

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bit

Bit merupakan tanaman semusim yang berbentuk rumput. Batang bit sangat pendek dan hampir tidak terlihat. Akar tunggangnya tumbuh menjadi umbi. Daunnya terkumpul pada leher akar tunggal (pangkal umbi) dan berwarna kemerahan (Steenis, 2005). Daun bit berbentuk oblong atau segitiga. Kultivar daun dapat memiliki sembir daun bergelombang atau lurus, dan permukaan daun rata atau keriting. Tangkai daun bit ramping dan panjangnya beragam. Sistem perakaran bit sangat efisien dan menyebabkan tanaman agak toleran terhadap kekeringan (Rubatzky, 1998).

Umbi bit berbentuk bulat atau menyerupai gasing. Akan tetapi, ada pula umbi bit yang berbentuk lonjong. Pada ujung umbi bit terdapat akar. Bunganya tersusun dalam rangkaian bunga yang bertangkai panjang. Bit banyak digemari karena rasanya enak, sedikit manis, dan lunak (Sunarjono, 2004).

Bit biasa dikonsumsi dalam bentuk jus atau sari buah, namun sebagai pangan fungsional belum banyak diminati oleh konsumen karena rasanya yang kurang menarik. Oleh karena itu, beberapa usaha perbaikan cita rasa bit pernah dilakukan misalnya dengan menambahkan bit ke dalam berbagai jenis olahan pangan seperti brownies, donat, dan aneka olahan kue kering serta basah sebagai bahan tambahan (Anam dkk., 2013).

2.1.1. Klasifikasi Bit

Dalam taksonomi tumbuhan, bit diklasifikasikan sebagai berikut (Splittstoesser, 1984):

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Hamamelidae
- Ordo : Caryophyllales
- Famili : Chenopodiaceae
- Genus : *Beta*
- Spesies : *Beta vulgaris L.*

Bentuk fisik tanaman bit diperlihatkan pada gambar 2.1.



Gambar 2.1.Bentuk Fisik Tanaman Bit (*Beta vulgaris L.*)
(Muhammad, 2017)

2.1.2. Daerah Asal dan Penyebaran Bit

Spesies liar bit diyakini berasal dari sebagian wilayah Mediterania dan Afrika Utara dengan penyebaran ke arah timur hingga wilayah barat India dan ke arah barat sampai Kepulauan Kanari dan pantai barat Eropa yang meliputi Kepulauan Inggris dan Denmark. Teori yang ada sekarang menunjukkan bahwa bit segar mungkin berasal dari persilangan *B. vulgaris var. maritime* (bit laut) dengan *B. patula*. Spesies liar sekerabatnya adalah *B. atriplicifolia* dan *B. macrocarpa*. Awalnya, bit merah merupakan jenis yang paling utama dan sering dimanfaatkan sebagai sayuran dan ketertarikan menggunakan umbinya terjadi setelah tahun 1500. Setelah mulai dibudidayakan sekitar tahun 1800, bit kemudian digunakan sebagai pakan ternak dan bit gula tampaknya berasal dari populasi bit pakan ternak (Rubatzky, 1998).

2.1.3. Jenis Bit

Bit atau sering juga dikenal dengan sebutan akar bit merupakan tanaman berbentuk akar yang mirip umbi-umbian. Terdapat empat jenis dari bit yaitu bit merah (*beetroot*), *swiss chard*, *sugarbeet*, dan *fodder bit* (Stintzing dan Carle, 2004). Ada beberapa jenis bit, yang dikelompokkan menjadi dua sebagai berikut (Setiawan, 1995) :

1. Bit Putih atau Bit Potong (*Beta vulgaris L. Var. Cicla L*)

Tanaman ini ditanam khusus untuk menghasilkan daun besar, berdaging renyah, separuh keriting, dan mengkilat dibandingkan umbinya. Tulang daunnya besar dan berwarna. Warna tulang daun biasanya putih, merah atau hijau. Warna

lembar daun berkisar dari hijau muda hingga hijau tua. Dimana umbinya berwarna merah keputih-putihan.

2. Bit merah (*Beta vulgaris L. Var. Rubra L*)

Tanaman ini merupakan varietas yang warna umbinya merah tua. Jenis bit ini sudah banyak ditanam di beberapa daerah dataran tinggi di Indonesia.

2.1.4. Kandungan Gizi Bit

Secara umum bit mempunyai kandungan gizi yang baik. Bit memiliki warna yang spesifik, yaitu merah keunguan yang pekat karena adanya gabungan pigmen merah-ungu (betasianin) dan pigmen kuning (betaxantin). Kandungan gizi bit diantaranya adalah protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, Vitamin A, Vitamin B, Vitamin C, air serta pati (Widyaningrum, 2014). Komposisi kimia yang terkandung dalam bit diperlihatkan pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komposisi Kimia Bit

Substansi	Kandungan
Energi (kal)	42
Protein (g)	1,6
Lemak (g)	0,1
Karbohidrat (g)	9,6
Kalsium (mg)	27
Fosfor (mg)	43
Serat (g)	2,5
Besi (mg)	1,0
Vitamin A (mg)	20
Vitamin B (mg)	0,02
Vitamin C (mg)	43

(DEPKES RI, 2005)

2.1.5. Manfaat Bit

Bit merupakan sumber yang potensial akan serat pangan serta berbagai vitamin dan mineral yang dapat digunakan sebagai sumber antioksidan yang potensial dan membantu mencegah infeksi. Kandungan pigmen yang terdapat pada bit, diyakini sangat bermanfaat untuk mencegah penyakit tumor dan kanker, terutama kanker kolon (Santiago dan Yahlia, 2008).

Beberapa nutrisi yang terkandung dalam bit, bekerja dengan cara yang menakjubkan untuk memperlancar sistem peredaran darah dan membantu membangun sel darah merah. Bit dapat membersihkan dan memperkuat darah sehingga darah mampu membawa zat gizi ke seluruh tubuh dan jumlah sel darah merah tidak akan berkurang. Masyarakat Eropa Timur sering memanfaatkan bit untuk pengobatan leukemia. Bit juga dapat membantu mengatur siklus haid dan mengurangi masalah haid, terutama haid yang tidak teratur. Bit dapat melindungi banyak organ tubuh penting, yaitu dengan memperkuat fungsi ginjal dan bekerja melawan batu ginjal, serta dapat memperkuat fungsi hati dan kantung empedu. Bit mengandung zat anti radang, sehingga membantu meredakan reaksi alergi. (Wirakusumah, 2007).

Bit juga berkhasiat untuk membuang deposit lemak, menetralkan racun, serta dapat memperlancar buang air besar (Kelly, 2005). Manfaat dari jus bit salah satunya adalah mencegah penyakit *stroke* dan jantung serta mampu untuk menurunkan kolesterol (Handayani, 2011). Penelitian dari University of Exeter's School of Sport and Health Sciences, menunjukkan bahwa segelas jus bit dapat membantu meningkatkan kembali stamina tubuh sebesar 16%. Bahkan kandungan

nitrat dalam jus bit dapat membantu tubuh mengembalikan cadangan oksigen, karena kekurangan oksigen inilah yang membuat tubuh merasa lelah dan tidak bertenaga (Splittstoesser, 1984).

2.1.6. Pembudidayaan Bit

Bit tidak mampu membentuk umbi di dataran rendah. Oleh sebab itu, bit banyak ditanam di dataran tinggi dengan ketinggian lebih dari 1.000 m di bawah permukaan laut, terutama bit merah. Akan tetapi, bit putih biasanya ditanam pada ketinggian 500 m di bawah permukaan laut. Adapun syarat penting agar bit tumbuh dengan baik adalah tanah harus subur, gembur dan lembab. Selain itu, tanah yang digunakan sebaiknya tanah liat yang berlumpur dengan pH 6-7. Sebaiknya waktu tanam bit pada awal musim hujan atau akhir musim hujan (Sunarjono, 2004).

2.2. Antioksidan

Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Antioksidan senyawa fenolik mempunyai sifat oksidasi yang berperan dalam menetralisasi radikal bebas (Panovska dkk., 2005). Seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas, penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang, baik untuk makanan maupun untuk pengobatan (Boer, 2000).

Berdasarkan sumber perolehannya, ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan atau sintetis (Dalimartha dan Soedibyo, 1999). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah yang

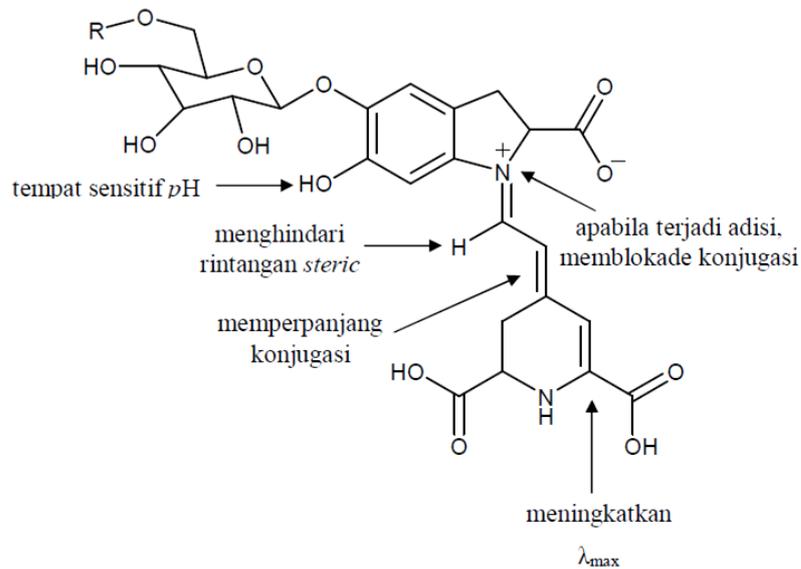
berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal bebas yang berlebih, maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Rohdiana, 2001; Sunarni, 2005).

2.3. Betasianin

Betalain merupakan pigmen bernitrogen dan bersifat larut dalam air (polar), serta mempunyai dua subklas yaitu *betacyanin* dan *betaxanthin* yang masing-masing memberikan warna merah-violet dan kuning-oranye pada bunga, buah dan jaringan vegetatif. Komponen pokok *betalain* yang terdapat pada bit, yaitu betasianin yang disebut juga betanin. Sifat betasianin pada bit merah sangat dipengaruhi oleh pH, cahaya, udara, serta aktivitas air. Stabilitas pigmen betasianin lebih baik pada suhu rendah (<14°C) dan kondisi gelap, dengan kadar udara rendah, pH di atas rentang 5-7, tetapi lebih stabil pada pH 5,6 (Mastuti, 2010).

Betasianin ditemukan pada suku *Centroespermae* termasuk famili *Amarantaceae*. Salah satu jenis dari famili *Amarantaceae* adalah daun darah (*Alternanthera dentata*) yang dapat digunakan sebagai salah satu komoditas pewarna alami prospektif dalam pemenuhan kebutuhan pewarna makanan dengan ketersediaan cukup banyak dan perawatan cukup mudah. Betasianin dapat digunakan sebagai pewarna alami dalam bentuk ekstrak, akan tetapi penggunaan pelarut air dalam proses pemekatan dengan panas dapat mengakibatkan kerusakan karena titik didih air cukup tinggi (100°C) sedangkan stabilitas betasianin semakin

menurun pada pemanasan suhu 70 dan 80°C (Havlikova dkk., 1983). Struktur kimia senyawa betasianin diperlihatkan pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur Senyawa Betasianin (Stephanie, 2016)

Pigmen betasianin dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut alkohol maupun pelarut yang dikombinasi dengan asam (Murtala, 1999). Identifikasi betasianin banyak dilakukan dengan perbandingan spektrofotometri, kromatografi, sifat elektroforesis dengan standar otentik atau data sekunder dan menggunakan teknik analisis tradisional dan modern seperti kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, elektroforesis kertas, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry* (LC-MS), *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS), *Electrospray Ionization tandem Mass Spectrometry* (ESI-MS/MS) dan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR). (Mastuti dkk., 2010).

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan dua atau lebih komponen dengan menambahkan suatu pelarut yang tepat. Ekstraksi meliputi distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umum dipakai adalah air dan pelarut organik lain seperti kloroform, eter, dan alkohol (Sudjadi,1988).

Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi adalah tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut, dan tipe pelarut (Utami, 2009).

Ekstraksi pelarut atau disebut juga ekstraksi air merupakan metode pemisahan yang paling baik dan populer. Alasan utamanya adalah bahwa pemisahan ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro ataupun mikro. Seseorang tidak memerlukan alat yang khusus atau canggih kecuali corong pemisah. Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Teknik ini dapat dipergunakan untuk kegunaan preparatif, pemurnian, memperkaya, pemisahan serta analisis pada semua skala kerja (Khopkar,2003).

2.4.1. Tahap – tahap ekstraksi

Suatu proses ekstraksi biasanya melibatkan tahap-tahap berikut :

1. Mencampur bahan ekstraksi dengan pelarut dan membiarkannya saling berkontak, dalam hal ini terjadi perpindahan massa dengan cara difusi pada bidang antarmuka bahan ekstraksi dan pelarut. Dengan demikian terjadi ekstraksi yang sebenarnya, yaitu pelarutan ekstrak.

2. Memisahkan larutan ekstraksi dari rafinat, kebanyakan dengan cara penjernihan atau filtrasi.
3. Mengisolasi ekstrak dari larutan ekstrak dan mendapatkan kembali pelarut, umumnya dilakukan dengan menguapkan pelarut. Dalam hal-hal tertentu larutan ekstrak dapat langsung diolah lebih lanjut atau diolah setelah dipekatkan (Hardoyo, 1995).

Metode ekstraksi padat cair, satu atau beberapa komponen yang dapat larut dipisahkan dari bahan padat dengan bantuan pelarut. Proses ini digunakan secara teknis dalam skala besar terutama di bidang industri bahan alami dan makanan, misalnya untuk memperoleh bahan-bahan aktif dari tumbuhan atau organ-organ binatang untuk keperluan farmasi, selain itu untuk memperoleh gula dari umbi, minyak dari biji-bijian dan kopi (Hardoyo, 1995).

Menurut Djarwis (2004) metode ekstraksi yang digunakan untuk mengisolasi suatu senyawa dari bahan alam tergantung pada tekstur, kandungan senyawa, dan sifat senyawa yang diisolasi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu dengan sokletasi, maserasi, dan perkolasi. Pada penelitian ini metode yang digunakan yaitu metode maserasi. Teknik ini digunakan karena kandungan senyawa organik yang ada dalam bahan cukup tinggi dan telah diketahui jenis pelarut yang dapat melarutkan senyawa yang diisolasi. Metode maserasi dapat menghindari pengaruh suhu, dimana pengaruh suhu yang tinggi memungkinkan terdegradasinya senyawa metabolit sekunder. Sehingga metode maserasi ini sangat menguntungkan. Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan

kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut akibat kontak langsung dan waktu yang cukup lama dengan sampel.

2.4.2. Jenis dan Sifat Pengekstrak

Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektrikum dapat dibedakan menjadi dua yaitu pelarut polar dan non-polar. Konstanta dielektrikum dari beberapa pelarut dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Konstanta Dielektrikum Pelarut Organik

Pelarut Organik	Konstanta Dielektrikum
n-heksana	1,89
Eter	1,90
Kloroform	4,81
Etil asetat	6,02
Etanol	24,30
Metanol	33,60
Air	80,40

(Sudarmadji dkk.,1989)

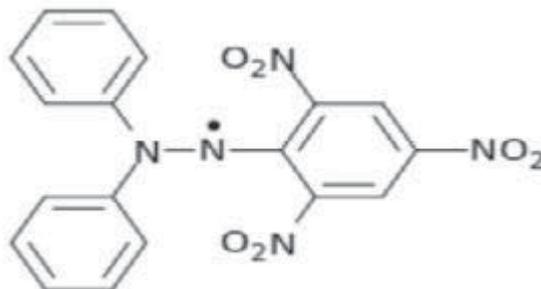
Semakin tinggi konstanta dielektrikunya, maka pelarut bersifat semakin polar. Pelarut polar merupakan pelarut yang memiliki gugus hidrokarbon. Etanol dapat melarutkan senyawa alkaloida basa, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil (Gunawan dan Mulyani, 2004). Selain itu, etanol dapat mengendapkan bahan obat dan juga dapat menghambat kerja enzim (Voight, 1995). Keuntungan dari etanol sebagai cairan pengekstrak adalah etanol bersifat lebih selektif, kapang dan bakteri sulit tumbuh dalam etanol 20%, etanol bersifat tidak beracun, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan, dengan kadar etanol 70% dapat dihasilkan suatu bahan

aktif yang optimal karena bahan pengotor yang ikut dalam cairan pengekstraksiannya hanya dalam skala kecil (Hargono dkk., 1986).

2.5. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

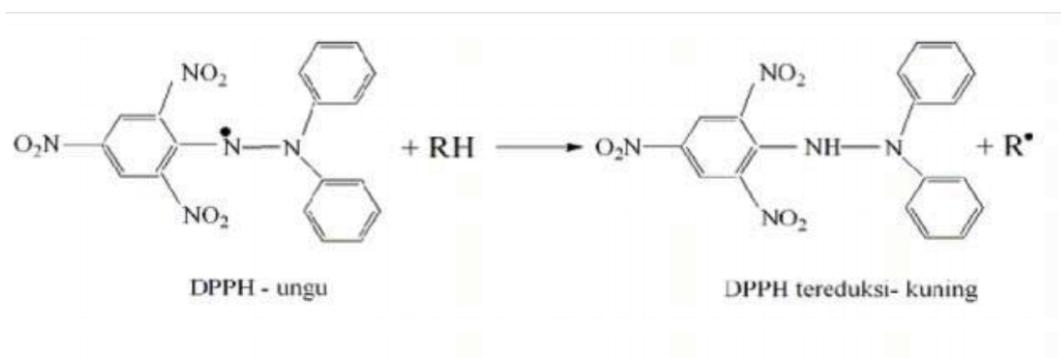
Banyak metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Namun pada penelitian ini, digunakan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Metode uji DPPH merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk memperkirakan efektivitas kinerja dari substansi yang berperan sebagai antioksidan (Molyneux, 2004).

Radikal bebas yang digunakan adalah 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Radikal bebas DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan larut dalam pelarut polar yaitu metanol dan etanol. Sifat stabil radikal bebas tersebut disebabkan radikal bebas ini memiliki satu molekul yang didelokalisasi dari molekul utuhnya. Delokalisasi ini akan memberikan warna gelap dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Metode DPPH ini dipilih karena metode ini sederhana, mudah, cepat peka, dan hanya memerlukan sedikit sampel (Molyneux, 2004). Struktur DPPH dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur DPPH (Yamaguchi, 1998)

Metode DPPH yaitu metode sederhana yang telah ditentukan untuk menentukan aktivitas antioksidan pada makanan dengan menggunakan radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Uji DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang cepat dan efektif untuk memperkirakan aktivitas antiradikal, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis. Reaksi dari suatu radikal bebas (DPPH) dengan antioksidan adalah pada gambar 2.4 :



Gambar 2.4 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (Tristantini, 2016)

Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas DPPH. Hal ini ditandai dengan terjadinya perubahan warna ungu menjadi kuning pucat. Hasil reaksi antara DPPH dari ungu pekat menjadi kuning akibat terjadinya resonansi struktur DPPH.

Uji aktivitas antioksidan dalam penelitian menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif yang telah diketahui manfaatnya sebagai antioksidan yang sangat kuat. Menurut fungsi antioksidan, asam askorbat termasuk dalam senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi (Ridho, 2013).

2.6. Persen Inhibisi dan IC₅₀

Persen inhibisi adalah perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko dan absorbansi sampel dengan absorbansi blanko. Persen inhibisi digunakan untuk menentukan persentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas. Perhitungan persen inhibisi dapat dilihat pada rumus 2.1:

$$Pi = \frac{Ab-As}{Ab} \times 100 \% \dots (2.1)$$

Keterangan :

Pi : Persen inhibisi

Ab : Absorbansi Blanko

As : Absorbansi Sampel

Nilai persen inhibisi yang telah dihitung dari setiap konsentrasi digunakan untuk perhitungan IC₅₀. IC₅₀ atau Inhibitor Concentration 50% adalah nilai konsentrasi suatu bahan untuk menghambat aktivitas DPPH sebesar 50% (Zou, *et al.*, 2004). Nilai IC₅₀ diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal bebas. Klasifikasi aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.3. Klasifikasi Antioksidan

No	IC ₅₀ (bpj)	Aktivitas antioksidan
1	< 50	Sangat Kuat
2	50 – 100	Kuat
3	101 – 150	Sedang
4	151 – 200	Lemah

(Molyneux, 2004).

2.7. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer terdiri atas spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi :

1. Sumber tenaga radiasi yang stabil, contohnya lampu wolfram.
2. Monokromator untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis.
3. Sel absorpsi, pada pengukuran visibel menggunakan kuvet kaca, tetapi untuk UV menggunakan sel kuarsa, karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah UV.
4. Detektor radiasi yang dihubungkan dengan sistem meter atau pencatat.

(Khopkar, 1990)

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif daripada kualitatif (Mulja dan Suharman, 1995).

Jenis spektrofotometer UV-Vis ada dua yaitu *single beam* dan *double beam*. Pada *single beam*, celah keluar sinar monokromatis hanya satu, wadah kuvet yang dapat dilalui sinar hanya satu dan setiap perubahan panjang gelombang alat harus dinolkan. Pada *double beam* celah keluar sinar monokromatis ada dua, wadah melalui dua kuvet sekaligus dan cukup satu kali dinolkan dengan cara mengisi

kedua kuvet dengan larutan blanko (Harmita, 2006). Spektrofotometer UV-Vis diperlihatkan pada gambar 2.5.



Gambar 2.5. Spektrofotometer UV-Vis CECIL CE 1021
(Uni Green Scheme Lab Equipment, 2016)

Senyawa atau zat yang dapat diperiksa adalah yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang lebih dikenal dengan istilah kromofor. Senyawa yang mengandung gugus kromofor akan mengabsorpsi radiasi sinar ultraviolet dan cahaya tampak jika diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi (auksokrom). Gugus auksokrom yaitu gugus yang mempunyai elektron non bonding dan tidak menyerap radiasi UV jauh contohnya -OH, -NH₂, -NO₂, -X (Harmita, 2006).

2.8. Pengukuran Absorbansi Sampel Larutan

Spektrofotometer UV-Vis dapat menganalisis sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan pelarut yang dipakai antara lain (Mulja dan Suharman, 1995) :

1. Pelarut yang dipakai tidak mengandung sistem ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna.

2. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
3. Kemurniannya harus tinggi.

Pengukuran serapan dari suatu sampel dapat dilakukan dengan perhitungan Lambert-Beer seperti yang ditunjukkan pada rumus 2.2 (Harmita, 2006).

$$A = \frac{\log I_0}{\log I_t} = \epsilon \cdot b \cdot c = a \cdot b \cdot c \dots (2.2)$$

Keterangan :

A = serapan / absorban;

a = daya serap;

b = tebal lapisan zat yang menyerap sinar (cm);

c = kadar (g/L);

ϵ = absorpsivitas molekuler (mol.cm.L^{-1});

I_0 = intensitas sinar datang;

I_t = intensitas sinar yang diteruskan.

Spektrum serapan adalah hubungan antara serapan dengan panjang gelombang yang biasanya digambarkan dalam bentuk grafik. Pengukuran serapan biasanya dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum atau yang tercantum dalam monografi. Spektrum serapan dari zat yang diperiksa kadang-kadang perlu dibandingkan dengan pembanding kimia yang sesuai. Pembanding kimia tersebut dikerjakan dengan cara yang sama dan kondisi yang sama dengan zat yang diperiksa. Blanko digunakan untuk koreksi serapan yang disebabkan oleh pelarut, pereaksi, sel ataupun pengaturan alat (DEPKES RI, 2000).