

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi dan Morfologi *Nypa fruticans*

Tumbuhan mangrove terdapat di sepanjang garis pantai di sejumlah besar laut utama di 118 negara tropis, dan menjadi pendukung berbagai jasa ekosistem, termasuk produksi perikanan dan serat, pengendalian sedimen dan perlindungan pantai dari badai laut atau tsunami (Donato *et al.*, 2012). Perikanan sudah tidak asing lagi bagi bangsa Indonesia, karena Indonesia kaya akan potensi ikan baik perikanan tangkap maupun budidaya (Setiawan *et al.*, 2013). Mangrove memiliki beberapa jenis seperti *Rhizophora mucronata* Lamk., *Rhizophora apiculata* dan *Rhizophora stylosa* Griff, *Bruguiera gymnorrhiza*, *Ceriops tagal*, *Ceriops decandra*, *Avicinea marina*, *Avicinea Alba*, dan *Acanthus ilicifolius* yang hidup di habitat berkarang dan koral pasir, serta untuk habitat yang lebih kering sering dijumpai mangrove jenis *Aegiceras corniculatum* dan *Xylocarpus* (Darmadi dan Ardhana, 2010).

*Nypa fruticans* banyak ditemukan disepanjang sungai yang terpengaruh pasang surut laut. Tanaman ini tumbuh rapat bersama dan biasanya membentuk komunitas yang luas disepanjang sungai dekat muara hingga sungai dengan air payau. Bentuk buahnya bulat seperti buah pandan dengan panjang bonggol hingga 45 cm (Kitamura *et al.*, 1997). Klasifikasi *Nypa fruticans* menurut Ditjenbun (2006) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Liliopsida  
Ordo : Arecales  
Famili : Areaceae  
Genus : *Nypa*  
Spesies : *Nypa fruticans* Wurm

Gambar mangrove jenis *Nypa fruticans* dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Mangrove *Nypa fruticans* (Dokumentasi pribadi, 2017)

Tumbuhan nipah (*N. fruticans*) hidup bergerombol yang tidak memiliki batang pada bagian permukaannya. Hal itu dikarenakan batangnya berada di dalam tanah. Susunan daunnya nampak seperti daun kelapa. Warna daun hijau mengkilat pada permukaan atas sedangkan bagian bawah berserbuk dengan ujung daun meruncing. Sistem perakarannya rapat dan kuat. Sehingga mampu menyesuaikan kondisi perubahan air yang masuk ke dalamnya (Puspayanti *et al.*, 2013).

## 2.2 Pengerinan

Pengerinan adalah kegiatan yang paling penting dalam pengolahan tanaman obat. Selain itu kualitas produk yang digunakan sangat dipengaruhi oleh proses pengerinan yang dilakukan (Mahapatra *et al.*, 2009). Pengerinan bahan dilakukan dengan tujuan agar bahan lebih tahan lama dan praktis untuk disimpan. Ada banyak metode pengerinan yang biasa digunakan dalam pengolahan tanaman obat yaitu pengerinan dengan sinar langsung pengerinan dengan oven, dan kering angin. Pengerinan dengan sinar matahari langsung merupakan metode yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan, tapi dari segi kualitas alat pengering buatan atau oven akan memberikan hasil yang lebih baik. Hal ini dikarenakan sinar UV dari matahari dapat menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang di keringkan (Pramono, 2006).

Pengeringan dengan menggunakan oven akan memberikan hasil yang lebih baik karena terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu singkat (Muller *et al.*, 2006).

Pemilihan proses pengeringan yang tepat akan menghasilkan simplisia dengan kualitas yang baik dan memiliki kandungan bahan aktif, warna serta metabolit sekunder yang tinggi (Hermani dsn Rahmawati, 2009). Menurut Prasetyaningrum (2010), cara pengeringan bahan yang tidak tahan pada suhu tinggi adalah dengan oven vakum. Pengeringan vakum merupakan proses pengeringan yang bekerja pada suhu rendah dengan tekanan rendah. Prinsip kerja alat pengering vakum adalah uap air diuapkan pada suhu rendah dengan kondisi alat pada tekanan rendah (vakum). Suhu pengeringan vakum termasuk suhu pengeringan cukup yaitu berkisar 40 – 70°C. Proses pengeringan pada kondisi vakum dan suhu rendah memiliki beberapa keuntungan yaitu:

1. Tidak merusak tekstur dan kenampakan bahan,
2. Meminimalkan terbuangnya aroma dan bahan aktif yang volatil (mudah menguap),
3. Menekan rusaknya nutrisi atau denaturasi protein,
4. Mengurangi terjadinya *browning* (pencoklatan bahan) akibat adanya oksidasi dengan udara,
5. Efisiensi energi karena penggunaan pengeringan pada suhu yang rendah.

### **2.3 Ekstraksi**

Senyawa bioaktif pada tanaman dapat di peroleh dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut. Ekstraksi dapat dilakukan dengan satu tahap yang hanya menggunakan satu pelarut untuk ekstraksi, sedangkan pada ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut. Ekstraksi dengan pelarut dilakukan dengan

cara mempertemukan bahan yang akan ekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu yang diikuti dengan proses pemisahan filtrat dari residu bahan yang diekstrak. Prinsip ekstraksi yaitu memisahkan komponen yang ada dalam bahan yang diekstrak dengan menggunakan pelarut (Septiana dan Asnani, 2012).

Metode ekstraksi yang biasa di gunakan adalah ekstraksi secara maserasi. Namun proses ekstraksi sendiri terdiri dari dua bagian yaitu perendaman atau maserasi dan penguapan atau destilasi. Pada proses maserasi, bahan uji dihaluskan terlebih dahulu untuk kemudian direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat dalam bahan uji yang mudah larut akan melarut. Proses penguapan selanjutnya dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh ekstrak kasar dengan menguapkan pelarut yang ada dalam larutan (Korompis *et al.*, 2010).

#### **2.4 Pelarut**

Pemilihan pelarut yang akan digunakan harus memperhatikan sifat kandungan dari senyawa yang akan diisolasi. Polaritas dan gugus polar merupakan sifat yang penting dari suatu senyawa. Dimana pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang sama. Pelarut yang biasanya digunakan untuk ekstraksi antara lain etanol, methanol, etil aseta, dan n-heksan (Septiana dan Asnani, 2012).

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi sampel harus dapat melarutkan semua zat yang terkandung dalam sampel dengan cepat dan sempurna, dan sedikit mungkin melarutkan bahan seperti lilin, pigmen, serta harus bersifat selektif. Pelarut yang dipilih baiknya memiliki titik didih yang cukup rendah, agar pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi. Selain itu juga pelarut tidak boleh larut dalam air, harus bersifat inert agar tidak bereaksi dengan

komponen sampel ekstrak. Harga pelarut harus serendah mungkin, dan tidak mudah terbakar (Munawaroh dan Handayani, 2010).

Pelarut methanol merupakan pelarut yang balik banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam (Susanti *et al.*, 2012). Methanol merupakan pelarut universal yang memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonplar (-CH<sub>3</sub>) sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Methanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Astarina *et al.*, 2013).

Methanol sering disebut metil alkohol, wood alcohol atau spiritus yang memiliki rumus kimia CH<sub>3</sub>OH dan merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Methanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, sangat larut dalam air, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan dari pada etanol). Methanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar, dan sebagai bahan additif bagi etanol industri. Massa molar metanol adalah 32.04 g/mol dengan titik lelehnya -97°C dan titik didih sebesar 64.7°C dan titik didih sebesar 64.7°C (Nurul dan Zuliyana, 2010).

## **2.5 Senyawa Bioaktif *Nypa fruticans***

*Nypa fruticans* diketahui mengandung senyawa bioaktif yaitu polifenol, tanin, dan alkaloid (Osabor *at al.*, 2008). Menurut Hernani dan Rahardjo (2005) polifenol sendiri merupakan senyawa kimia yang digolongkan dalam antioksidan alami yang dapat ditemukan dalam tanaman.

Mangrove nipah berkhasiat sebagai obat sinusitis (Bayu, 2009). Selain itu ekstrak ipah mampu menghambat penyakit tuberkulosis, penyakit hati, sakit tenggorokan, penawar racun, serta obat penenang (Rahmatullah *et al.*, 2010). Disamping sebagai obat tradisional, mangrove nipah juga mengandung ekstrak

aktif yang bermanfaat untuk menghambat penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas dalam tubuh. Hal ini menunjukkan bahwa adanya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan tersebut yang berpotensi sebagai antioksidan (Putri *et al.*, 2013).

### **2.5.1 Alkaloid**

Alkaloid banyak ditemukan pada berbagai jenis tumbuhan, baik dibagian daun, biji, ranting dan kulit kayu dan memiliki keaktifan biologis tertentu. Pada bidang kesehatan alkaloid mempunyai efek berupa pemicu sistem saraf, kenaikan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikrobia, obat penenang dan obat penyakit jantung. Pada tumbuhan alkaloid berfungsi sebagai pelindung dari serangga ham, penguat tumbuh-tumbuhan serta sebagai pengatur kerja hormon (Ikhlas *et al.*, 2014).

Alkaloid merupakan senyawa organik yang mempunyai satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan dan sebagian dari sistem siklik. Atom nitrogen yang terkandung dalam alkaloid bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Tango *et al.*, 2014). Alkaloid memiliki aktifitas antimikroba, antiradikal, antioksidan, antiplasmodial, antikanker, dan kegiatan antimutagenik dengan spectrum yang luas (Yang *et al.*, 2012). Alkaloid mampu menginterkalasi dinding sel dan DNA sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Awaludin *et al.*, 2011).

### **2.5.2 Flavonoid**

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini

dijadikan dasar pembagian flavonoid kedalam sub-sub kelompoknya. Flavonoid memiliki sifat antioksidan serta berperan dalam mencegah kerusakan sel dan komponen selularnya oleh radikal bebas reaktif. Aktivitas antioksidan flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam (Redha, 2010).

Flavonoid terdiri atas antosianidin, flavonol, flavone, flavanone, dan isoflavon. Senyawa golongan flavonol terdiri atas quercetin, kaempferol, myricetin, sedangkan dari golongan flavone terdiri atas apigenin dan luteolin. Flavonoid berperan dalam memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, atau biru pada bunga (Batari, 2007).

### **2.5.3 Saponin**

Saponin adalah glikosida yang merupakan campuran karbohidrat sederhana dan aglikon yang terdapat pada bermacam-macam tanaman. Saponin dibedakan berdasarkan hasil hidrolisisnya menjadi karbohidrat dan sapogenin. Sapogenin terdiri atas saponin steroid dan saponin triterpenoid. Efek toksisitas saponin lebih tinggi pada hewan berdarah dingin dari pada hewan berdarah panas (Rosida, 2002).

Saponin memiliki aktifitas antifungi, antimikroba patogen, sebagai bahan dasar industri hormon seks, kortikosteroid, dan turunan steroid. Biosintesis saponin terdiri atas asam mevalonat yang merupakan senyawa enam karbon disintesis dari asetil ko-A. Mevalonat melepaskan CO<sub>2</sub> membentuk unit isoprenoid. Kemudian enam unit isoprenoid mengadakan kondensasi untuk membentuk senyawa antara yaitu skualen. Skualen lalu mengalami siklisasi untuk menghasilkan senyawa terpenoid, setelah itu senyawa terpenoid tersebut akan berikatan dengan glukosa membentuk saponin (Khistyana *et al.*, 2005).

#### 2.5.4 Triterpenoid dan Steroid

Triterpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada bagian akar, batang, daun, buah, maupun biji tanaman. Triterpenoid memiliki kerangka karbon yang berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Triterpenoid bekerja sebagai anti fungus, insektisida, anti pemangsa, anti bakteri, dan anti virus pada tanaman, selain itu juga dipergunakan sebagai obat untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria (Widiyati,2006).

Steroid terdapat pada tumbuhan dan hewan. Steroid tumbuhan berupa alkohol dengan gugus hidroksil pada C-3 dan memiliki satu atau dua atom tambahan. Sterol tidak larut air namun larut dalam hampir semua pelarut organik. Sterol yang umum terdapat pada tanaman ialah stigmasterol dan  $\beta$ -sitosterol (Risnafiani *et al.*, 2015).

#### 2.5.5 Tanin

Tanin dapat dijumpai pada kulit kayu jenis tumbuhan hijau, baik tumbuhan tingkat tinggi atau tingkat rendah dengan kadar dan kualitas yang berbeda-beda seperti pada jenis bakau-bakauan atau tanaman industri (akasia, ekaliptus, pinus). Tanin merupakan senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa polifenol kompleks, yang dibangun dari elemen C, H, dan O. Tanin banyak digunakan untuk bahan perekat eksterior. Sifat tanin antara lain dapat larut dalam air atau alkohol karena banyak mengandung fenol yang memiliki gugus OH, dapat logam berat, serta bersifat anti rayap dan jamur (Rinasari, 2002).

Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer



*gallic* atau *gallic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi adalah polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon. Tanin dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Jayanegara dan Sofyan, 2008).

## **2.6 Uji Fitokimia**

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Analisis fitokimia merupakan analisis kualitatif. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun dan efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau bioassay. Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, triterpenoid dan steroid, saponin, fenol, flavonoid dan kuinon (Ika, 2013).

Uji fitokimia penting dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam suatu tanaman yang sedang diteliti. Faktor yang berperan penting dalam uji fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Uji fitokimia dilakukan dengan melihat pengujian reaksi warna yang terjadi menggunakan suatu pereaksi warna (Artini *et al.*, 2013).

## **2.7 Uji Aktivitas Antioksidan**

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas ataupun ROS (*reactive oxygen species*) dapat terbentuk karena adanya paparan sinar matahari dan udara. Radikal bebas atau ROS dapat menyebabkan terjadinya oksidasi biomolekul di dalam sel sehingga menyebabkan kematian sel dan kerusakan jaringan. Untuk menjadi stabil, radikal memerlukan elektron dari molekul donor ke molekul radikal agar radikal tersebut menjadi stabil. Senyawa antioksidan mampu mendonasikan sebuah elektron sehingga dapat menetralkan kehadiran radikal bebas ataupun ROS (Nursid *et al.*, 2013).

Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan yaitu untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, dan penuaan diri. Antioksidan juga berperan penting untuk mencegah terjadinya proses oksidasi pada produk pangan. Antioksidan dibagi menjadi 3 golongan, yaitu antioksidan preventif (enzim superoksida dismutase, katalase, glutathione peroxidase), antioksidan primer (vitamin A, fenolat, flavonoid, katekin, kuersetin), dan antioksidan komplementer (vitamin C,  $\beta$ -karoten, retinoid) (Tamat *et al.*, 2007). Aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak tanaman dapat di uji dengan menggunakan DPPH (1,1-diphenyl-2,2-picrylhydrazil).

Metode DPPH menggunakan larutan DPPH sebagai radikal bebasnya, dan akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga berubah menjadi 1,1-diphenyl-2,2-picrylhydrazil yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah 1,1-diphenyl-2,2-picrylhydrazil akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan dapat diamati menggunakan spektrofotometer. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan absorbansi radikal bebas DPPH melalui perhitungan tingkat inhibisi serapan DPPH. Rumusan tingkat inhibisi dan nilai  $IC_{50}$  dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan kuat jika nilai  $IC_{50}$  berkisar antara 51-100, sedang jika nilai  $IC_{50}$  sebesar 101-200 (Pramesti, 2013). Uji DPPH memiliki beberapa kelebihan antara lain merupakan metode uji yang dilakukan sederhana, cepat, murah, tidak spesifik untuk keterangan komponen antioksidan dan hanya digunakan untuk pengukuran kapasitas antioksidan total pada bahan pangan sehingga membantu untuk memahami sifat-sifat fungsional bahan pangan (Yulia, 2007).

## 2.8 Uji Toksisitas

Setiap zat kimia baru harus terlebih dahulu dilakukan penelitian mengenai sifat-sifat ketoksikannya sebelum diperbolehkan digunakan secara luas (Nisfi, 2010). Pengujian toksisitas suatu sampel uji ditujukan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji (Syamsudin, 2014).

Salah satu metode uji bioaktivitas senyawa bahan alam adalah uji letalitas larva udang atau *brine shrimp lethality test*. Uji toksisitas ini merupakan uji toksisitas awal suatu ekstrak sebelum dilakukan uji toksisitas akut atau uji aktivitas lainnya. Hasil uji ini dapat digunakan untuk menentukan batas atau kisaran konsentrasi ekstrak yang digunakan pada uji aktivitas (Fitriyani, 2009).

### 2.8.1 *Brine Shrimp Lethality Test*

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan metode skrining untuk mengetahui ketoksikan suatu ekstrak bahan alam. Uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina leach*. Karena pengaruh ekstrak bahan alam pada konsentrasi yang diberikan. Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya nilai  $LC_{50}$  yang menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian jumlah hewan uji setelah perlakuan 24 jam. Data tersebut analisis menggunakan probit analisis untuk menentukan nilai  $LC_{50}$ . jika nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak senyawa uji kurang dari 1000  $\mu\text{g/ml}$  maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologik (Nisfi, 2010).

Metode ini sering digunakan untuk penapisan awal terhadap senyawa aktif yang terkandung didalam suatu ekstrak karena cepat, mudah, sederhana dan dapat dipercaya. Secara umum senyawa yang bersifat sitotoksis juga

menunjukkan sifat toksiknya terhadap *Artemia salina* (Fathiyawati, 2008). Selain itu, nilai  $LC_{50}$  yang di dapat tidak bisa digunakan sebagai batas konsentrasi untuk konsumsi, dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  ekstrak sehingga keamanannya dapat diketahui secara pasti dengan tujuan untuk dikonsumsi lebih lanjut sebagai obat (Fitriyani, 2009).

### **2.8.2 *Artemia salina* Lench**

*Artemia salina* Lench atau *brine shrimp* adalah sejenis udang-udangan primitif yang diberi nama *Cancer salinus* oleh Linnaeus pada tahun 1778, dan pada tahun 1819 diubah oleh Lench menjadi *Artemia salina*. Hewan ini hidup planktonik diperairan yang berkadar garam tinggi (antara 15-300 per mil) dengan suhu berkisar antara 25-30°C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L, pH anantara 7,3-8,4. *Artemia salina* dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Nisfi, 2010). Dimana *Artemia salina* tersebut memiliki sifat peka terhadap bahan uji, waktu siklus yang cepat, mudah dibiakkan, dan murah (Fitriyani, 2009).

*Artemia* diperdagangkan dalam bentuk telur istirahat atau kista yang berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna coklat dengan berat per telurnya 3,6 mikrogram dan diameternya sekitar 300 mikron. Saat menetas berat *Artemia* hanya berkisar 15 mikrogram dan panjangnya 0,4 mm. Kista yang berkualitas baik akan menetas sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron, dan berat 0,002 mg. Nauplius kemudian berkembang dan mengalami pergantian kulit menjadi instar (Fathiyawati, 2008).

## **2.9 LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)**

Metode LC-MS merupakan metode pemisahan dan identifikasi untuk senyawa obat atau organik. Metode ini sangat sensitif dan selektif dibandingkan metode deteksi dengan sinar UV biasa (Purwanto, 2011). Kelebihan dari

teknologi LC-MS adalah hasil analisisnya khas dan spesifik karena menggunakan spectrometer massa sebagai detector. Aplikasi dari teknologi ini luas dengan sistem yang praktis, tidak terbatas pada molekul volatile dan mampu mengukur analit yang sangat polar. Pengujian dengan metode ini juga fleksibel dengan waktu singkat, serta dapat menghasilkan data kuantitatif maupun kualitatif. (Karisma, 2012).

LC-MS merupakan perpaduan HPLC dengan MS (LC-MS), analisa dengan metode LC-MS menggunakan fasa gerak atau pelarut untuk membawa sampel melalui kolom yang berisi padatan pendukung yang dilapisi cairan sebagai fasa diam. Selanjutnya analit dipartisikan antara fasa gerak dan fasa diam tersebut, sehingga terjadi pemisahan karena adanya perbedaan koefisien partisi. Sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa/muatan ( $m/z$ ), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik menghasilkan spektra massa. Spektra massa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya (Hermiastuti, 2013)