

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Ikan

1. Ikan asin

Ikan merupakan komoditi pangan yang dihasilkan dari perairan antara lain ikan, udang, kerang atau kepiting dan cumi-cumi. Ikan pada umumnya lebih banyak dikenal daripada hasil perikanan yang lain karena paling banyak ditangkap dan dikonsumsi. Menurut tempat hidupnya terapat tiga golongan ikan yaitu ikan laut, ikan darat (ikan air tawar) dan ikan migrasi (Warsito, Rindiani dan Nurdyansyah, 2015). Ikan merupakan salah satu jenis bahan yang mempunyai nilai gizi yang tinggi dan sangat penting bagi manusia serta merupakan sumber protein yang harganya relatif murah, namun ikan merupakan komoditas yang sangat mudah busuk dan produksinya musiman terutama ikan laut (Niswah, Pane dan Resanti, 2016).

Ikan asin atau ikan kering merupakan hasil proses penggaraman dan pengeringan. Ikan ini mempunyai kadar air rendah karena penyerapan oleh garam dan penguapan oleh panas. Beberapa jenis ikan yang biasanya diawetkan menjadi ikan asin atau ikan kering adalah ikan kakap, tenggiri, tongkol, kembung, layang, teri, petek, mujair, dan lain-lain (Antoni, 2010).

2. Manfaat ikan

Sebagai bahan pangan manusia telah mengetahui bahwa ikan merupakan hewan yang mempunyai nutrisi tinggi dan dikenal sebagai sumber protein, lemak dengan omega-3 yang bermanfaat untuk menurunkan resiko *cardiovascular disease* (CvD), dan mineral. Kandungan protein ikan tidak kalah dengan

kandungan protein yang berasal dari daging atau telur. Selain itu ikan adalah salah satu sumber protein hewani yang harganya lebih murah dibandingkan dengan sumber protein hewani lainnya seperti daging sapi dan ayam. Ikan diketahui sangat bermanfaat bagi ibu - ibu hamil, bayi dalam kandungan dan bayi. Makan ikan 2-3 kali dalam seminggu dapat menjaga kesehatan anak-anak dan wanita serta keluarga secara keseluruhan. Protein yang mengandung asam amino mempunyai daya cerna yang tinggi dan berkualitas tinggi, peptide dari organ pencernaan ikan bermanfaat bagi kesehatan, demikian juga vitamin dan mineral (Susanto dan Fahmi, 2012).

Bagi tubuh manusia, daging ikan mempunyai beberapa fungsi, yaitu diantaranya:

- a. Menjadi sumber energi yang sangat dibutuhkan dalam menunjang aktivitas kehidupan sehari-hari.
- b. Membantu pertumbuhan dan pemeliharaan tubuh.
- c. Meningkatkan daya tahan tubuh terhadap serangan penyakit dan juga memperlancar proses-proses fisiologi dalam tubuh (Afrianto, 1989).

Kekurangan daging ikan dapat berakibat timbulnya penyakit kuasiorkor, busung lapar, terhambatnya pertumbuhan mata, kulit dan tulang, serta menurunnya tingkat kecerdasan (terutama pada anak-anak), bahkan dapat menimbulkan kematian (Afrianto, 1989).

Daging ikan juga memiliki beberapa kekurangan seperti tubuh ikan mempunyai kadar air yang tinggi yaitu sekitar 80% dan pH tubuh yang hampir mendekati netral sehingga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme pembusuk yang dapat menyebabkan cepatnya proses pembusukan pada daging ikan, daging ikan juga banyak mengandung asam lemak

tak jenuh yang sifatnya sangat mudah mengalami proses oksidasi. Oleh karena itu, sering timbul bau tengik pada tubuh ikan (Afrianto, 1989).

Proses pembusukan pada ikan dapat disebabkan oleh aktivitas enzim yang terdapat dalam tubuh ikan. Kelemahan yang dimiliki oleh ikan sangat dirasakan menghambat usaha pemasaran dan menimbulkan kerugian maka dari itu perlu dilakukan proses pengawetan ikan (Afrianto, 1989).

3. Penurunan mutu ikan

Ikan merupakan komoditi yang sangat mudah membusuk. Ikan mulai mengalami penurunan mutu atau pembusukan sejak pertama kali ditangkap. Yang dimaksud dengan ikan segar yaitu ikan yang masih mempunyai sifat sama seperti ikan hidup, baik bau, rasa, maupun teksturnya. Ikan yang masih segar merupakan ikan yang baru saja ditangkap dan belum mengalami proses pengawetan maupun pengolahan lebih lanjut, ikan yang belum mengalami perubahan fisik maupun kimiawi atau yang masih mempunyai sifat sama ketika ditangkap. Ciri-ciri ikan yang mudah membusuk dapat dilihat dari kulit ikan yang berwarna suram, pucat, dan berlendir banyak, kulit ikan mulai mengendur dan mudah robek, sisik ikan mulai terlepas dari tubuh, mata tampak suram, tengelam dan mengkerut, insang ikan berwarna coklat suram atau abu-abu dan lamella ikan berdempetan, lender insang keruh dan berbau asam hingga menusuk hidung. Jika dilihat dari dagingnya, ikan yang sudah mengalami proses pembusukan dagingnya lunak, mulai berbau busuk, bila ditekan dengan jari tampak ada bekas lekukan, daging mudah lepas dari tulang, daging lembek dan isi perut keluar, daging berwarna kuning dan kemerahan disekitar tulang punggung, dan ikan yang sudah

membusuk akan mengapung di permukaan air (Warsito, Rindiani dan Nurdyansyah, 2015).

Proses perubahan pada tubuh ikan terjadi karena adanya aktivitas enzim, mikroorganisme atau oksidasi oksigen. Setelah ikan mati, berbagai proses perubahan fisik maupun kimiawi berlangsung lebih cepat. Semua perubahan ini akhirnya mengarah ke pembusukan ikan (Afrianto, 1989).

B. Pengolahan dan Pengawetan Ikan

Proses pengolahan dan pengawetan ikan merupakan salah satu bagian terpenting. Tanpa adanya kedua proses tersebut, peningkatan produksi ikan yang telah dicapai selama ini akan sia-sia, karena tidak semua produk ikan dapat dimanfaatkan oleh konsumen dalam keadaan baik. Pengolahan dan pengawetan ikan bertujuan untuk mempertahankan mutu dan kesegaran ikan selama mungkin dengan cara menghambat dan menghentikan penyebab kemunduran mutu ikan atau pembusukan dan penyebab kerusakan ikan. Tujuan utama proses pengawetan ikan diantaranya mencegah proses pembusukan pada ikan saat produksi melimpah, meningkatkan jangkauan pemasaran ikan, melaksanakan diversifikasi pengolahan produk perikanan, dan dapat meningkatkan pendapatan nelayan atau petani ikan. Ikan hasil pengolahan dan pengawetan umumnya sangat disukai oleh masyarakat karena produk akhirnya mempunyai ciri-ciri khusus yakni perubahan sifat-sifat daging seperti bau (*odour*), rasa (*flavour*), bentuk (*appearance*) dan tekstur. Teknik pengawetan ikan dapat dilakukan dengan cara, sebagai berikut:

1. Menggunakan suhu rendah

Bakteri pembusuk hidup di lingkungan bersuhu 0-30⁰C. Bila suhu diturunkan dengan cepat hingga 0⁰C atau lebih rendah lagi, aktivitas bakteri pembusuk akan terhambat atau terhenti sama sekali. Sedangkan aktivitas enzim penyebab autolisis telah lebih dahulu terhenti.

Suhu rendah dapat digunakan untuk mengawetkan ikan segar atau ikan yang telah mengalami proses pengawetan, seperti ikan asin, ikan asap dan lain-lain (Afrianto, 1989).

2. Menggunakan suhu tinggi

Ternyata aktivitas bakteri pembusuk, jamur, maupun enzim dapat dihentikan dengan menggunakan suhu tinggi (80-90⁰C). Contoh dari pengolahan ikan yang memanfaatkan suhu tinggi adalah ikan asap atau ikan kaleng (Afrianto, 1989).

3. Mengurangi kadar air

Hampir sebagian besar tubuh ikan mengandung banyak air sehingga merupakan media yang sangat cocok bagi pertumbuhan bakteri pembusuk maupun mikroorganisme lain. Dengan mengurangi kadar air dalam tubuh ikan, aktivitas bakteri akan terhambat sehingga proses pembusukan dapat dicegah (Afrianto, 1989).

Pengurangan kadar air dari dalam tubuh ikan dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

a. Menggunakan udara panas

Cara ini memanfaatkan angin atau udara yang telah dipanasi oleh cahaya matahari (proses penjemuran). Dapat juga digunakan aliran udara yang telah

dipanasi oleh api (misalnya oven) atau melalui alat pengering khusus (*mechanical drier*).

b. Menggunakan proses osmosa

Pengurangan kadar air dengan proses osmosa dilakukan dengan pertimbangan bahwa konsentrasi (tekanan osmotik) air di dalam dan di luar tubuh ikan berbeda dapat dilakukan proses pengaraman. Dalam hal ini, konsentrasi garam yang lebih tinggi akan menarik keluar air didalam tubuh ikan. Proses ini baru akan berakhir setelah konsentrasi kedua cairan tersebut sama.

c. Menggunakan tekanan

Cara lain untuk mengurangi kadar air di dalam tubuh ikan adalah dengan menggunakan tekanan mekanis, seperti pada pembuatan kecap ikan, pengaraman maupun pembuatan tepung ikan.

d. Menggunakan panas

Kadar air di dalam tubuh ikan juga dapat dikurangi dengan memanfaatkan panas seperti pada proses pengasapan dan perebusan (Afrianto, 1989).

4. Menggunakan penambahan garam dan pengeringan

Penggaraman merupakan bentuk pengawetan kuno yang masih banyak digunakan sampai sekarang. Pada pembuatan ikan asin, ikan diawetkan dengan kombinasi penggaraman dan pengeringan. Pada konsentrasi tinggi, garam dapat mencegah kerusakan ikan oleh enzim-enzim dalam daging ikan dan pembusukan oleh mikroorganisme. Garam mempunyai tekanan osmotik yang tinggi, sehingga akan menarik air dari daging ikan dan cairan dari sel mikroba. Akibatnya mikroba akan mengalami plasmolisis dan mati. Penambahan garam menyebabkan protein

ikan terdenaturasi sehingga daging ikan mengkerut dan air akan terperas keluar. Pengerinan akan mengurangi kandungan air dalam daging ikan sehingga mikroba tidak dapat tumbuh dengan baik dan pembusukan dapat dicegah. Pada umumnya pengerinan dilakukan secara tradisional dengan penjemuran (Warsito, Rindiani dan Nurdyansyah, 2015).

Proses pembuatan ikan asin mula-mula ikan dicampur dengan garam dengan perbandingan 3:1 sampai 4:1 atau kadar garam 25-35% dalam bak semen. Campuran kemudian disiram dengan larutan garam jenuh sebanyak 1/4-1/5 berat ikan, diaduk dan dibiarkan selama 1-3 malam. Kemudian ikan diangkat, dibilas, dan dijemur 1-4 hari tergantung ukuran ikan dan cuaca (Warsito, Rindiani dan Nurdyansyah, 2015).

Ikan yang telah diawetkan dengan teknik penggaraman dapat bertahan dalam kondisi baik selama 2-3 bulan pada suhu dibawah 10⁰C, pada suhu diatas 15⁰C kerusakan pada ikan asin akan sangat cepat. Ikan asin dapat stabil karena tiga faktor yaitu:

- a. Kerja langsung dari sodium klorida pada jenis-jenis organisme pembusuk protein (*putrefractive*).
- b. Penghilangan oksigen dari jaringan yang mencegah pertumbuhan mikroorganisme.
- c. Gangguan sodium klorida terhadap kegiatan enzim proteolitik dalam daging (Buckle dkk., 2007).

5. Menggunakan zat antiseptik

Sejalan dengan meningkatnya pengetahuan tentang obat-obatan, maka penggunaan zat kimia (baik sebagai antiseptik, antimyotik, maupun antibiotik)

dalam pengolahan dan pengawetan juga semakin luas. Zat kimia yang paling umum digunakan sebagai antiseptik adalah Asam Asetat (Cuka), Natrium Benzoate, Natrium Nitrat, dan Natrium Nitrit (Afrianto, 1989).

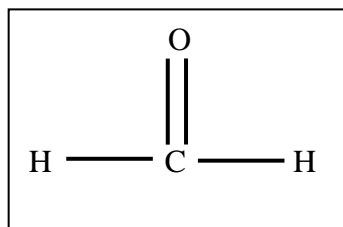
6. Menggunakan ruang hampa udara

Proses pengolahan dan pengawetan dengan menggunakan ruang hampa udara yang pada prinsipnya bertujuan menghindari terjadinya oksidasi lemak yang sering menimbulkan efek bau tengik. Satu hal yang harus diperhatikan dalam menggunakan ruang hampa adalah timbulnya jenis bakteri anaerob seperti *Clostridium Botulinum* dengan racun yang sangat berbahaya (Afrianto, 1989).

C. Formalin

1. Definisi formalin

Formalin atau formaldehid merupakan bahan tambahan kimia yang efisien, tetapi dilarang ditambahkan pada bahan pangan (makanan), tetapi ada kemungkinan formaldehid digunakan dalam pengawetan susu, tahu, mie, ikan asin, ikan basah dan produk pangan lainnya. Formaldehid atau formalin memiliki struktur bangun sebagai berikut:



Gambar 1 Struktur Bangun Formaldehid (Sumber: Cahyadi, Bahan Tambahan Pangan 2012)

Larutan formaldehid atau larutan formalin mempunyai nama dagang formalin, formol, atau mikrobisida dengan rumus molekul CH_2O mengandung kira-kira 37% gas formaldehida dalam air. Biasanya ditambahkan 10-15% methanol untuk menghindari polimerisasi. Larutan ini sangat kuat dan dikenal dengan formalin 100% atau formalin 40%, yang mengandung 40 g formaldehid dalam 100 ml pelarut.

Formalin merupakan cairan jernih yang tidak berwarna atau hampir tidak berwarna dengan bau yang menusuk, uapnya merangsang selaput lendir hidung dan tenggorokan, dan rasa membakar. Bobot tiap millimeter ialah 1-08 gram. Dapat bercampur dalam air dan alkohol, tetapi tidak bercampur dalam kloroform dan eter. Sifatnya yang mudah larut dalam air dikarenakan adanya elektron sunyi pada oksigen sehingga dapat mengadakan ikatan hidrogen molekul air (Cahyadi, 2012).

2. Kegunaan formalin

Larutan formaldehid atau formalin adalah desinfektan yang efektif melawan bakteri vegetatif, jamur atau virus melawan spora bakteri. Formaldehid bereaksi dengan protein, dan hal tersebut mengurangi aktivitas mikroorganisme. Sifat antimikrobia dari formaldehid merupakan hasil dari kemampuannya menginaktivasi protein dengan cara mengondensasi dengan asam amino bebas dalam protein menjadi campuran lain. Kemampuan dari formaldehid meningkat seiring dengan peningkatan suhu (Cahyadi, 2012).

3. Dampak formalin terhadap kesehatan

Formalin dalam kesehatan biasa digunakan sebagai pengawet mayat agar mayat tidak busuk dan berbau. Apabila larutan formalin ditambahkan ke dalam

makanan maka makanan yang ditambahkan formalin akan memiliki masa simpan yang lebih lama. Ikan asin yang mengandung formalin akan bertahan lebih dari satu bulan bahkan bisa sampai berbulan-bulan karena larutan formalin tersebut mempunyai fungsi sebagai bahan pengawet. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan formalin merupakan bahan yang tidak boleh digunakan dalam makanan. Formalin jika ditambahkan ke dalam makanan maka akan memberikan efek buruk bagi kesehatan, meskipun dalam dosis sedikit tapi lambat laun apabila sering dikonsumsi maka efeknya akan terasa bagi kesehatan manusia setelah bertahun-tahun (Wardani dkk., 2016).

Menurut WHO (2002) karakteristik resiko yang membahayakan bagi kesehatan manusia yang berhubungan dengan formaldehid adalah berdasarkan konsentrasi dari substansi formaldehid yang terdapat di udara dan juga dalam produk- produk pangan. Formalin merupakan bahan beracun dan berbahaya bagi kesehatan manusia. Jika kandungan dalam tubuhnya tinggi, akan bereaksi secara kimia dengan hampir semua zat didalam sel sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kematian sel yang menyebabkan keracunan dalam tubuh. Selain itu, kandungan formalin yang tinggi dalam tubuh menyebabkan iritasi lambung, alergi, bersifat karsinogenik (penyebab kanker), mutagenik (menyebabkan adanya perubahan fungsi sel atau jaringan), dan menyebabkan kematian akibat kegagalan peredaran darah. Formalin bila menguap di udara, berupa gas yang tidak berwarna, dengan bau yang tajam menyesakkan sehingga merangsang hidung, tenggorokan, dan mata (Cahyadi, 2012).

Pemaparan formalin terhadap kulit menyebabkan kulit mengeras menimbulkan kontak dermatitis dan reaksi sensitivitas, sedangkan pada sistem reproduksi wanita akan menimbulkan gangguan menstruasi, toksemia, dan anemia pada kehamilan, peningkatan aborsi spontan, serta penurunan berat badan bayi yang baru lahir. Formalin dalam saluran pencernaan dapat menyebabkan rasa sakit disertai dengan radang, ulca dan hidrosis membran mukosa. Formalin juga dapat menyebabkan kerusakan saluran pencernaan dan kerusakan pada sistem saraf (Cahyadi, 2012). Menurut ACGIH (*American Conference of Governmental and Industrial Hygienists*) menetapkan ambang batas aman formalin dalam tubuh adalah 0,4 ppm (Niswah, Pane and Resanti, 2016).

4. Ciri-ciri ikan yang mengandung formalin

Ikan asin yang mengandung formalin yang banyak dijual dipasaran memiliki ciri-ciri dengan warna putih, bersih mengkilap, teksturnya lebih keras dan jarang dihinggapi oleh lalat, yang menunjukkan ciri-ciri ikan dengan kandungan pengawet formalin. Ikan asin yang mengandung formalin dagingnya akan kenyal, utuh, warna lebih putih dan bersih di banding ikan asin tanpa formalin, dagingnya tidak mudah hancur dan tidak beraroma khas ikan (Wijayanti dan Lukitasari, 2016).

D. Uji Formalin

Analisis uji formalin bertujuan untuk mengetahui kandungan formalin yang terdapat pada produk pangan. Analisis formalin dapat dibagi menjadi dua uji yaitu:

1. Uji kualitatif

a. Metode asam kromatropat

Analisis kualitatif formalin dalam sampel dengan metode asam kromatropat dapat dilakukan dengan cara: mencampurkan 10 gram sampel dengan 5 ml air dengan cara menggerusnya dalam lumpang. Campuran dipindahkan ke dalam labu Kjeldah dan diasamkan dengan H_3PO_4 . Labu Kjeldah dihubungkan dengan pendingin dan disuling. Hasil sulingan ditampung. Larutan jenuh asam 1,8 dihidroksinaftalen 3,6 disulfonat dalam H_2SO_4 72% (kira-kira 500 mg/100 ml).

Larutan pereaksi sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml larutan hasil sulingan sambil diaduk. Tabung reaksi dimasukkan ke dalam penangas air yang mendidih selama 15 menit dan amati perubahan yang terjadi. Adanya HCHO ditunjukkan dengan adanya warna ungu sampai ungu tua (Cahyadi, 2012).

b. Uji henher–fulton

Analisis kualitatif formalin dalam sampel dengan metode uji henher-fulton dapat dilakukan dengan cara: larutan pereaksi yang dicampur air boron jenuh (satu bagian) ditambahkan ke dalam larutan asam sulfat dingin dan susu segar bebas aldehyd, maka adanya formaldehid ditunjukkan dengan adanya warna merah muda ungu (Cahyadi, 2012).

2. Uji kuantitatif

Uji kuantitatif formalin dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Hasil analisis formalin secara kualitatif positif (berwarna ungu), maka intensitas warna yang diukur dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 560 nm. Semakin tinggi kandungan formaldehida dalam sampel nilai

absorbannya makin besar. Nilai absorban kemudian dibandingkan dengan kurva standar (Cahyadi, 2012).

E. Spektrofotometer *Ultra Violet-Visible*

1. Pengertian spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm. Spektrofotometer terdiri dari sumber sinar, monokromator, kuvet, detektor, dan *recorder* (Gandjar dan Rohman, 2007).

Spektrum UV-Vis merupakan korelasi antara absorbansi (sebagai ordinat) dan panjang gelombang (sebagai absis). Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan. Dalam hukum Lambert-Beer terdapat beberapa pembatasan yaitu:

- a. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis.
- b. Penyerapan terjadi dalam volume yang mempunyai penampang luas yang sama.
- c. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
- d. Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforesensi.

- e. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Adapun hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-Vis adalah:

- a. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

Hal ini dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut, yaitu dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu. Pereaksi yang digunakan harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu: reaksinya selektif dan sensitif, reaksinya cepat, kuantitatif dan reproduibel, hasil reaksi stabil dalam jangka waktu yang lama (Gandjar dan Rohman, 2007).

- b. Waktu operasional

Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Pada saat awal terjadi reaksi, absorbansi senyawa yang berwarna ini meningkat sampai waktu tertentu hingga diperoleh absorbansi yang stabil. Semakin lama waktu pengukuran, maka ada kemungkinan senyawa yang berwarna tersebut menjadi rusak atau terurai sehingga intensitas warnanya turun akibatnya absorbansinya juga turun. Oleh karena itu, untuk pengukuran senyawa berwarna (hasil suatu reaksi kimia) harus dilakukan pada saat waktu operasional (Gandjar dan Rohman, 2007).

c. Pemilihan panjang gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Pemilihan panjang gelombang maksimal dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu (Gandjar dan Rohman, 2007).

Ada beberapa alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang maksimal, yaitu: (1) Pada panjang gelombang maksimal, kepekaannya juga maksimal karena pada panjang gelombang maksimal tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar, (2) Disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi, dan (3) Jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali ketika digunakan panjang gelombang maksimal (Gandjar dan Rohman, 2007).

d. Pembuatan kurva baku

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x). Apabila hukum Lambert-Beer terpenuhi, maka kurva baku berupa garis lurus dimana kemiringan atau *slope* menunjukkan a (absorptivitas) atau (absorptivitas molar). Penyimpangan dari garis lurus biasanya dapat disebabkan oleh kekuatan ion yang tinggi, perubahan suhu, dan reaksi ikutan yang terjadi (Gandjar dan Rohman, 2007).

e. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

Absorban yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2-0,8 atau 15%-70% jika dibaca sebagai transmittan. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5% (Gandjar dan Rohman, 2007).

2. Linieritas dan regresi

Kebanyakan metode analisis mendasarkan pada suatu proses yang mana metode tersebut menghasilkan peningkatan atau penurunan respon secara linier yang tergantung pada konsentrasi analit. Regresi merupakan kurva yang menyatakan hubungan antara dua besaran. Hubungan ini dapat berupa garis lurus atau garis lengkung (Gandjar dan Rohman, 2007).

Lineiritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien kolerasinya (Gandjar dan Rohman, 2007).

Contoh regresi sederhana adalah hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi pada spektrofotometri. Jika hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi digambarkan dalam suatu kurva akan diperoleh titik-titik yang tidak terletak pada satu garis lurus akan tetapi agak tersebar di sekitar satu garis lurus (Gandjar dan Rohman, 2007).

Kedudukan dari garis lurus tersebut lebih tepat jika ditentukan dengan analisis regresi. Hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dapat dilukiskan sebagai:

$$y = bx + a$$

y = menyatakan absorbansi

x = konsentrasi

b = koefisien regresi (juga menyatakan *slope* = kemiringan)

a = tetapan regresi dan juga disebut dengan intersep (Gandjar and Rohman, 2007).

Nilai kemiringan atau *slope* pada suatu kurva baku dapat digunakan untuk melihat sensitifitas suatu metode analisis. Harga koefisien korelasi (r) dapat mempunyai nilai antara $-1 \leq r \leq 1$, nilai $r = -1$ menggambarkan korelasi negatif sempurna yakni semua titik percobaan terletak pada satu garis lurus yang kemiringannya (*slope*-nya) negatif, demikian juga jika $r = +1$ menggambarkan korelasi positif sempurna, yakni semua titik percobaan terletak pada satu garis lurus yang kemiringannya positif. Sedangkan nilai $r = 0$ menyatakan tidak ada korelasi sama sekali antara x dan y (Gandjar dan Rohman, 2007).