

OPTIMASI RASIO VOLUME PELARUT DAN WAKTU EKSTRAKSI TERHADAP RENDEMEN EKSTRAK BATANG KECOMBRANG (*Etlingera elatior*) SERTA PROFIL METABOLIT SEKUNDER MENGGUNAKAN LC-MS/MS

EFFECT OF SOLVENT VOLUME RATIO AND TIME OF EXTRACTION ON THE YIELD EXTRACT OF KECOMBRANG STEM (*Etlingera elatior*) AND SECONDARY METABOLITE PROFILING USING LC-MS/MS

Syilvi Adini^{1,2}, Shirly Kumala^{2*}, Siswa Setyahadi^{2,3}, Sofi Nurmay Stiani¹, Yusransyah¹

¹Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Salsabila Serang
Jl. Raya Serang Pandeglang No. 39, Kota Serang – Banten

²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

Jl. Lenteng Agung Raya No. 56, Jakarta Selatan – Jakarta

³Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional
Jl. M.H Thamrin No. 8, Jakarta Pusat - Jakarta

*Email Corresponding: fskumala@yahoo.com

Submitted: 6 January 2023 Revised: 2 February 2023 Accepted: 3 February 2023

ABSTRAK

Kecombrang (*Etlingera elatior*) merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang digunakan sebagai obat. Walaupun semua bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan, bagian batang merupakan yang paling banyak digunakan sebagai obat. Metabolit sekunder yang terkandung dalam batang kecombrang memiliki banyak aktivitas farmakologi. Proses ekstraksi metabolit sekunder dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah volume pelarut dan waktu ekstraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rasio volume pelarut dan waktu ekstraksi optimal pada proses ekstraksi batang kecombrang yang memberikan rendemen tertinggi dan untuk mengetahui profil metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Batang kecombrang dimaserasi dengan metode maserasi kinetik menggunakan pelarut metanol dengan rasio volume pelarut 1:10, 1:20 dan 1:30 selama 60 menit. Kemudian hasil rendemen tertinggi dari variasi volume pelarut dioptimasi lebih lanjut menggunakan variasi waktu ekstraksi 15, 30, 60, 90, 120 dan 180 menit. Pengujian profil metabolit sekunder dilakukan menggunakan LC-MS/MS. Hasil optimasi menunjukkan bahwa volume pelarut dengan rendemen tertinggi terdapat pada rasio 1:30 dan variasi waktu pada menit ke 120 menit. Ekstrak metanol batang kecombrang menunjukkan adanya senyawa biondinin A, *methyl kushenol C*, *trichosanic acid* dan *malvalic acid*. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi optimal ekstraksi batang kecombrang adalah pada rasio volume pelarut 1:30 selama 120 menit dan profil metabolit sekundernya biondinin A, *methyl kushenol C*, asam punisik dan asam *malvalic*.

Kata kunci: Batang kecombrang, optimasi, rendemen, LC-MS/MS

ABSTRACT

Kecombrang (Etlingera elatior) is one of the native Indonesian plants used as medicine. Although all parts of this plant can be utilized, the stem is the most widely used as medicine. Secondary metabolites contained in kecombrang stem have many pharmacological activities. The extraction process of secondary metabolites is influenced by several factors, including the volume of solvent and extraction time. The study aims to determine the optimal solvent volume ratio and extraction time in the extraction process of kecombrang stems that provide the highest yield and to determine the profile of secondary metabolites contained therein. Kecombrang stems were macerated by kinetic maceration method using methanol solvent with solvent volume ratio of 1:10, 1:20 and 1:30 for 60 minutes. The highest yield results from solvent volume variations were further optimized using variations in extraction time of 15, 30, 60, 90, 120 and 180 minutes. Secondary metabolite profile testing was using LC-MS/MS. The optimization results showed that the solvent volume with the highest yield was at a ratio of 1:30 and time variation at 120 minutes. The methanol extract of kecombrang stem showed the presence of biondinin A, methyl kushenol C, trichosanic acid and malvalic acid compounds. This shows that the optimal condition for kecombrang stem extraction is at a solvent volume ratio of 1:30 for 120 minutes and the secondary metabolite profile is biondinin A, methyl kushenol C, trichosanic acid and malvalic acid.

Keywords: Kecombrang stem, optimization, yield, LC-MS/MS

PENDAHULUAN

Kecombrang (*Etlingera elatior*) adalah salah satu tanaman obat yang banyak dibudidayakan di seluruh Asia Tenggara dan termasuk ke dalam famili *Zingiberaceae* (Noordin *et al.*, 2022). Kecombrang merupakan tanaman asli Sumatera, Indonesia dan Malaysia yang umumnya di Indonesia dikenal dengan nama “kecombrang atau honje” dan di Malaysia dengan nama “kantan” (Sabilu *et al.*, 2017).



Gambar 1. Tanaman Kecombrang (Yeat Choon *et al.*, 2016)

Kecombrang mirip dengan bunga hias dan memiliki aroma yang harum dan segar serta hampir seluruh bagiannya dapat dimanfaatkan. Di Asia Tenggara, kecombrang merupakan tanaman populer yang secara tradisional digunakan untuk bumbu masakan (Perangin angin, 2015). Walaupun semua bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan, batang merupakan bagian yang paling banyak dimanfaatkan untuk pengobatan (Saudah *et al.*, 2022). Kajian etnofarmakologi menyebutkan bahwa masyarakat Baduy menggunakan batang kecombrang sebagai pengganti sabun untuk membersihkan kulit (Agustina *et al.*, 2017). Selain itu, masyarakat Batak dan Suku Gayo menggunakan batang kecombrang untuk mengobati batuk dan demam, sedangkan rebusan batang mudanya sebagai antiseptik. Ramuan batang kecombrang yang yang direndam dengan gambir digunakan sebagai obat diare dan sakit perut (Saudah *et al.*, 2022). Batang kecombrang adalah salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai sumber pengobatan karena memiliki metabolit sekunder alkaloid, fenolik, flavonoid,

tanin dan saponin (Resna *et al.*, 2021). Khasiat batang kecombrang yang paling banyak dikenal adalah sebagai antibakteri dan antioksidan (Saudah *et al.*, 2022).

Dalam tanaman, metabolit sekunder dapat disari menggunakan teknik ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi kinetik. Maserasi kinetik merupakan teknik ekstraksi dengan pengadukan terus menerus. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi, diantaranya adalah waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi, suhu ekstraksi, volume pelarut yang digunakan dan pengadukan (Anwar *et al.*, 2021). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Nurjanah, 2018), batang kecombrang yang diekstraksi dengan metode maserasi 3x24 jam menggunakan pelarut etanol menghasilkan rendemen yang rendah, yaitu 1,67%.

Meskipun beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan ekstraksi dan analisis profil metabolit sekunder, namun belum dilakukan optimasi untuk mengetahui kondisi optimal yang dapat menghasilkan rendemen tertinggi dan analisis profil metabolit sekunder menggunakan suatu instrumen dengan selektivitas dan sensitivitas tinggi yang dapat memberikan data baik secara kualitatif maupun kuantitatif untuk menentukan suatu senyawa. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi variasi rasio volume pelarut dan waktu ekstraksi yang dapat memberikan rendemen tertinggi dan analisis profil metabolit sekunder menggunakan LC-MS/MS.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Precsia 240A), instrumen LC-MS/MS (QTOF G2XS), *waterbath* (Memmert), *hammer mill grinder* (*Disk mill model* FFC-15), *spinbar* (cimarec 2). Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia bagian dalam batang kecombrang (*Etlintera elatior*), metanol, campuran pelarut H₂O+asam format 0,1% dan campuran pelarut asetonitril dan asam format 0,1%.

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Simplisia

Sampel batang kecombrang dikumpulkan dari Kp. Pakis, Ds. Sukalangu, Kab. Pandeglang-Banten dan sampel dilakukan determinasi tanaman di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Pusat Penelitian Biologi-Bogor.

Sebanyak 15 g sampel batang kecombrang basah diambil bagian dalamnya dengan cara dipisahkan dari bagian kulit, kemudian dilakukan pencucian, perajangan, pengecilan ukuran, penjemuran di bawah sinar matahari yang diberi kain hitam, penggilingan dan pengayakan menggunakan ayakan *mesh*, kemudian disimpan dalam wadah yang tertutup rapat. Hasil pembuatan simplisia mendapatkan rendemen 7,33%.

2. Optimasi Ekstraksi

Optimasi ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi kinetik dengan variasi rasio volume pelarut dan waktu maserasi. Serbuk simplisia batang kecombrang ditimbang sebanyak 5g dan ditambahkan metanol dengan perbandingan volume pelarut yaitu 1:10 (5 g simplisia : 50 mL metanol), 1:20 (5 g simplisia : 100 mL metanol) dan 1:30 (5 g simplisia : 150 mL metanol), lalu dilakukan maserasi selama 2 jam dan dipekatkan lalu dihitung % rendemen. Hasil rendemen tertinggi dari variasi volume pelarut selanjutnya dioptimasi kembali menggunakan variasi perbandingan waktu 15 menit, 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 180 menit dan dipekatkan lalu dihitung % rendemen. Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \text{ (Fauzi, 2017)}$$

3. Analisis LC-MS/MS

Analisis LC-MS/MS dilakukan dengan menginjeksikan 1 µl menggunakan 2 fase gerak, pelarut A (H₂O + asam format 0,1%) dan pelarut B (Asetonitril + asam format 0,1%).

Analisis Data

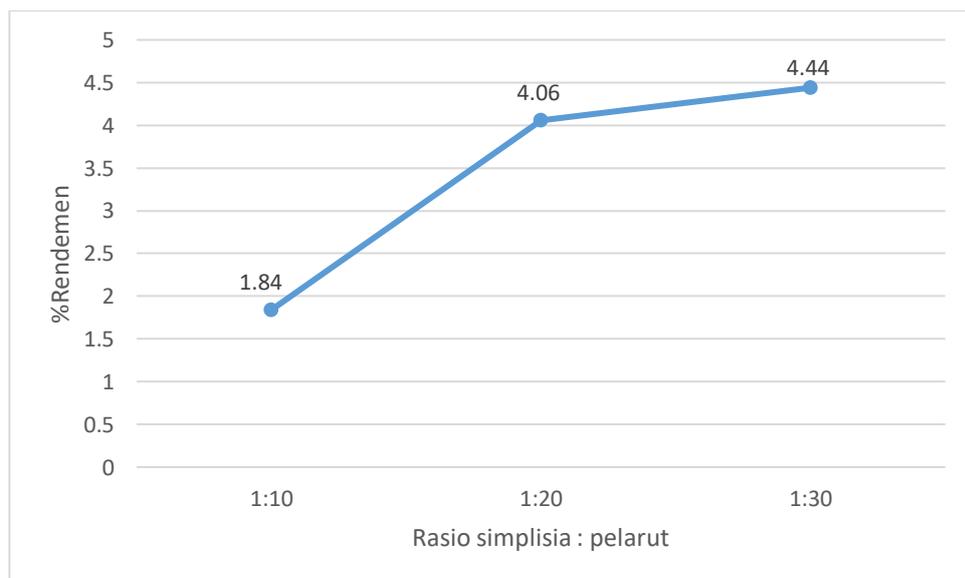
Data yang didapat dari hasil optimasi variasi rasio volume pelarut dan waktu ekstraksi diolah menggunakan SPSS *one way* ANOVA dan data hasil analisis LC-MS/MS diolah menggunakan *MassLynx mass spectrometry software*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman dilakukan pada awal penelitian dengan tujuan untuk membuktikan kebenaran bahan tanaman yang akan digunakan untuk penelitian. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar kecombrang (*Etilingera elatior*) dari suku *Zingiberaceae*. Setelah dilakukan determinasi, selanjutnya dilakukan pembuatan simplisia.

Volume pelarut merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi ekstraksi. Optimasi dilakukan dengan variasi volume pelarut pada rasio 1:10, 1:20 dan 1:30. Ekstraksi dilakukan menggunakan maserasi kinetik selama 2 jam. Pengaruh volume pelarut pada proses ekstraksi terhadap rendemen ekstrak dapat dilihat pada

Gambar 2.

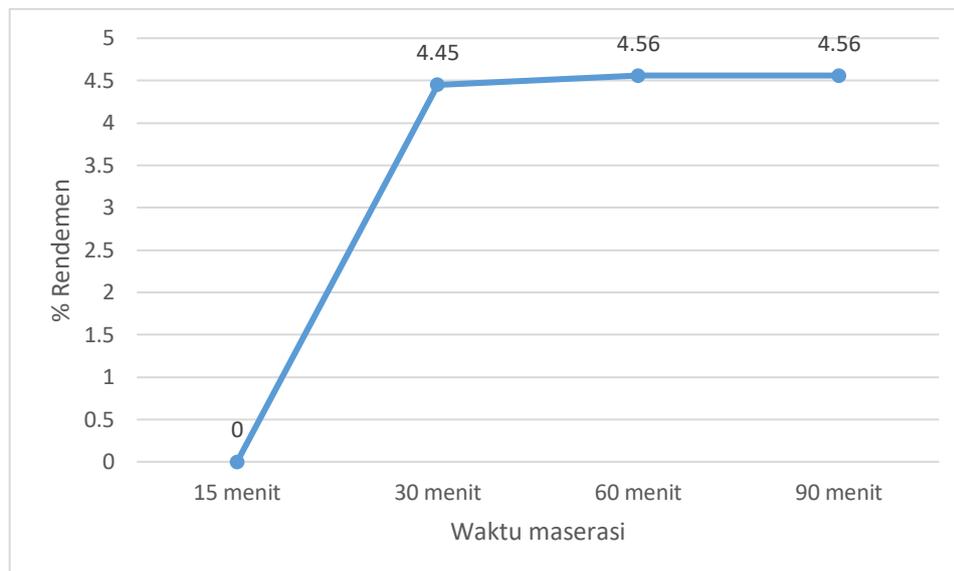


Gambar 2. Pengaruh Volume Pelarut Terhadap % Rendemen Ekstrak

Berdasarkan pada

Gambar 2, rasio volume pelarut yang menghasilkan rendemen tertinggi adalah 1:30 dengan rendemen 4,44%. Presentase rendemen terus mengalami peningkatan seiring banyaknya jumlah pelarut yang digunakan. Hal ini karena semakin besar rasio pelarut-padat yang digunakan, maka semakin tinggi hasil ekstraksinya (Zhang *et al.*, 2018). Hasil pegujian *one way* ANOVA menunjukkan bahwa rasio volume pelarut terhadap rendemen ekstrak menghasilkan perbedaan yang signifikan dengan $p < 0,05$. Selain volume pelarut, waktu ekstraksi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi ekstraksi. Hasil variasi volume pelarut dengan rendemen tertinggi dioptimasi kembali menggunakan variasi waktu. Waktu ekstraksi yang digunakan divariasikan mulai dari 15 menit, 30 menit, 60

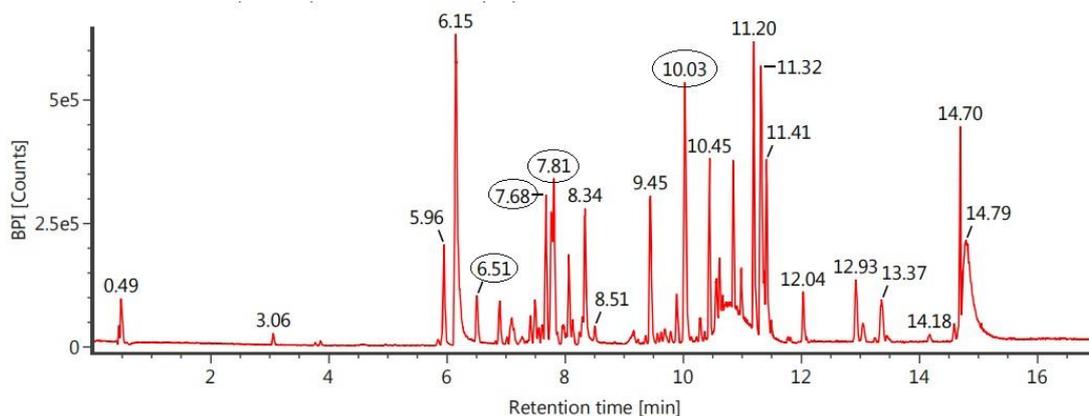
menit, 90 menit, 120 menit dan 180 menit. Hasil pengaruh waktu ekstraksi terhadap rendemen ekstrak ditunjukkan pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Pengaruh Waktu Ekstraksi Terhadap % Rendemen Ekstrak

Seperti ditunjukkan pada **Gambar 3**, rendemen ekstrak mulai dihasilkan pada menit ke-30 dan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan sampai menit ke-90. Hal ini terjadi karena telah tercapainya titik kesetimbangan yang konstan atau pelarut telah jenuh sehingga penambahan waktu ekstraksi tidak menaikkan rendemen ekstrak (*Khasanah et al., 2017*). Hasil pengujian *one way* ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan waktu ekstraksi terhadap rendemen ekstrak menghasilkan perbedaan yang signifikan dengan $p < 0,05$. Hasil optimasi rasio volume pelarut dan waktu ekstraksi ini lebih baik jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan (*Nurjanah, 2018*) yang melakukan ekstraksi batang kecombrang dengan metode maserasi 3x24 jam dengan pelarut etanol yang menghasilkan rendemen sebesar 1,67%. Perbedaan hasil rendemen yang berbeda signifikan ini dapat disebabkan karena perbedaan volume pelarut, metode, waktu dan jenis pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi.

Instumen LC-MS/MS memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan metode kromatografi lainnya, yaitu selektivitas dan sensitivitas yang tinggi, menghasilkan informasi bobot molekul, dapat digunakan untuk konfirmasi dan identifikasi senyawa yang diketahui serta yang belum diketahui, menghasilkan data fragmentasi suatu senyawa serta memberikan kemudahan identifikasi analit yang dielusikan tanpa mevalidasi waktu retensi (*Kumar et al., 2016*). Identifikasi senyawa kimia ekstrak metanol batang kecombrang dengan LC-MS/MS menghasilkan 21 puncak dengan 4 senyawa teridentifikasi (**Gambar 4**), yaitu bionidin A, *methyl kushenol C*, *trichosanic acid* dan *malvalic acid* (**Tabel I**).

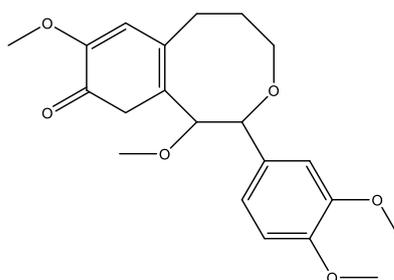


Gambar 4. Kromatogram HPLC Ekstrak Metanol Batang Kecombrang

Tabel I. Hasil LC-MS/MS Ekstrak Metanol Batang Kecombrang

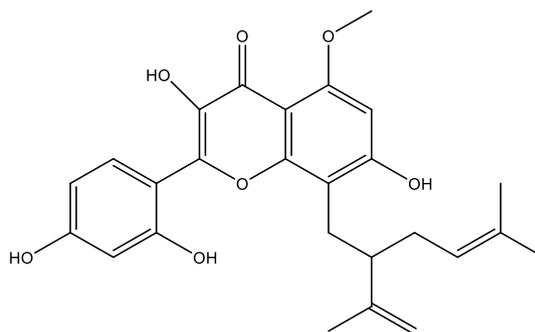
No	Waktu Retensi (Menit)	m/z (M+H)	Senyawa	Rumus Molekul
1.	6,51	397,1623	Biondinin A	$C_{12}H_{26}O_6$
2.	7,50	453,1888	<i>Methyl kushenol C</i>	$C_{26}H_{28}O_7$
3.	7,80	279,2324	Asam punisik	$C_{18}H_{30}O_2$
4.	10,04	281,2481	Asam <i>malvalic</i>	$C_{18}H_{32}O_2$

Berdasarkan **Tabel I**, pada waktu retensi 6,51 menit terdeteksi senyawa biondinin A. Senyawa ini merupakan senyawa turunan dari neolignan yang memiliki efek farmakologi sebagai antibakteri dan imunomodulator (Wagner et al, 2014 dan Aljaafari et al., 2022). Struktur senyawa biondinin A dapat dilihat pada **Gambar 5**. Gugus keton dalam stuktur ini dapat berinteraksi dengan *binding site* melalui ikatan hidrogen, dimana oksigen karbonil berperan sebagai akseptor ikatan hidrogen (Mughtaridi et al., 2018).



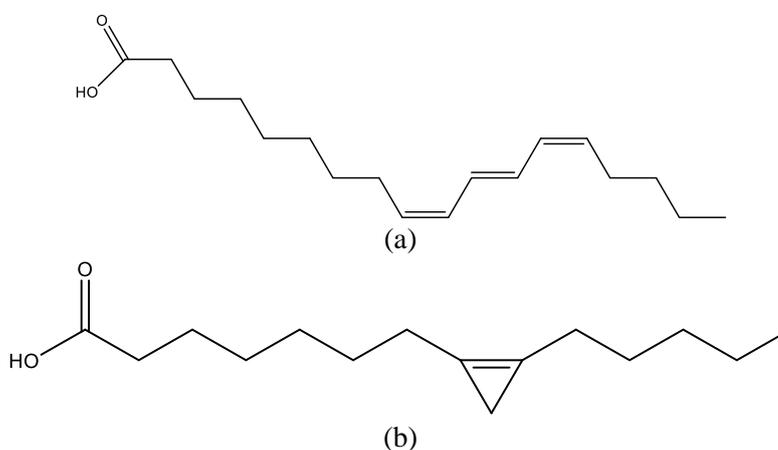
Gambar 5. Struktur Senyawa Biondinin A

Pada waktu retensi 7,50 terdeteksi senyawa *methyl kushenol C*. Senyawa ini merupakan salah satu senyawa turunan flavonoid (Shah et al., 2018). Senyawa ini memiliki aktivitas farmakologi sebagai antibakteri pada bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens* dan *Escherichia coli* (Shah et al., 2018). Struktur senyawa *methyl kushenol C* dapat dilihat pada **Gambar 6**. Gugus hidroksil (-OH) yang terdapat dalam struktur ini memiliki aktivitas sebagai antiseptik, antimikroba, anthelmintik dan keratolitik (Siswandono dan Soekardjo, 2016). Selain itu, gugus hidroksil berperan dalam proses pembentukan ikatan obat dengan reseptor (Mughtaridi et al., 2018).



Gambar 6. Struktur Senyawa Methyl Kushenol C

Senyawa yang terdeteksi pada waktu retensi 7,8 menit adalah asam punisik dan pada waktu retensi 10.04 menit adalah asam *malvalic*. Kedua senyawa ini termasuk ke dalam golongan asam lemak tak jenuh (Casillas-Vargas *et al.*, 2021). Asam punisik dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi sebagai antidiabetes, antihipolipidemik, antiinflamasi, antikanker, antioksidan dan antineprotoksik (Aruna *et al.*, 2016). Struktur senyawa asam punisik dan asam *malvalic* dapat dilihat pada Gambar 7. Asam karboksilat yang terdapat dalam dua struktur senyawa ini memiliki beberapa peranan penting dalam bidang pengobatan, diantaranya sebagai *solubilizer* yang dapat mempengaruhi kelarutan, meningkatkan lipofilisitas dan daya tembus senyawa (seperti antimikroba dan antihistamin). Selain itu gugus karboksilat juga dapat digunakan untuk memformulasi obat dalam bentuk *prodrug* atau bioprekursor yang bertindak sebagai senyawa yang tidak aktif secara biologis tetapi diubah menjadi aktif dalam kondisi tertentu (seperti antihipertensi, antitrombotik dan antivirus) dan sebagai farmakofor yang memberikan interaksi spesifik dengan enzim, memicu atau menghalangi respon biologis (seperti penurunan kolesterol darah dan antiinflamasi non steroid) (Badea & Radu, 2018).



Gambar 7. Struktur Senyawa (a) Asam Punisik; (b) Asam Malvalic

KESIMPULAN

Kondisi optimal pada ekstraksi batang kecombrang adalah menggunakan metode maserasi kinetik dengan rasio volume pelarut 1:30 dan waktu 120 menit dengan rendemen 4,57% serta mengandung profil metabolit sekunder biondinin A, *methyl kushenol C*, asam *punisik* dan asam *malvalic*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) bidang infrastruktur riset dan inovasi atas bantuan teknis selama penelitian di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, Z. A., Suharmiyati, Nf., & Ipa, M. (2017). Penggunaan Kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai Alternatif Pengganti Sabun dalam Perilaku Hidup Bersih dan Sehat Suku Baduy. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 26(4).
- Aljaafari M., Alkhoodi M., Hag-Ali M., Cheng W., Loh J., & Lai K. 2022. Contribution of Aldehydes and Their Derivates to Antimicrobial and Immunomodulatory Activites. *Molecules*. 27(11).
- Anwar, K., Istiqamah, F., Program, S. H., Farmasi, S., Mangkurat, L., & Selatan Indonesia, K. 2021. Optimasi Suhu dan Waktu Ekstraksi Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Menggunakan Metode RSM (*Response Surface Methodology*) dengan Pelarut Etanol 70%. In *Jurnal Pharmascience*. 8 (1).
- Aruna, P., Venkataramanamma, D., Singh, A. K., & Singh, R. P. 2016. *Health Benefits of Punicic Acid: A Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16-27.
- Badea, G. I., & Radu, G. L. (2018). *Introductory Chapter: Carboxylic Acids - Key Role in Life Sciences. In Carboxylic Acid - Key Role in Life Sciences*. In Tech.
- Casillas-Vargas, G., Ocasio-Malavé, C., Medina, S., Morales-Guzmán, C., del Valle, R. G., Carballeira, N. M., & Sanabria-Ríos, D. J. 2021. *Antibacterial fatty acids: An Update of Possible Mechanisms of Action and Implications In The Development of The Next-Generation of Antibacterial Agents. Progress in Lipid Research*.
- Fauzi, N. P. S. dan R. D. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Jawer Kotok (*Coleus atropurpureus* L.) Benth.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* ATTC 1223 dan *Staphylococcus epidermidis* ATTC 12228. *Farmaka*, 15(3), 45–55.
- Khasanah, L. U., Anandhito, B. K., Uyun, Q., Utami, R., & Manuhara, G. J. 2017. *Optimization of Two Stages Extraction Process dan Characterization of Cinnamon Leaf Oleoresin (Cinnamomum Burmanii)*. *Indonesian Journal of Essential Oil*, 2(1), 20–28.
- Kumar, P. R., Dinesh, S. R., & Rini, R. (2016). *Lcms- A Review and a Recent Update. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(5), 377–391.
- Muchtaridi, Y. A. M. S. and P. H. (2018). *Kimia Medisinal. Prenada Media*. Bandung.
- Noordin, L., Ahmad, W. A. N. W., Nor, N. A. M., Bakar, N. H. A., & Ugusman, A. 2022. *Etlingera elatior Flower Aqueous Extract Protects against Oxidative Stress-Induced Nephropathy in a Rat Model of Type 2 Diabetes. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Nurjanah, D. (2018). *Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Obat Kumur Batang Kecombrang (Etlingera Elatior) Terhadap Bakteri Plak Gigi (Streptococcus mutans)*. *Skripsi*. Universitas Mathla'ul Anwar.
- Perangin angin, M. 2015. Karakterisasi Senyawa Kimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) yang Diisolasi dengan Destilasi stahl. *Agrica Ekstensia*, 9(1), 27–33.
- Resna, M., Fauziah, F., & Ifora, I. 2021. *Phytochemical and Antiinflammatory Properties of Etlingera elatior (Jack) RM Sm.: A Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine*, 6(8), 152–160.
- Sabilu, Y., Mukaddin, A., Bittikaka, Y., Tawa, R. A., Paddo, J., & Saptaputra, S. K. 2017. *The Utilization of Sikala (Etlingera elatior) as Traditional Medicine in Porehu District, North Kolaka Regency, Southeast Sulawesi Province, Indonesia. Advances in Environmental Biology*. 11(9): 5-9.
- Saudah, Zumaidar, Darusman, Fitmawati, Roslim, D. I., & Ernilasari. 2022. *Ethnobotanical Knowledge of Etlingera Elatior For Medicinal and Food Uses Among Ethnic Groups in Aceh Province, Indonesia. Biodiversitas*, 23(8), 4361–4370.
- Shah, S. R., Ukaegbu, C. I., Hamid, H. A., & Alara, O. R. (2018). *Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of The Stems Of Flammulina Velutipes and Hypsizygus Tessellatus (White And Brown Var.) Extracted With Different Solvents. Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1947–1961.
- Siswandono dan Soekardjo, B. (2016). *Kimia Medisinal. Airlangga university press*. Surabaya

- Wagner, Hildebert; Baurer, R. 2014. *Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicine*. Springer.
- Yeat Choon, S., Choon, S., & Ding, P. (2016). *Growth Stages of Torch Ginger (Etilingera elatior) Plant*. In *Sains Malaysiana* (Vol. 45, Issue 4).
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. 2018. *Techniques For Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review*. *Chinese Medicine (United Kingdom)*. 13 (1).