatnya *reversible* sehingga ada kemungkinan tidak semua EPMS dapat terikat di dalam plasma darah.

Akurasi

Uji akurasi bertujuan untuk memperoleh data seberapa tepat hasil pengujian dengan kadar yang sebenarnya. Uji akurasi ini dilakukan dengan menggunakan plasma yang mengandung EPMS dengan 3 konsentrasi yaitu 2, 6, dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi diinjeksikan sebanyak 3 kali. Dari hasil analisis pada tabel 3.3 didapatkan nilai rata-rata % perolehan kembali.

Tabel 3. Nilai Perolehan Kembali.

Konsentrasi (ppm)	% Recovery	Syarat (%)
2	97,46	98-102
6	103,05	
10	100,55	

Presisi

Uji presisi bertujuan untuk menggambarkan kedekatan hasil pengukuran yang berulang pada konsentrasi yang sama. Uji presisi ini dilakukan dengan menggunakan plasma

yang mengandung EPMS dengan 3 konsentrasi yaitu 2, 6, dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi diinjeksikan sebanyak 3 kali. Berdasarkan hasil analisis pada tabel 3.4, hasil % RSD.

Tabel 4. % RSD.

Konsentrasi (ppm)	Standar Deviasi	% RSD	Syarat (%)
2	1,34	68,83	
6	0,25	4,10	<2%
10	2,41	23,99	

Limit of Detection (LOD) dan Limit of Quantification (LOQ)

LOD adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOQ adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang masih dapat diterima pada metode yang digunakan. Nilai LOD yang didapatkan adalah 2,747 µg/mL yang artinya pada konsentrasi tersebut EPMS dalam plasma masih bisa dideteksi. Nilai LOQ yang didapatkan adalah 9,158 µg/mL yang artinya pada konsentrasi tersebut EPMS dalam plasma presisi dan akurasinya dapat ditentukan dan diterima hasilnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa EPMS dalam plasma darah dapat dianalisis menggunakan KCKT. Adapun kolom yang digunakan untuk analisis EPMS dalam plasma menggunakan KCKT ini adalah kolom C18 dan fase gerak yang baik digunakan dalam analisis ini adalah metanol:asam fosfat 70:30.

DAFTAR PUSTAKA

- European Medicines Agency. 2011. *Guideline on bioanalytical method validation*. United Kingdom: European Medicine Agency. 13-15.
- Fernando, E. 2020. Perbandingan Parameter Bioavailabilitas Etil P- Metoksisinamat (EPMS) Standar Dengan EPMS Isolat Pada Tikus Wistar Jantan. (*Skripsi*). Sekolah Tinggi

- Farmasi Indonesia. Halaman 11-12.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Utama. Halaman 37-43.
- Harahap, Y., Mansur, U., dan Sinandang, T. Analisis Glimiperida Dalam Plasma Tikus. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2006, 3(1): 22-37.
- Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2004, 1(3): 117-135.
- Isadiartuti, D., Prihantini, I.K., dan Agustina, A.P. Development and Validation of an HPLC Method for the Determination of p -methoxycinnamic Acid in Rabbit Plasma. *International Conference on Applied Pharmaceutical Sciences*. 2018. pp 29-34.
- Kurniawati, A. 2016. Validasi Metode Analisis Etil p -Metoksisinamat dalam Plasma secara In Vitro menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). (*Skripsi*). Fakultas Farmasi. UIN Syarif Hidayattullah Jakarta. Halaman. 4; 26-27.
- Mukherjee, A., and Bera, A. A detailed study of validation parameters and system suitability test in HPLC. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2012, 3(4): 426-447.
- Rachmaniar, R., Warya, S., Ferdiansyah, R., Riasari, H., and Kenti. Pharmaceutical Cocystal of Ethyl p-Methoxycinnamate: Formulation and Characterization. *2nd Bakti Tunas Husada-Health Science International Conference*. 2020. 6: 96-101.
- Setyawan, E., Putratama, P., Ajeng, A.D., dan Rengga, W.D.P. Optimasi Yield Etil p-Metoksisinamat Pada Ekstraksi Oleoresin Kencur (*Kaempferia galanga*) Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 2012, 1(2): 31-38.
- Shargel, L., and Andrew, B.C. 2012. *Applied Biopharmaceutical and Pharmacokinetics* (7thed.). The McGraw-Hill Companies. 469-470.
- Susanti, M., dan Dachriyanus. 2014. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Padang: Universitas Andalas. Halaman. 55-67.
- Zhang, K., Wenxia, X., and Shuge, T. Comparative Study On The Determination of Ethyl p-Methoxycinnamate In *Kaempferia Galanga* Rhizome by HPTLCS and HPLC. *Journal of Planar Chromatography*. 2020, 33(1): 1-7.