



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR BERBASIS PLASTIK ZONA
MIKRO UNTUK SKRINING AKTIVITAS ANTIDIABETES
PADA EKSTRAK TANAMAN OBAT**

SKRIPSI

Oleh:

Indri Firma Wati

NIM 162210101131

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2020



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR BERBASIS PLASTIK ZONA MIKRO
UNTUK SKRINING AKTIVITAS ANTIDIABETES PADA EKSTRAK
TANAMAN OBAT**

SKRIPSI

diajukan guna memenuhi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu Fakultas Farmasi dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Indri Firma Wati
NIM 162210101131

**BAGIAN KIMIA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang dengan petunjuk, rahmat, hidayah, serta tuntunanNya sehingga memberikan kemudahan dalam pengerjaan skripsi ini, serta Nabi Muhammad SAW sebagai panutan terbaik dan terkeren dalam hidup.
2. Ibunda Sukiyem, Ayahanda Tulus Wakti, Kakak Windari dan Anggota MPA Pring Kuning yang selalu saya cintai dan selalu memberikan doa serta dukungannya.
3. Diri saya sendiri yang telah berjuang menyelesaikan skripsi ini.
4. Guru-guru saya yang telah memberikan ilmu.
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

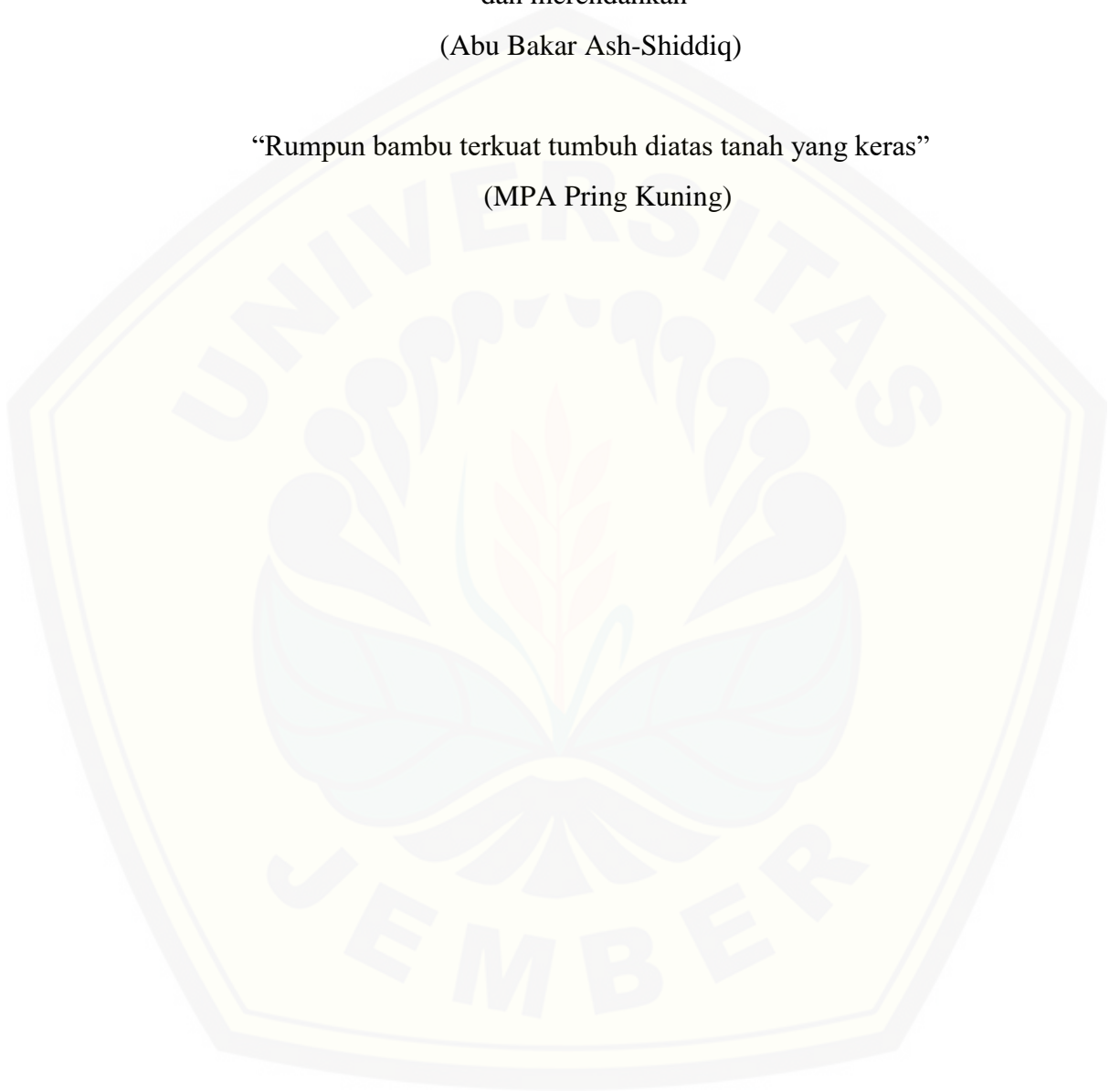
MOTTO

“Setiap segala sesuatu itu ada kelebihanannya. Maka janganlah suka meremehkan dan merendahkan”

(Abu Bakar Ash-Shiddiq)

“Rumpun bambu terkuat tumbuh diatas tanah yang keras”

(MPA Pring Kuning)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Indri Firma Wati

NIM : 162210101131

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengembangan Biosensor Berbasis Plastik Zona Mikro untuk Skrining Aktivitas Antidiabetes pada Ekstrak Tanaman Obat” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dana paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Oktober 2020

Yang menyatakan,



Indri Firma Wati

NIM 162210101131

SKRIPSI

**PENGEMBANGAN BIOSENSOR BERBASIS PLASTIK ZONA MIKRO
UNTUK SKRINING AKTIVITAS ANTIDIABETES PADA EKSTRAK
TANAMAN OBAT**

Oleh:

Indri Firma Wati

NIM 162210101131

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., PhD.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dwi Koko Pratoko, S.Farm, M.Sc.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengembangan Biosensor Berbasis Plastik Zona Mikro untuk Skrining Aktivitas Antidiabetes pada Ekstrak Tanaman Obat” karya Indri Firma Wati telah diuji dan disahkan pada:

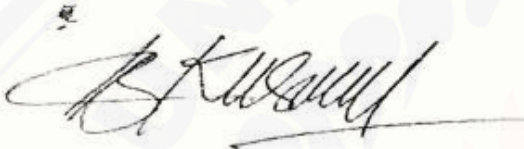
hari, tanggal : Senin, 26 Oktober 2020

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,



Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.

apt. Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc.

NIP. 196902011994031002

NIP. 198504282009121004

Tim Penguji

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,



apt. Ari Satia Nugraha, M.Sc-Res., Ph.D.

Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si.

NIP. 197807212003121001

NIP. 197807282005012001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Pengembangan Biosensor Berbasis Plastik Zona Mikro untuk Skrining Aktivitas Antidiabetes pada Ekstrak Tanaman Obat; Indri Firma Wati, 162210101131; 2020: 109 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa di atas batas normal. Meskipun tidak dapat disembuhkan, banyak cara dapat dilakukan dalam rangka pencegahan komplikasi DM yaitu dengan pengendalian asupan makanan, aktivitas fisik dan penggunaan obat-obatan. Terkait pengobatan DM, saat ini banyak penelitian dilakukan untuk menemukan agen antidiabetes yang berasal dari tumbuhan yang diharapkan dapat mengatasi permasalahan efek samping dan harga obat sintetik yang relatif mahal.

Pengujian aktivitas antidiabetes pada tumbuhan dapat dilakukan dengan berbagai metode salah satunya dengan menggunakan biosensor yang sederhana, cepat, tidak memerlukan keterampilan khusus dan sensitif. Pada penelitian ini dikembangkan biosensor plastik zona mikro dengan mekanisme penghambatan terhadap enzim α -glukosidase. Biosensor dibuat dengan mengimobilisasi enzim α -glukosidase pada bagian tengah plastik sebanyak 1 μ l. Optimasi yang dilakukan meliputi volume biosensor, konsentrasi PNPG, konsentrasi Na_2CO_3 dan waktu inhibisi. Kondisi optimum yang digunakan dalam mendeteksi aktivitas antidiabetes adalah berturut-turut adalah 20 μ l; 5 mM; 0,2 M dan 1 menit.

Karakteristik biosensor untuk menganalisis aktivitas antidiabetes dalam penelitian ini meliputi waktu respon sensor 15 menit, linieritas biosensor berada pada rentang 500-40000 $\mu\text{g/mL}$ dengan $r = 0,9989$. Nilai batas deteksi (LOD) sebesar 1109,6 $\mu\text{g/mL}$ dan batas kuantifikasi (LOQ) sebesar 3698,8 $\mu\text{g/mL}$. Biosensor memenuhi parameter presisi dan akurasi dengan nilai RSD $<3,7\%$ dan %*recovery* berada pada rentang 95-105%. Biosensor antioksidan stabil dalam penyimpanan pada suhu 25°C selama 270 menit dan pada suhu 4°C selama 3 hari. Aktivitas antidiabetes pada biosensor dibandingkan dengan spektrofotometer

UV-Vis menggunakan uji *Independent Sample T-test* dan menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antar kedua metode.



PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan laporan hasil penelitian dalam bentuk skripsi yang berjudul “Pengembangan Biosensor Berbasis Plastik Zona Mikro untuk Skrining Aktivitas Antidiabetes pada Ekstrak Tanaman Obat”. Skripsi ini ditulis untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu (1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat dan keberkahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember Ibu apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm. atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. Ibu apt. Fransiska Maria C, S.Farm., M.Farm. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing dan memberikan arahan selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi., M.Sc., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Utama sekaligus Dosen Pembimbing Proyek dan Bapak apt. Dwi Koko Pratoko., S.Farm., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberi bimbingan, semangat, meluangkan waktu, pikiran dan saran kepada penulis selama penyusunan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik;
5. Bapak apt. Ari Satia Nugraha., M.Sc-Res., Ph.D. selaku Dosen Penguji I dan Ibu Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si. selaku Dosen Penguji II yang telah memberi saran dan kritikan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini;
6. Ketua dan teknisi Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember.
7. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan, kritik, dan saran yang membangun kepada penulis;

8. Keluarga besar penulis yang tiada henti memberikan semangat dan kepercayaan dalam penulisan skripsi ini;
9. Keluarga besar MPA Pring Kuning dan anggota MPA Pring Kuning angkatan 2016 yang telah memberikan banyak pengalaman dan pembelajaran yang berharga;
10. Teman proyek “COVID-20” (Vinda, Indri, dan Dayu), teman konyol satu lab, dan teman-teman “MORFIN” yang saling memberikan semangat, dukungan dan doa;
11. Serta semua pihak yang terlibat dalam keberhasilan penulis menyelesaikan skripsi ini;

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi banyak orang.

Jember, Oktober 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Tinjauan Tentang Diabetes Melitus (DM)	6
2.1.1. Definisi	6
2.1.2. Penggolongan	6
2.1.3. Komplikasi.....	7

2.2. Tinjauan Tentang Antidiabetes	8
2.2.1. Penggolongan Obat Antidiabetes	8
2.2.2. Senyawa Antidiabetes pada Tumbuhan.....	9
2.2.3. Uji Potensi Antidiabetes <i>In vitro</i>	13
2.2.4. Enzim α -Glukosidase.....	16
2.3. Tinjauan Tentang Biosensor	18
2.3.1. Definisi	18
2.3.2. Biosensor Berbasis Enzim	19
2.3.3. Fabrikasi Biosensor Enzim	20
2.3.4. Teknik Imobilisasi pada Biosensor.....	21
2.3.5. Karakterisasi Biosensor	24
2.4. Tinjauan Tentang Sampel	27
2.4.1. Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	28
2.4.2. Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).....	29
2.4.3. Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>).....	30
2.5. Tinjauan Tentang Aplikasi <i>ImageJ</i>	30
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	32
3.1. Jenis Penelitian	32
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian	32
3.3. Definisi Operasional.....	32
3.4. Diagram Alur Penelitian.....	33
3.5. Alat dan Bahan	34
3.5.1. Alat	34
3.5.2. Bahan	34
3.6. Prosedur Penelitian	34

3.6.1. Persiapan Bahan.....	34
3.6.2. Optimasi Biosensor.....	36
3.6.3. Fabrikasi Biosensor	37
3.6.4. Karakteristik Biosensor	39
3.6.5. Aplikasi Biosensor pada Sampel Uji	41
3.6.6. Metode Perbandingan Spektrofotometer UV-Vis	41
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1. Optimasi Biosensor	43
4.1.1. Optimasi Volume Area Deteksi Biosensor.....	43
4.1.2. Optimasi Konsentrasi PNPG	43
4.1.3. Optimasi Konsentrasi Na ₂ CO ₃	44
4.1.4. Optimasi Waktu Inhibisi.....	45
4.2. Fabrikasi Biosensor.....	46
4.3. Karakteristik Biosensor	47
4.3.1. Waktu Respon.....	47
4.3.2. Linieritas	48
4.3.3. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	49
4.3.4. Presisi.....	50
4.3.5. Akurasi.....	51
4.3.6. Waktu Pakai.....	51
4.4. Aplikasi Sampel dan Perbandingan Metode	53
4.5. Perbandingan % Inhibisi antar Sampel dan Akarbose.....	56
4.6. Perbandingan Biosensor dengan Penelitian Lain	57
BAB 5. KESIMPULAN	60
5.1. Kesimpulan	60

5.2. Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN.....	71



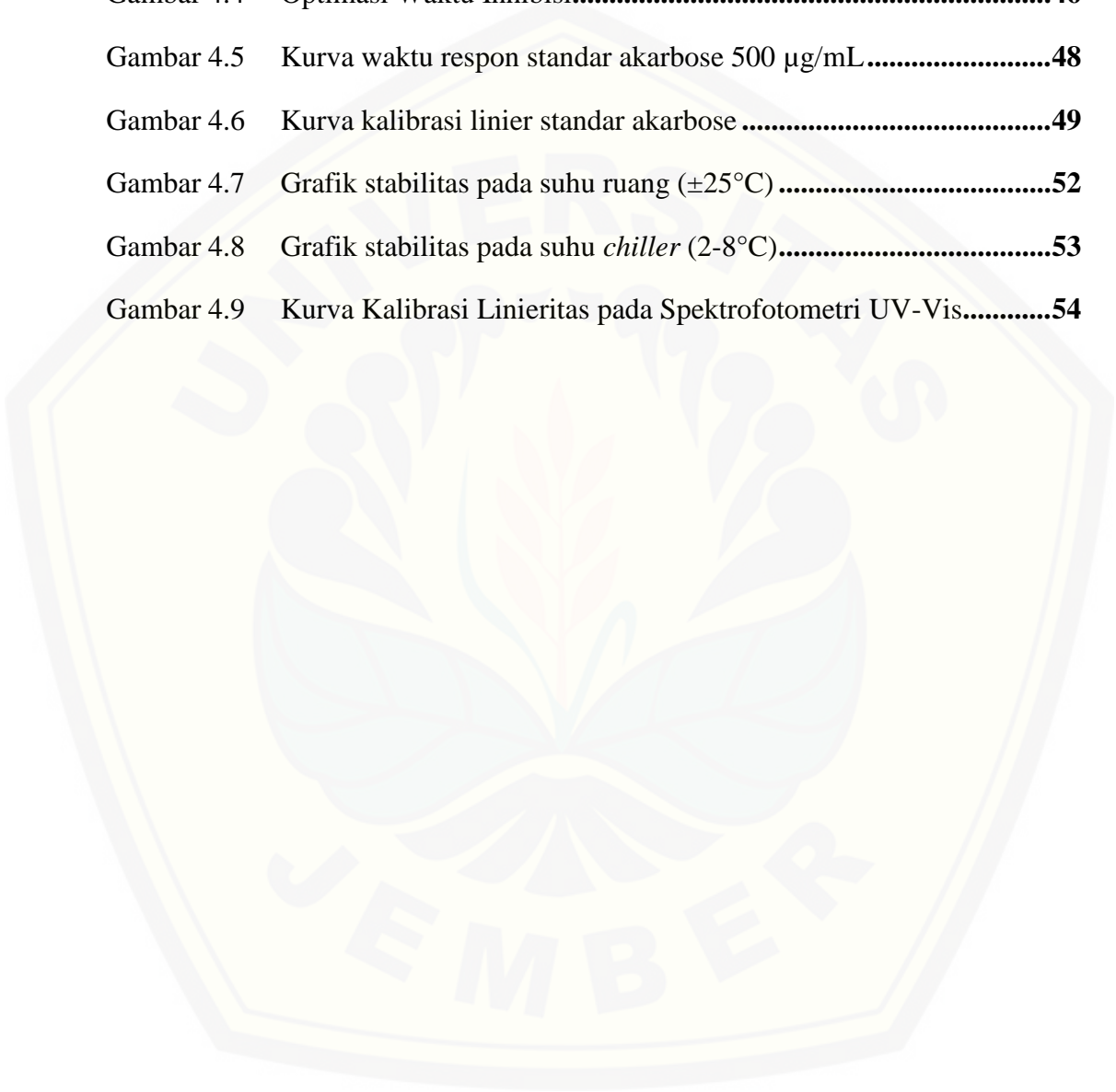
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Penggolongan dan Mekanisme Obat Antidiabetes	8
Tabel 2.2 Kriteria penerimaan presisi dan akurasi pada konsentrasi analit yang berbeda.....	26
Tabel 2.3 Komposisi Sainifikasi Jamu Antidiabetes	27
Tabel 4.1 Hasil Uji Presisi <i>Repeatability</i>	50
Tabel 4.2 Hasil Uji Presisi Antara	50
Tabel 4.3 Hasil pengukuran akurasi	51
Tabel 4.4 Hasil pengukuran % inhibisi dalam sampel dengan metode spektrofotometri dan biosensor	54
Tabel 4.5 Nilai ekuivalensi sampel terhadap akarbose.....	57
Tabel 4.6 Tabel perbandingan biosensor dengan penelitian lain.....	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Kimia Kuersetin	9
Gambar 2.2 Struktur Kimia Berberin	10
Gambar 2.3 Struktur Andrografolida	11
Gambar 2.4 Struktur Kimia Xantorizol	12
Gambar 2.5 Struktur Kimia Linalool	13
Gambar 2.6 Proses Hidrolisis oleh Enzim α -Glukosidase	16
Gambar 2.7 Reaksi enzimatik α -glukosidase	17
Gambar 2.8 Mekanisme Penghambatan α -Glukosidase	18
Gambar 2.9 Skema biosensor	19
Gambar 2.10 Metode adsorpsi	22
Gambar 2.11 Metode <i>entrapment</i>	22
Gambar 2.12 Metode ikatan kovalen	23
Gambar 2.13 Sambiloto	28
Gambar 2.14 Salam	29
Gambar 2.15 Temulawak	30
Gambar 2.16 Bagian dalam program <i>ImageJ</i>	31
Gambar 2.17 Alur penggunaan program <i>ImageJ</i>	31
Gambar 3.1 Diagram alur penelitian	33
Gambar 3.2 Desain biosensor.....	38
Gambar 3.3 Desain biosensor untuk optimasi volume.....	38
Gambar 3.4 Gambaran pengukuran warna pada biosensor	39
Gambar 3.5 Perubahan warna biosensor	39

Gambar 4.1	Hasil optimasi volume biosensor a) 15 μ L, b) 17 μ L, c) 20 μ L	43
Gambar 4.2	Optimasi Konsentrasi PNPG	44
Gambar 4.3	Optimasi Konsentrasi Na ₂ CO ₃	45
Gambar 4.4	Optimasi Waktu Inhibisi.....	46
Gambar 4.5	Kurva waktu respon standar akarbose 500 μ g/mL.....	48
Gambar 4.6	Kurva kalibrasi linier standar akarbose	49
Gambar 4.7	Grafik stabilitas pada suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$)	52
Gambar 4.8	Grafik stabilitas pada suhu <i>chiller</i> (2-8 $^{\circ}\text{C}$).....	53
Gambar 4.9	Kurva Kalibrasi Linieritas pada Spektrofotometri UV-Vis.....	54



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Optimasi konsentrasi PNPG	71
Lampiran B. Optimasi konsentrasi Na ₂ CO ₃	72
Lampiran C. Optimasi waktu inhibisi.....	73
Lampiran D. Waktu respon.....	74
Lampiran E. Linieritas	75
Lampiran F. LOD dan LOQ.....	76
Lampiran G. Presisi	77
Lampiran H. Akurasi	79
Lampiran I. Waktu pakai.....	80
Lampiran J. Pengukuran % inhibisi sampel pada biosensor	81
Lampiran K. Pengukuran sampel dengan spektrofotometer UV-Vis	83
Lampiran L. Perbandingan metode dengan SPSS (<i>Independent T-test</i>)	85
Lampiran M. Kemasan Biosensor	89

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa di atas batas normal (>200 mg/dl) yang disebabkan oleh gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (ADA, 2009). Penyakit ini erat kaitannya dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein sehingga memicu terjadinya komplikasi kronis seperti stroke, katarak, penyakit jantung, gangguan penglihatan serta penyakit ginjal (Trisnawati dan Setyorogo, 2013). DM menjadi penyakit yang tergolong banyak diderita di dunia. Berdasarkan *International Diabetes Federation*, sebanyak 463 juta masyarakat dunia terdata sebagai penderita DM pada tahun 2019. Indonesia sendiri menjadi salah satu dari sepuluh negara dengan pengidap DM tertinggi di dunia dengan jumlah 10,7 juta jiwa berdasarkan data survei tahun 2019. Jumlah ini diperkirakan akan mengalami kenaikan menjadi 13,7 juta jiwa tahun 2030 (Saeedi dkk., 2019). DM dapat memicu munculnya berbagai komplikasi lain pada tubuh, oleh karenanya penyakit ini sering mendapat julukan *the silent killer*.

Meskipun tidak dapat disembuhkan, banyak cara dapat dilakukan dalam rangka pencegahan komplikasi DM yaitu dengan pengendalian asupan makanan, aktivitas fisik dan penggunaan obat-obatan (PERKENI, 2015). Terkait pengobatan DM, saat ini banyak penelitian dilakukan untuk menemukan agen antidiabetes yang berasal dari tumbuhan yang diharapkan dapat mengatasi permasalahan efek samping dan harga obat sintetik yang relatif mahal (Wardani, 2010; Marriane dkk., 2011). Penelitian potensi antidiabetes pada tumbuhan dapat dilakukan dengan metode *in silico*, *in vivo* dan *in vitro*. Metode *in silico* umumnya dilakukan dengan *molecular docking* secara komputasi sedangkan metode *in vivo* dilakukan pada hewan coba yang telah diberi perlakuan untuk diukur kadar gula darahnya. Metode *in vitro* dapat dilakukan dengan mekanisme pengujian efektivitas sekresi insulin, ekspresi transporter glukosa (GLUT-4), penghambatan enzim pendegradasi inkretin, dan transaktivasi faktor transkripsi terhadap insulin (Lestari

dkk., 2012; Sagbo dkk., 2018; Alsawalha dkk., 2019; Ngo dkk., 2019). Penghambatan enzim pemecah karbohidrat kompleks menjadi lebih sederhana seperti α -glukosidase dan α -amilase juga umum dilakukan pada metode *in vitro* (Nugraha dan Hasanah, 2018). Ditinjau dari metode-metode tersebut, metode *in vitro* menjadi pilihan karena lebih mudah, murah, prosedur kerja yang cepat dan dapat mengurangi penggunaan hewan uji. Berdasarkan beberapa macam mekanisme uji antidiabetes secara *in vitro* diatas, inhibisi α -glukosidase menjadi mekanisme pengujian yang telah banyak dilakukan.

Pengujian inhibisi α -glukosidase pada umumnya dilakukan dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis (Hadiarti, 2017; Holidah dkk., 2018; Mahargyani, 2019). Pengujian ini dilakukan dengan prinsip pengukuran kadar *p*-Nitrofenol (*p*-NP) yang merupakan produk hasil katalisis α -glukosidase terhadap substrat *p*-nitrofenil α -D-glukopiranosida (PNPG) (Ariani dkk., 2017). Produk ini akan membentuk warna kuning dan dideteksi oleh spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pada inhibisi α -glukosidase, warna kuning yang terbentuk akan semakin memucat (tidak berwarna) sebanding dengan kekuatan penghambatan senyawa uji terhadap enzim. Spektrofotometri memiliki tingkat keakuratan tinggi selain itu penerapan prosedur dapat dilakukan dengan mudah untuk menentukan kuantitas zat yang sangat kecil. Kelebihan ini sangat mendukung untuk mendapatkan data analisis yang baik namun disisi lain metode ini juga memiliki kekurangan diantaranya waktu pengerjaan yang lama, perlunya operator khusus dan harga alat yang mahal. Jumlah dan harga reagen yang mahal juga perlu diperhitungkan karena volume reagen yang dibutuhkan dalam metode ini relatif besar. Wadah sampel biasanya menggunakan kuvet atau *microwell*, dimana volume cairan dalam kuvet berkisar antara 1-1,5 mL dan 260 μ L pada *microwell*. Kendala lain juga dapat terjadi ketika peneliti melakukan skrining agen antidiabetes pada tanaman saat dilapangan secara langsung sehingga metode ini menjadi sulit dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, diperlukan metode alternatif yang lebih efektif dan efisien dimana salah satu metode yang telah banyak dikembangkan adalah biosensor (Abbaspour dkk., 2009).

Biosensor merupakan piranti yang dapat mengukur reaksi biologis dengan menghasilkan sinyal yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam suatu reaksi (Bhalla dkk., 2016). Sinyal respon yang dihasilkan dapat berupa sinyal listrik, termal atau optik (Perez dkk., 2015). Biosensor memiliki kelebihan yaitu desain yang cenderung lebih sederhana, kemudahan pembuatan, penggunaan yang tidak memerlukan keterampilan khusus dan sensitivitasnya yang tinggi. Selain itu, biaya instrumentasi pada biosensor dapat lebih rendah (Kawamura dan Miyata, 2016). Penelitian skrining potensi antidiabetes dengan biosensor menggunakan enzim α -glukosidase telah dilakukan oleh Mohiuddin dkk (2016) secara elektrokimia. Penelitian lain dilakukan oleh Guo dkk (2019) pada kertas dengan teknik *3D-printing* kemudian dideteksi perubahan warna yang terjadi. Dalam biosensor, pemanfaatan perubahan warna menjadi salah satu prinsip yang saat ini banyak dikembangkan. Prinsip ini disebut dengan kolorimetri yang terjadi akibat reaksi kimia tertentu antara analit dan bahan/reagen (Lin dkk., 2018). Warna yang dihasilkan dapat dikuantitasi dengan aplikasi pengukur intensitas warna digital yang memudahkan pemakaian dan biaya rendah.

Berdasarkan pertimbangan diatas, dalam penelitian ini dikembangkan biosensor untuk skrining aktivitas antidiabetes pada ekstrak tanaman obat yang didesain dalam bentuk zona mikro pada plastik. Jenis plastik yang digunakan dalam penelitian ini adalah polipropilen karena mudah dibentuk dan harganya relatif murah. Fabrikasi biosensor dilakukan dengan mengimobilisasi enzim α -glukosidase pada permukaan area deteksi dan dikeringkan. Mekanisme yang digunakan berupa inhibisi enzim α -glukosidase dimana adanya senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes dalam suatu tumbuhan akan berikatan dengan sisi aktif enzim sehingga jumlah PNPG yang diubah menjadi para-nitrofenol (*p*-NP) akan semakin sedikit. Hal inilah yang menyebabkan semakin besar potensi antidiabetes suatu tumbuhan, warna kuning yang seharusnya dihasilkan menjadi semakin memudar (pucat). Pengukuran dilakukan menggunakan aplikasi *ImageJ* pada *laptop* sehingga hemat biaya, mudah dan cepat. Penelitian ini menggunakan sampel ekstrak sambiloto, daun salam dan temulawak yang dipercaya secara empiris dapat digunakan dalam pengobatan diabetes. Tanaman tersebut telah

diresepkan dan digunakan sebagai obat antidiabetes pada pasien penderita DM di puskesmas Gondomanan Yogyakarta (Febriyanti dkk., 2014). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Materia Medika Batu Malang.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana kondisi optimum fabrikasi biosensor (volume biosensor, konsentrasi reagen dan waktu inhibisi) berbasis plastik zona mikro terhadap perubahan intensitas warna pada area deteksi?
2. Bagaimana karakteristik (waktu respon, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, presisi, akurasi, dan waktu pakai) biosensor berbasis plastik zona mikro?
3. Bagaimana aplikasi biosensor berbasis plastik zona mikro terkarakterisasi untuk skrining aktivitas antidiabetes pada ekstrak tanaman obat?

1.3. Tujuan Penelitian

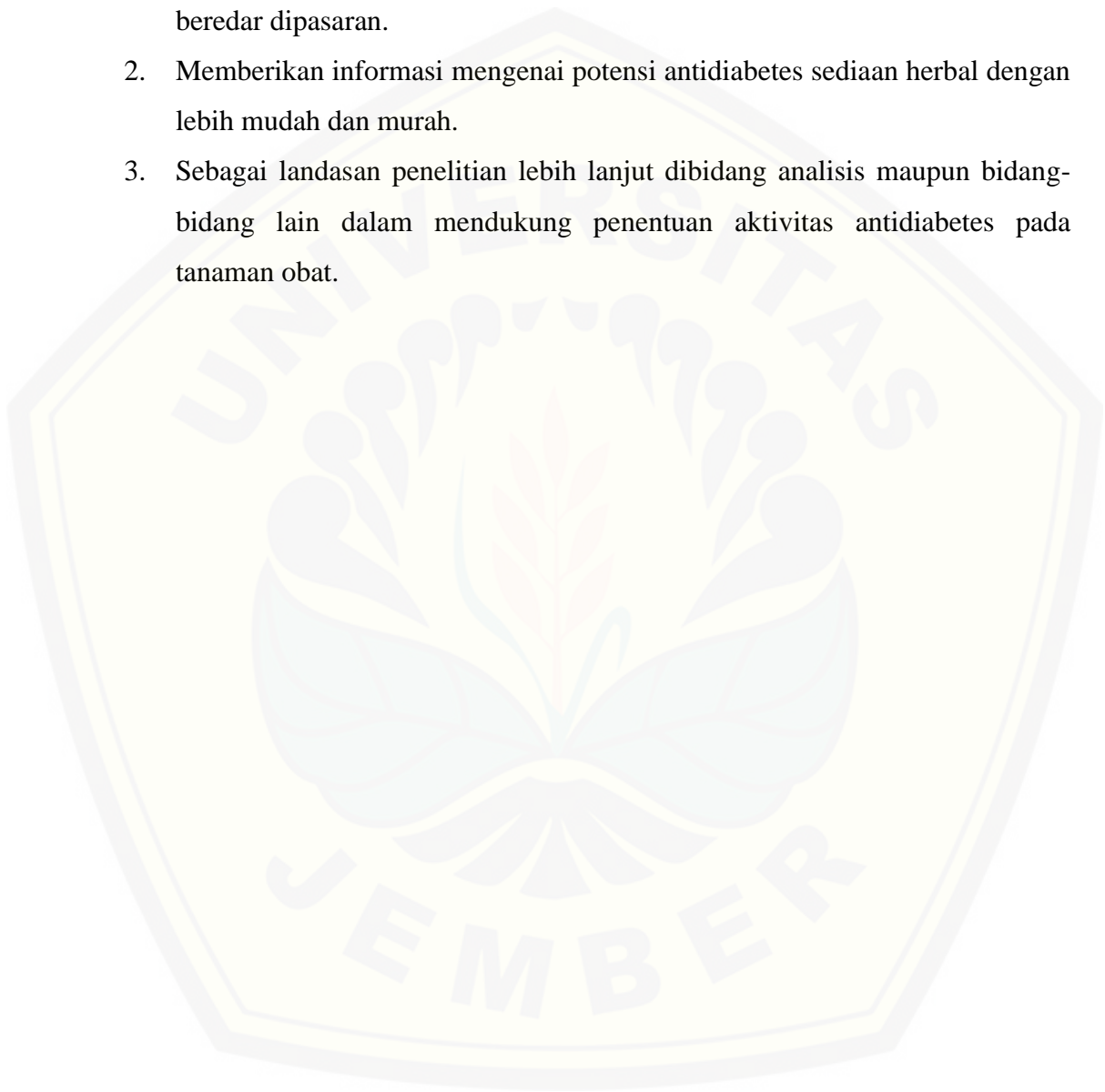
Adapun tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui kondisi optimum fabrikasi biosensor (volume biosensor, konsentrasi reagen dan waktu inhibisi) berbasis plastik zona mikro terhadap perubahan dan intensitas warna pada area deteksi.
2. Mengetahui karakteristik (waktu respon, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, presisi, akurasi, dan waktu pakai) biosensor berbasis plastik zona mikro.
3. Mengetahui aplikasi biosensor berbasis plastik zona mikro terkarakterisasi untuk skrining aktivitas antidiabetes pada ekstrak tanaman obat dibandingkan dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

1.4. Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini antara lain :

1. Memberikan pengetahuan tentang teknologi biosensor yang dapat digunakan untuk mendeteksi potensi antidiabetes pada sediaan herbal yang beredar dipasaran.
2. Memberikan informasi mengenai potensi antidiabetes sediaan herbal dengan lebih mudah dan murah.
3. Sebagai landasan penelitian lebih lanjut dibidang analisis maupun bidang-bidang lain dalam mendukung penentuan aktivitas antidiabetes pada tanaman obat.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Diabetes Melitus (DM)

2.1.1. Definisi

DM merupakan gangguan metabolisme yang dihubungkan dengan kadar glukosa dalam darah yang mengalami peningkatan di atas batas normal (>200 mg/dL). Penyakit ini dikaitkan dengan adanya gangguan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak akibat gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. DM menunjukkan gejala khas seperti sering haus, frekuensi buang air kecil meningkat, penglihatan kabur, dan penurunan berat badan (Alberti dan Zimmet, 1998).

2.1.2. Penggolongan

Menurut *American Diabetes Association*, DM diklasifikasikan menjadi DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional dan DM dengan sebab spesifik. DM tipe 1 ditandai dengan adanya anti-GAD (*glutamic acid decarboxylase*), autoantibodi sel pulau langerhan atau autoantibodi insulin yang mengarah pada penghancuran sel β pankreas sehingga insulin dalam tubuh mengalami defisiensi (Alberti dan Zimmet, 1998; ADA, 2009). Terdapat beberapa bentuk DM tipe 1 yang tidak diketahui penyebabnya. Diabetes jenis ini digolongkan dalam diabetes idiopatik. Pada beberapa pasien, khususnya anak-anak dan remaja, manifestasi pertama dapat ditandai oleh timbulnya ketoasidosis.

Gangguan sekresi insulin dengan atau tanpa adanya resistensi insulin merupakan penyebab timbulnya DM tipe 2 (Alberti dan Zimmet, 1998). Resistensi insulin menyebabkan pembentukan glukosa basal oleh liver meningkat akibat proses glukoneogenesis. Selain itu, gangguan kinerja insulin akan berdampak pada turunnya oksidasi glukosa dan sintesis glikogen serta terganggunya transport glukosa pada sel otot (PERKENI, 2015). Risiko timbulnya diabetes tipe 2 dapat mengalami peningkatan akibat penambahan usia, obesitas, dan kurangnya aktivitas fisik (ADA, 2019).

DM gestasional merupakan intoleransi glukosa dengan onset atau disadari selama kehamilan. Wanita hamil yang termasuk dalam populasi berisiko tinggi diantaranya wanita dengan berat badan melebihi normal, wanita usia tua, memiliki riwayat intoleransi glukosa, wanita hamil yang mengalami peningkatan kadar glukosa darah puasa, riwayat diabetes keluarga, memiliki riwayat diabetes gestasional, termasuk kelompok etnis berisiko tinggi (WHO, 2006).

Diabetes dengan sebab spesifik merupakan diabetes yang disebabkan oleh adanya penyakit lain seperti kelainan endokrin atau pankreas dimana hal ini dapat menyebabkan gangguan pada produksi insulin (Suherman dan Nafrialdi, 2011).

2.1.3. Komplikasi

Diabetes dapat menyebabkan komplikasi apabila tidak tepat dalam penanganan. Komplikasi tersebut dapat berupa komplikasi makrovaskuler dan mikrovaskuler. Komplikasi makrovaskuler terjadi akibat sumbatan pada pembuluh darah besar seperti jantung dan otak sedangkan komplikasi mikrovaskuler terjadi akibat adanya sumbatan pada pembuluh darah kecil (Yuhelma dkk., 2015). Pada komplikasi makrovaskuler, pasien dapat menderita penyakit kardiovaskuler seperti serangan jantung dan stroke yang merupakan penyebab kebanyakan kasus kematian pada pasien DM. Pada komplikasi mikrovaskuler, penyumbatan pembuluh darah kecil dapat menyebabkan penyakit ginjal (diabetes nefropati), penyakit saraf (diabetes neuropati), dan penyakit mata (diabetes retinopati). Diabetes neuropati terjadi akibat glukosa darah dan tekanan darah terlalu tinggi dimana yang umum terkena ekstremitas adalah bagian kaki. Kondisi ini sering disebut neuropati perifer yang menyebabkan nyeri, kesemutan bahkan mati rasa. Pada kasus diabetes retinopati, pasien akan mengalami penurunan daya penglihatan atau kebutaan (IDF, 2020).

2.2. Tinjauan Tentang Antidiabetes

2.2.1. Penggolongan Obat Antidiabetes

Meskipun tidak dapat disembuhkan, DM dapat diobati dengan obat-obat antidiabetes untuk mencegah keparahan penyakit dan meminimalisir komplikasi yang dapat ditimbulkan. Saat ini, obat antidiabetes sintesis secara komersial telah digunakan untuk membantu menurunkan kadar gula darah pasien. Obat antidiabetes sendiri dibedakan atas beberapa golongan, diantaranya golongan biguanida, golongan inhibitor DPP-4, golongan sulfonilurea, golongan tiazolidindion, golongan meglitinid, dan golongan inhibitor α -glukosidase (Ganesan dan Sultan, 2019). Golongan tersebut memiliki mekanisme kerja yang beragam. Mekanisme obat antidiabetes berdasarkan golongannya dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Penggolongan dan Mekanisme Obat Antidiabetes (Ganesan dan Sultan, 2019)

Golongan	Mekanisme	Contoh Obat
Biguanida	Meningkatkan aktivitas protein kinase teraktivasi pada hati sehingga mengurangi glukoneogenesis dan lipogenesis. Golongan ini juga meningkatkan penyerapan glukosa yang dimediasi insulin dalam otot	Metformin
Inhibitor DPP-4	Menghambat enzim <i>dipeptidyl peptidase 4</i> (DPP-4) dan memperpanjang aksi <i>glucagon like peptide</i> (GLP 1)	Sitagliptin, Linagliptin
Sulfonilurea	Mengikat saluran kalium adenosin trifosfat (K-ATP) dalam sel beta pankreas sehingga menyebabkan stimulasi sekresi insulin	Glibenklamid, Glimepirid, Glipizid
Tiazolidindion	Mengikat <i>peroxisome proliferator-activated receptor</i> (PPAR) sehingga dapat meningkatkan penyerapan glukosa perifer dan mengurangi produksi glukosa	Rosiglitazon, Pioglitazon
Meglitinid	Merangsang insulin dengan menutup kanal K-ATP sel β langerhan pankreas	Repaglinid, Nateglinid
Inhibitor α -glukosidase	Menghambat kinerja enzim α -glukosidase	Akarbose, Miglitol, Viglibos

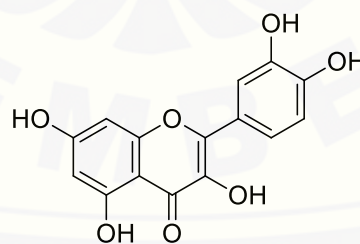
2.2.2. Senyawa Antidiabetes pada Tumbuhan

Pencarian agen antidiabetes sudah banyak dilakukan baik dari senyawa hasil sintesis maupun dari bahan alam. Penelitian dalam rangka pencarian potensi agen antidiabetes dari bahan alam sendiri telah banyak dilaporkan dimana objek yang paling banyak dibahas adalah tumbuhan. Banyak senyawa yang diisolasi dari tumbuhan diketahui memiliki aktivitas antidiabetes. Beberapa komponen aktif dalam bahan alam yang berpotensi memiliki aktivitas antidiabetes menurut Salehi dkk (2019) diantaranya sebagai berikut:

1. Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa metabolit tersusun dari dua cincin benzen yang diikat oleh ikatan 3 karbon pendek. Flavonoid diklasifikasikan dalam enam kelompok yaitu antosianidin, flavanol, flavonol, flavon, flavanon, dan isoflavon. Flavonoid menjadi metabolit sekunder yang paling banyak dikenal dalam pengujian antidiabetes dibandingkan senyawa fitokimia lain (Aba dan Asuzu, 2018). Flavonoid banyak ditemukan dalam buah-buahan, biji-bijian, teh, sayuran, akar, batang, kulit kayu, bunga dan anggur (Panche dkk., 2016).

Sarian dkk (2017) menjelaskan bahwa kelompok dihidroksil pada posisi C-3 dan C-4 (katekol) dari flavonoid efektif terkonjugasi dengan situs aktif glukosidase. Flavonoid kuersetin menjadi senyawa yang telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes (Gambar 2.1).



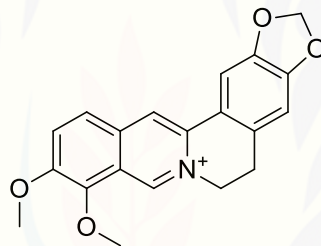
Gambar 2.1 Struktur Kimia Kuersetin (Gaikwad dkk., 2014)

Pada penelitian Are dkk (2011) kuersetin dilaporkan dapat menurunkan glukosa darah pada tikus diabetes yang diprediksi bekerja dengan merangsang sel- β pankreas untuk menghasilkan lebih banyak insulin. Kandungan kuersetin pada

tumbuhan *Chamaecostus cuspidatus* telah dilaporkan dapat menurunkan kadar gula dan resiko pembekuan darah pada dosis 50 mg/kg (Gaikwad dkk., 2014).

2. Alkaloid

Alkaloid adalah metabolit sekunder tumbuhan dan ditemukan juga pada bakteri, jamur dan hewan. Alkaloid memiliki paling sedikit satu atom nitrogen yang sebagian besar menjadi bagian dari cincin heterosiklik (Aba dan Asuzu, 2018). Hal inilah yang menyebabkan alkaloid kebanyakan bersifat basa. Secara umum alkaloid indol, isoquinolin, amino, dan terpenoidal telah dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes (Sharma dkk., 2014). Salah satu contoh alkaloid isoquinolin yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes adalah berberin Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Kimia Berberin

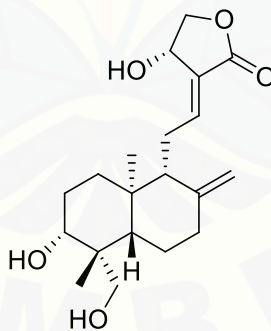
Pada penelitian Meskheli dkk (2011) kandungan berberin dari batang *Phellodendron lavalei* dilaporkan dapat menurunkan gula darah, frekuensi makan dan buang air kecil tikus dengan dosis ekstrak 400 mg/kg. Mekanisme lain dari berberin juga telah dilaporkan oleh Dulić dkk (2019). Pada penelitian ini, berberin dari kulit akar *Berberis vulgaris* menunjukkan penghambatan enzim α -amilase dan glukosidase yang lebih besar dari larutan 1 mg/mL akarbosa. Saat ini, berberin telah digunakan sebagai suplemen makanan khususnya untuk pasien penderita diabetes, kolesterol dan tekanan darah tinggi.

3. Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa kimia yang terdiri dari beberapa unit isopren (C_5H_8). Sebagian besar struktur terpenoid berbentuk siklik dan mempunyai satu gugus fungsi atau lebih. Terpenoid telah dimanfaatkan pada bidang yang luas seperti obat-obatan, bahan penyedap, wewangian, dan bahan bakar alternatif (Salehi dkk., 2019). Beberapa golongan terpenoid yang telah dilaporkan berpotensi sebagai agen antidiabetes adalah sebagai berikut:

a. Andrografolida

Andrografolida merupakan senyawa aktif golongan triterpenoid pentasiklik yang banyak ditemukan pada tumbuhan sambiloto. Kandungan andrographolida sendiri lebih banyak ditemukan dalam daun daripada bagian batang (Tamayanti dkk., 2015). Menurut Aba dan Asuzu (2018) konjugat asam andrografolida-lipoeat ditemukan dapat merangsang sekresi insulin, mengurangi kadar glukosa dalam darah, dan melindungi sel β pankreas. Andrografolida pada daun sambiloto dilaporkan dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus yang telah diinduksi streptozosin. Struktur andrografolida dapat dilihat pada Gambar 2.3.

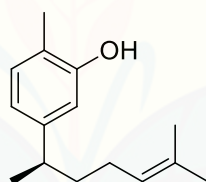


Gambar 2.3 Struktur Andrografolida (Panche dkk., 2016)

Pada penelitian Subramanian dkk (2008), ekstrak etanol sambiloto menunjukkan aktivitas penghambatan yang baik terhadap enzim α -glukosidase namun lemah terhadap enzim α -amilase pada konsentrasi ekstrak 20% (v/v). Hal ini didukung oleh penelitian Tamayanti dkk (2015) yang melaporkan bahwa kandungan andrografolida pada sambiloto memiliki aktivitas antidiabetes melalui penghambatan enzim α -glukosidase yang potensial.

b. Xantorizol

Xantorizol merupakan suatu senyawa seskuiterpenoid yang menjadi kandungan mayoritas dalam *Curcuma xanthorrhiza* (Oon dkk., 2015). Mekanisme xantorizol sebagai antidiabetes secara *in vivo* telah dilaporkan oleh Kurniawaty dan Lestari (2016) dengan mencegah kenaikan kadar gula darah berlebih dan resistensi insulin secara efektif pada tikus yang diinduksi streptozosin. Pada penelitian Fi dan Aam (2014) telah dilaporkan bahwa temulawak menunjukkan efek yang signifikan pada jumlah akumulasi lipid dan konsumsi glukosa pada konsentrasi 100 μg / mL ekstrak air temulawak. Mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase temulawak telah dilaporkan oleh Nurcholis dkk., (2018) dimana pada konsentrasi α -glukosidase 25 μl (0.2 Unit/mL) diperoleh IC_{50} pada $339,05 \pm 38,54$ g / mL hingga $455,01 \pm 33,48$ g / mL. Selain mekanisme diatas, xantorizol dilaporkan dapat mencegah kerusakan sel akibat stress oksidatif sehingga dapat mencegah kemungkinan terjadinya komplikasi diabetes (Setiawan dkk., 2005). Struktur xantorizol ditunjukkan pada Gambar 2.4.

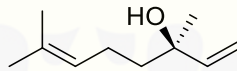


Gambar 2.4 Struktur Kimia Xantorizol (Nurcholis dkk., 2018)

c. Linalool

Linalool adalah senyawa golongan monoterpen dimana senyawa ini termasuk dalam komponen volatil utama dari minyak esensial yang memiliki beragam aktivitas seperti antimikroba, antibakteri dan antivirus, serta aktivitas anti-inflamasi, analgesik dan anestesi lokal. Selain itu, aktivitas antidiabetes linalool pada tikus diabetes telah dilaporkan More dkk., (2014) yakni dengan meningkatkan pemanfaatan glukosa periferik pada diafragma tikus. Linalool yang diisolasi dari ketumbar (*Coriandrum sativum*) telah dilaporkan dapat menurunkan kadar glukosa darah yang signifikan pada dosis 100 mg / kg. Ini juga menurunkan parameter lipid seperti kolesterol total, trigliserida total, bilirubin total, SGOT,

SGPT dan ALP bila dibandingkan dengan kontrol diabetes (Deepa dan Anuradha, 2011). Linalool juga dapat ditemukan pada salam (*Syzygium polyanthum*). Menurut More dkk., (2014) efek antidiabetes dari *S. polyanthum* dikaitkan oleh adanya kandungan monoterpen-linalool yang dapat menurunkan *uptake* glukosa sebesar 1,5 mg/gram pada konsentrasi 3 mM dibandingkan dengan 2 Unit insulin dengan *uptake* 1,8 mg/gram. Penelitian oleh Dewi dkk (2016) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun *S. polyanthum* efektif sebagai agen antihiperqlikemik dan antioksidan dengan dosis optimal 5,0 mg/kg. Struktur kimia linalool dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur Kimia Linalool

2.2.3. Uji Potensi Antidiabetes *In vitro*

Pengujian potensi antidiabetes dapat dilakukan dengan beberapa cara dimana *in vitro* menjadi metode yang banyak dipilih karena dapat memberikan kelebihan seperti biaya yang lebih rendah, perlakuan yang mudah dan mengurangi penggunaan hewan uji. Pengujian antidiabetes secara *in vitro* dibedakan menjadi beberapa metode sebagai berikut:

a. Inhibisi α -glukosidase

Inhibisi α -glukosidase memiliki prinsip penghambatan enzim α -glukosidase yang bekerja mengubah karbohidrat kompleks menjadi karbohidrat sederhana. Hal inilah yang mendasari penghambatan enzim α -glukosidase dapat menurunkan kadar gula darah dalam tubuh. Pengujian ini dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan PNPG sehingga terjadi reaksi enzimatik dan diinkubasi, reaksi dihentikan dengan Na_2CO_3 dan absorbansi dilihat pada panjang gelombang 400 nm (Nugraha dan Hasanah, 2018).

b. Uptake α -amilase

Enzim α -amilase mengkatalisis reaksi hidrolisis dari α -1,4-glikosidik polisakarida menjadi maltose, dekstrin, oligosakarida, dan D-glukosa. Uji penghambatan α -amilase dapat dilakukan dengan tiga metode yaitu dengan

modified starch iodine protocol, *dinitrosalicylic acid method* (DNSA), dan *starch iodine colour assay* (Nugraha dan Hasanah, 2018). DNSA merupakan metode dengan melakukan penambahan reagen DNSA ke dalam campuran sampel yang ditambahkan buffer natrium fosfat, larutan α amilase dan larutan pati kemudian dilihat pada panjang gelombang 540 nm. Pengujian dengan *starch iodine colour assay* merupakan modifikasi metode dari prinsip pewarnaan pati-iodin. *Modified starch iodine protocol* memiliki prosedur yang sama dengan pati iodin, namun dibedakan dengan penginkubasian yang lebih lama.

c. RIN-5F *cell lines*

RIN-5F merupakan hasil kloning dari sel β pankreas yang memiliki fungsi sama yaitu mensekresi insulin. Efek sekresi insulin terhadap penambahan obat dapat ditentukan menggunakan metode ini. Ketika sel RIN-5F ditambahkan sampel maka insulin akan disekresikan dengan jumlah nanogram per juta sel sesuai waktu yang ditentukan (Nugraha dan Hasanah, 2018).

d. Inhibisi DPP4

Uji ini dilakukan untuk melihat hambatan sampel terhadap enzim DPP4 yang berperan mendegradasi *glucagon like peptide-1* dan *gastric inhibitory polypeptide* (inkretin dalam tubuh). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sagbo dkk (2018) prosedur dilakukan dengan mereaksikan sampel atau kontrol positif pada larutan enzim DPP4 rekombinan pada 96-*well plate*. Reaksi dilanjutkan dengan inkubasi dan ditambahkan dengan substrat pNA dalam buffer dilanjutkan dengan proses inkubasi. Reaksi dihentikan dengan pemberian asam asetat dan diamati pada panjang gelombang 410 nm.

e. *Glucose uptake*

Pengambilan/ *uptake* glukosa pada jaringan perifer seperti otot rangka dan adiposit mempengaruhi jumlah glukosa dalam tubuh dimana terjadinya penurunan *uptake* glukosa akan mengakibatkan keadaan hiperglikemia. Berdasarkan penelitian Ngo dkk (2019) pengujian dilakukan dengan mereaksikan hasil kultur sel hati manusia (LO-2) dan ekstrak kemudian diinkubasi selama 48 jam. Tahap dilanjutkan dengan pergantian media kultur yang digunakan dengan buffer

inkubasi yang terdiri dari *phosphate buffer saline*, *bovine serum albumin* dan glukosa sebelum diinkubasi kembali selama 3 jam. Konsentrasi glukosa dalam supernatan kemudian ditentukan dengan alat uji glukosa.

f. Uji *Glucose Transporter-4 (GLUT-4) expression*

GLUT4 adalah transporter glukosa dengan afinitas tinggi yang sebagian besar diekspresikan dalam sel otot dan adiposit (Leto dan Saltiel, 2012). Transporter ini memperlancar perpindahan glukosa darah ke dalam sel otot rangka sehingga gangguan pada aktivitasnya dapat mengakibatkan hiperglikemia. Hal inilah yang menjadikan peningkatan ekspresi GLUT-4 sebagai salah satu target terapi pada pasien hiperglikemia (Abdul-Ghani dan Defronzo, 2010). Berdasarkan penelitian Alsawalha dkk (2019) uji ekspresi GLUT-4 dilakukan dengan menggunakan teknik *flow cytometry*. Tahap diawali dengan menginkubasi kultur *cell line* 3T3L1 pada suhu 37° C selama 24 jam. Media yang digunakan diambil dan sel direaksikan dengan 100 µg / mL senyawa uji. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah metformin 100 µM. Setelah 24 jam perlakuan, sisa media dalam *well-plate* dihilangkan dan sel dicuci dengan buffer fosfat salin. Sel kemudian ditripsinisasi dan diwarnai dengan antibodi GLUT4-FITC selama 30 menit dalam gelap dan antibodi yang tidak terikat dicuci dengan buffer fosfat salin. Pada penelitian ini analisis dilakukan menggunakan instrumen FACSCalibur dan perangkat lunak *CellQuest Pro* untuk analisis data.

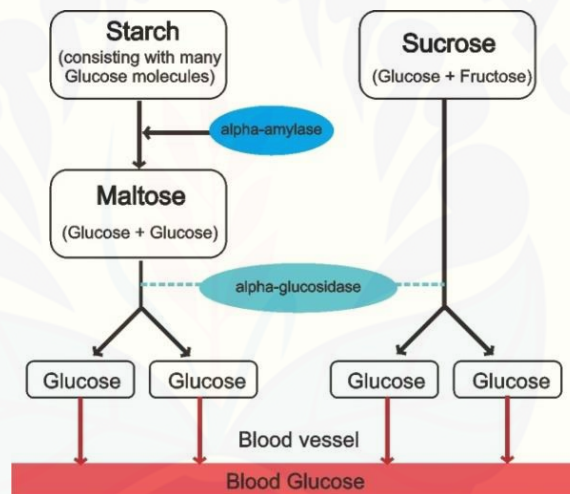
g. Transaktivasi *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR)*

Uji transaktivasi PPAR dilakukan untuk mengetahui aktivitas ikatan ligan PPAR. PPAR α and γ merupakan faktor transkripsi gen tertentu yang responsif terhadap insulin sehingga dapat meningkatkan aksi insulin (Fiévet dkk., 2006). Berdasarkan penelitian Lestari dkk (2012) prosedur pengujian dilakukan dengan transfeksi *human cell line* COS-7 selama 24 jam kemudian medium diganti dengan bufer fosfat salin dan sampel lalu dikulturasi selama 24 jam. Sel dibilas dengan bufer fosfat salin pada bagian dimana substrat ditambahkan. Intensitas ditentukan dengan *multiwell luminescence plate reader*. Aktivitas pengikatan

ligan PPAR γ dari sampel uji dinyatakan sebagai intensitas luminesensi relatif terhadap kontrol

2.2.4. Enzim α -Glukosidase

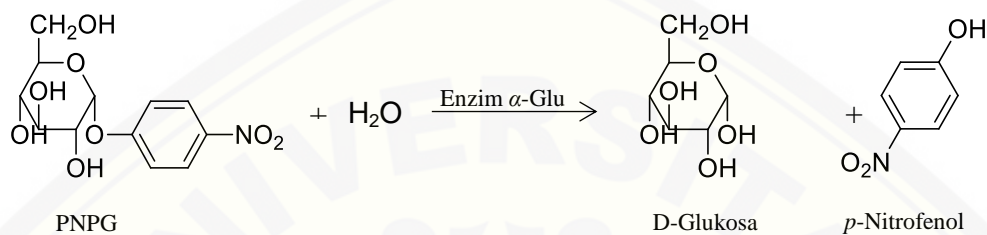
Dalam metabolisme karbohidrat, glikosidase berperan dalam katalisasi tahap akhir dengan cara menghidrolisis ikatan glikosidik (α -1,6 glikosida dan α -1,4-glikosida) pada oligosakarida untuk selanjutnya diubah menjadi monosakarida dan siap diserap oleh dinding usus (Gambar 2.6). Hal ini menyebabkan α -glukosidase memiliki peran penting dalam mempengaruhi kadar gula darah postprandial (Yang dkk., 2019).



Gambar 2.6 Proses Hidrolisis oleh Enzim α -Glukosidase (Yang dkk., 2019)

Agrawal dan Pandit (2003) menjelaskan bahwa isolasi α -glukosidase memiliki rentang pH antara 6,5-8. Dalam rentang tersebut, pH yang lebih asam akan membentuk enzim dengan jumlah lebih sedikit sedangkan pH yang lebih basa menyebabkan pengurangan jumlah pelepasan enzim. Pada kondisi bebas dan terimobilisasi, enzim ini menunjukkan suhu stabilitas yang berbeda. Menurut Ahmed dkk (2007) imobilisasi enzim pada *sepabead EC-EA* (sejenis adsorben sintetik) memiliki suhu reaksi optimal pada 40°C sedangkan pada enzim bebas suhu optimal terjadi pada 30°C. Penelitian tersebut juga melaporkan bahwa inkubasi enzim pada suhu 45°C selama 1 jam menyebabkan enzim dalam bentuk

bebas mengalami inaktivasi. Dalam penelitian *in vitro*, *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) menjadi substrat yang telah banyak digunakan. Menurut Loranza (2012) satu Unit enzim akan membebaskan 1,0 μ mol D-glukosa dari PNPG per menit pada pH 6,8 pada 37°C. Reaksi enzimatik α -glukosidase dapat dilihat pada Gambar 2.7.

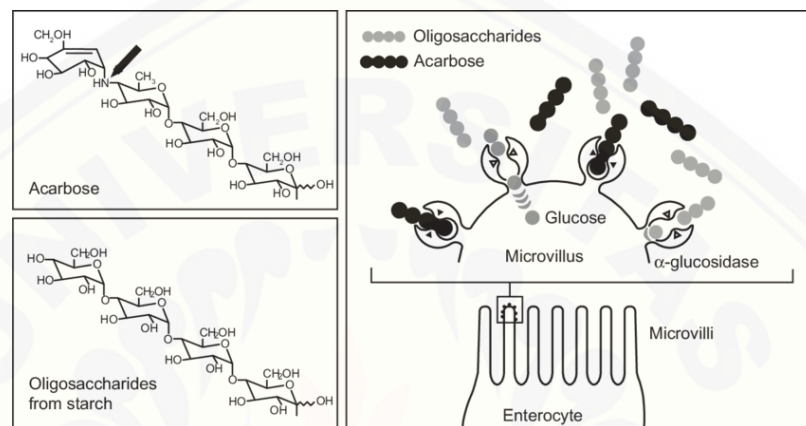


Gambar 2.7 Reaksi enzimatik α -glukosidase (Mohiuddin dkk., 2016).

Katalisasi hidrolisis PNPG menghasilkan para-Nitrofenol (*p*-NP) dan glukosa dimana jumlah *p*-NP yang dihasilkan sebanding dengan substrat (Timur dan Anik, 2007). Larutan *p*-NP nampak tidak berwarna di bawah pH 5,4 dan kuning di atas pH 7,6 (Day dan A.L, 2002). Ketepatan pengukuran aktivitas enzim bergantung pada jumlah *p*-NP yang dapat terdeprotonasi dan hadir sebagai para-nitrofenolat yang berwarna kuning cerah sesuai pergeseran panjang gelombang maksimum dari 317 nm ($\text{pH} \leq 5$) ke 400 nm. Pengujian pada pH netral atau asam dapat menyebabkan hanya sebagian produk kromoforik yang terionisasi (Woods dan Walker, 2013). Hal ini dapat diatasi dengan menghentikan reaksi menggunakan larutan basa kuat.

Penggunaan ekstrak tanaman obat pada pengujian potensi antidiabetes akan menghambat hidrolisis PNPG yang terjadi. Perbedaan jumlah *p*-NP pada reaksi dengan adanya penghambatan dan tanpa adanya penghambatan menggambarkan potensi antidiabetes dari ekstrak tanaman atau obat (Mohiuddin dkk., 2016). Inhibitor α -glukosidase bekerja dengan menghambat enzim secara kompetitif berikatan pada sisi aktif enzim sehingga terjadi pengurangan jumlah *p*-NP yang dibebaskan. Selain α -glukosidase, golongan obat ini juga dapat menghambat kinerja enzim α -amilase yang menghidrolisis karbohidrat kompleks menjadi oligosakarida/disakarida diusus (Depkes RI, 2005). Salah satu contoh

obat golongan inhibitor α -glukosidase tersebut adalah akarbose. Gambar 2.8 menunjukkan mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase oleh akarbose dimana senyawa ini memiliki struktur yang mirip dengan oligosakarida sehingga terjadilah penghambatan secara kompetitif antara akarbose dan oligosakarida dengan sisi aktif enzim α -glukosidase.



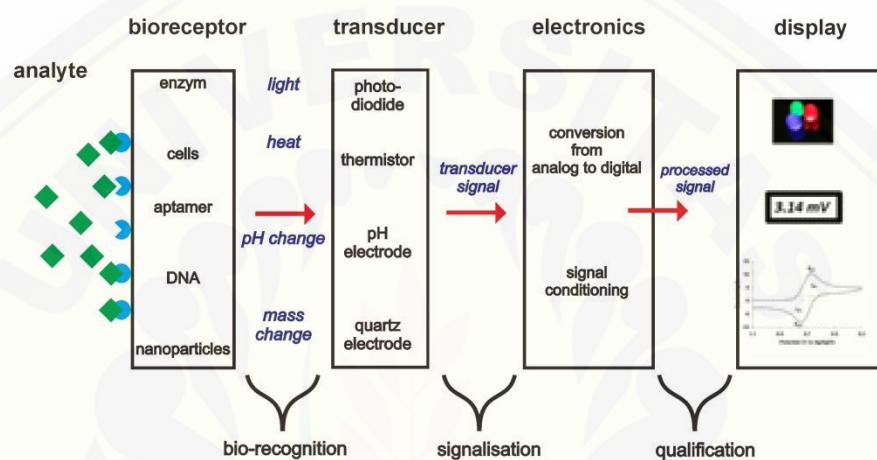
Gambar 2.8 Mekanisme Penghambatan α -Glukosidase (Rosak dan Mertes, 2012)

2.3. Tinjauan Tentang Biosensor

2.3.1. Definisi

Biosensor merupakan suatu piranti deteksi yang menggunakan materi biologi atau biomolekul dimana piranti ini terhubung dengan suatu transduser dan menghasilkan sinyal yang proporsional terhadap jumlah analit (Kuswandi, 2010). Penggunaan biosensor memiliki banyak manfaat diantaranya proses pengujian yang lebih cepat, fabrikasi sederhana dan sensitif terhadap substrat. Sinyal yang dihasilkan pada biosensor hanya bereaksi dengan analit tertentu baik secara kuantitatif maupun kualitatif (Kuswandi, 2010; Nguyen dkk., 2019). Biosensor menjadi bagian dari *point of care* yang sangat efektif dibandingkan sistem pengujian laboratorium yang membutuhkan biaya lebih tinggi, personel yang terlatih, portabilitas dan lamanya waktu tunggu hingga diperolehnya data (Cruz dkk., 2014).

Biosensor tersusun dari beberapa komponen seperti biodeteksi, transduser, dan pemrosesan sinyal seperti pada Gambar 2.9. Deteksi dan pengukuran oleh transduser akan terjadi apabila terdapat interaksi antara komponen biologi dengan sampel yang digunakan (Kuswandi, 2010). Interaksi spesifik antara analit dan reseptor akan menghasilkan perubahan fisikokimia pada permukaan transduser. Perubahan tersebut kemudian diubah menjadi sinyal terukur yang dapat digunakan untuk menentukan jumlah analit dalam sampel (Nguyen dkk., 2019).



Gambar 2.9 Skema biosensor (Bhalla dkk., 2016)

Biosensor dikategorikan ke dalam tiga kelompok berdasarkan mekanismenya yaitu: kelompok biokatalitik (enzim), kelompok bioafinitas (antibodi dan asam nukleat), dan kelompok berbasis mikroba (Mehrotra, 2016). Berbagai teknik transduksi dapat digunakan dalam perangkat biosensing, termasuk sensor elektrokimia, sensor efek medan, *acoustic-sensitive sensors* dan sensor optik (Bhalla dkk., 2016).

2.3.2. Biosensor Berbasis Enzim

Enzim merupakan protein globular yang terdiri dari 20 asam amino alami. Enzim berperan mengkatalisasi reaksi biokimia yang memiliki tingkat spesifisitas tinggi. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pembuatan biosensor berbasis enzim optik adalah keterampilan teknik imobilisasi dan transduser optik yang tepat (Kataria dkk., 2014). Selain itu, suhu dan pH lingkungan harus diperhatikan

karena sangat mempengaruhi aktivitas biokatalitik suatu enzim (Rocchitta dkk., 2016). Dibandingkan dengan metodologi analitis konvensional, biosensor berbasis enzim memiliki beberapa kelebihan, seperti portabilitasnya yang tinggi (miniaturisasi), sensitivitas dan spesifisitas tinggi (Nguyen dkk., 2019).

2.3.3. Fabrikasi Biosensor Enzim

Sejauh ini, bidang biosensor enzim terus mengalami perkembangan untuk mendapatkan fabrikasi yang efektif dan hasil pengukuran yang baik. Beragam modifikasi telah dilakukan dan memberikan banyak referensi pemilihan fabrikasi yang sesuai. Beberapa fabrikasi yang telah dikenal dalam bidang biosensor enzim sebagai berikut:

1. *Paper-based* biosensor

Kertas merupakan jenis bahan yang telah banyak digunakan dalam bidang sensor. Penggunaan kertas dinilai sederhana, fleksibel dan biaya rendah. Material kertas dalam sensor telah diuji pada substansi biologis (misalnya darah, urin, air liur, keringat) atau reagen kimia (misalnya ion logam berat dan gas hidrogen sulfida) (Singh dkk., 2018). Pada material kertas, deteksi yang paling sering digunakan didasarkan pada perubahan warna. Dalam metode ini, hasil dapat dievaluasi secara sederhana dari produk warna yang dihasilkan dan dapat dikuantifikasi menggunakan pemindai, kamera lensa tunggal, atau ponsel (Paquin dkk., 2015). Kertas yang digunakan kebanyakan jenis whatman karena memiliki kemampuan absorpsi dan retensi reagen yang baik. Beberapa penelitian yang mengembangkan kertas dalam biosensor enzim diantaranya Guo dkk (2019) untuk skrining senyawa aktif antidiabetes pada tumbuhan secara optik. Penentuan potensi antidiabetes juga dikembangkan secara elektrokimia oleh Mohiuddin dkk (2016).

2. *Gold-nanoparticle-based* (GNP) biosensor

Kolorimetri sejauh ini menjadi metode yang paling sering digunakan dalam biosensor berbasis GNP. Hal tersebut dikarenakan pengukuran sederhana, instrumentasi mudah, dan memiliki potensi *high-throughput assay* (Hutter dan

Maysinger, 2013). Pengujian dilakukan dengan mengontrol agregasi GNP atau dispersi yang ditentukan oleh tarikan antar-partikel dan repulsifitas. Berbagai faktor termasuk jenis target molekul atau enzim, ligan dan metode transduksi dapat mempengaruhi sensitivitas sensor berbasis GNP (Aldewachi dkk., 2018).

3. Lain lain

Dalam biosensor, telah banyak pengembangan dilakukan pada fabrikasi. Fabrikasi lain dari biosensor enzim menggunakan elektroda nanokomposit dikembangkan oleh Safavi dkk (2009). Sebuah biosensor yang memanfaatkan *prussian Blue nanoparticles* (PBNPs) telah dikembangkan untuk deteksi kadar glukosa pada anggur oleh Dai dkk (2018). Pada penelitian Hossain dan Park (2017), sebuah sensor glukosa amperometrik dikembangkan dengan cara imobilisasi enzim glukosa oksidase pada *graphene oxide* dengan elektroda modifikasi platinum dan GNP. Selain itu beberapa fabrikasi diatas, bahan plastik telah dikembangkan oleh Fitrianda (2016) sebagai material sensor kontrol stabilitas suppositoria menggunakan reagen kering. Plastik menjadi salah material yang mudah dibentuk dan harga terjangkau.

2.3.4. Teknik Imobilisasi pada Biosensor

Imobilisasi merupakan peristiwa pengikatan reagen (secara fisika maupun kimia) secara merata pada material pendukung yang memungkinkan terjadinya pertukaran dengan larutan sampel. Metode imobilisasi reagen dapat digolongkan menjadi dua yaitu metode fisika dan metode kimia. Metode imobilisasi secara fisika terdiri dari proses penjerapan (adsorpsi), pengkapsulan (enkapsulasi), dan pemerangkapan (*entrapment*). Imobilisasi secara kimia terdiri dari pembentukan ikatan kovalen dan *cros-linking* (Kuswandi, 2010).

1. Adsorpsi

Adsorpsi adalah salah satu metode imobilisasi yang paling mudah untuk dilakukan. Metode ini didasarkan pada ikatan lemah seperti gaya Van der Waal, interaksi elektrostatis, dan hidrofobik (Nguyen dkk., 2019). Berbagai material reagen baik organik maupun anorganik dapat diikat dengan metode ini

(Kuswandi, 2010). Imobilisasi reagen dengan teknik adsorpsi ditunjukkan pada Gambar 2.10. Keuntungan dari teknik adsorpsi adalah prosedur sederhana dan biaya yang murah karena tidak memerlukan reagen tambahan dan memiliki sedikit kemungkinan merusak atau mempengaruhi aktivitas enzim. Metode ini mudah dipengaruhi perubahan kondisi eksperimental, seperti suhu, pH, atau kekuatan ionik karena ikatan yang lemah pada matriks (Mohamad dkk., 2015).



Gambar 2.10 Metode adsorpsi (Kuswandi, 2010)

2. *Entrapment*

Metode *entrapment* memiliki prinsip yaitu menjebak biomaterial yang dibuat dalam bentuk larutan dan selanjutnya digunakan dalam pembuatan gel polimer sehingga enzim dapat terjebak didalam matriks gel tersebut. Polimer yang banyak digunakan adalah poliakrilamida yang dibuat dengan cara kopolimerisasi akrilamida dengan N,N-metilenbisakrilamida (Kuswandi, 2010). Imobilisasi reagen dengan teknik *entrapment* ditunjukkan pada Gambar 2.11. Kekurangan metode ini terletak pada matriks gel yang dapat mengganggu difusi substrat dalam ke situs aktif enzim. Selain itu, metode ini juga memiliki kapasitas pemuatan enzim yang rendah (Nguyen dkk., 2019).



Gambar 2.11 Metode *entrapment* (Kuswandi, 2010)

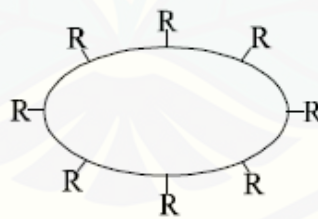
3. Enkapsulasi

Enkapsulasi merupakan teknik imobilisasi yang dilakukan dengan memerangkap biomolekul pada bagian permukaan membran semipermeabel

(Kuswandi, 2010). Nafion, polivinilklorida (PVC), polikarbonat, selulosa asetat, dan polianilin merupakan material membran yang banyak digunakan dalam metode enkapsulasi. Kelebihan teknik imobilisasi ini yaitu cukup stabil terhadap perubahan temperatur, komposisi kimia, kekuatan ion dan pH (Kuswandi, 2010).

4. Ikatan Kovalen

Tahap awal sebelum dilakukan pengikatan biomaterial pada media pendukung padat adalah mengaktivasi permukaan media dengan reagen (misalnya glutaraldehida atau karbodiimida) untuk kemudian dilakukan proses pemuatan biomaterial berlebih maupun tidak terikat. Media pendukung yang digunakan dapat berupa bahan anorganik (*controlled pore glass*), bahan alami (selulosa) atau polimer sintetik (nilon) (Sassolas dkk., 2012). Aktivitas biomaterial dengan ikatan kovalen bergantung pada ukuran dan bentuk bahan pembawa, sifat ikatan, komposisi bahan pembawa dan kondisi khusus selama pengikatan (Mohamad dkk., 2015). Kondisi yang harus diperhatikan dalam melakukan reaksi ini antara lain kekuatan ionik rendah, suhu rendah, dan pH dalam rentang fisiologis tubuh (Eggins, 1996). Aktivitas biomaterial pada media cenderung konstan sehingga tidak mudah terjadi pelepasan biomaterial saat digunakan. Imobilisasi reagen dengan teknik *entrapment* ditunjukkan pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Metode ikatan kovalen (Kuswandi, 2010)

5. Ikatan Silang (*cross-linking*)

Pada metode ini, biomaterial secara kimia terikat pada bahan pendukung (Eggins, 1996). Untuk membentuk *cross-linking* antara enzim, gugus amino bebas dari residu lisin dalam enzim bereaksi dengan pereaksi seperti glutaraldehida (GTA). Pendekatan imobilisasi dengan *cross-link* meningkatkan efisiensi dan stabilitas karena ikatan yang sangat kuat dan stabil. Disisi lain, penggunaan reagen *cross-linking* seperti GTA dapat menyebabkan kerugian yaitu hilangnya

aktivitas enzim (Nguyen dan Kim, 2017). Hal ini terjadi karena adanya distorsi konformasi enzim dan perubahan kimia dari situs aktif selama *cross-linking* (Sassolas dkk., 2012).

2.3.5. Karakterisasi Biosensor

Suatu metode perlu dilakukan karakterisasi atau validasi untuk menilai kelayakan metode dalam analisis. Menurut Harmita (2004) tindakan penilaian ini dilakukan terhadap parameter tertentu hingga diketahui apakah suatu parameter memenuhi persyaratan untuk penggunaan atau tidak. Beberapa parameter tersebut diantaranya:

1. Linieritas

Pengertian linieritas dalam Harmita (2004) dijelaskan sebagai kemampuan suatu metode analisis dalam menghasilkan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik dan proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ada ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linieritas yang dapat diterima. Parameter linieritas suatu metode dapat dilihat dari nilai koefisien korelasi (r) pada persamaan regresi linier $Y = a + bX$. Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis. Dalam pengujian inhibisi enzim kurva Y berupa nilai % inhibisi yang dapat dihitung dengan rumus pada persamaan 2.1.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\Delta \text{mean Blue SI} - \Delta \text{mean Blue S}_{\text{etI}}}{\Delta \text{mean Blue SI}} \times 100 \% \dots \dots \dots 2.1$$

Keterangan:

$\Delta \text{mean Blue SI}$ = $\Delta \text{mean Blue}$ sebelum inhibisi

$\Delta \text{mean Blue S}_{\text{etI}}$ = $\Delta \text{mean Blue}$ setelah inhibisi

2. Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi

Batas kuantitasi merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004). Batas

kuantifikasi dapat pula disebut LOQ (*Limit Of Quantification*). Perhitungan parameter ini dapat dilakukan sesuai persamaan 2.2.

$$LOQ = 10S_{bl}/m \dots \dots \dots 2.2$$

Batas deteksi atau LOD (*Limit Of Detection*) diartikan sebagai konsentrasi terkecil analit yang dapat dideteksi oleh sensor pada tingkat konfidensial tertentu (biasanya pada 95%). Secara matematis penentuan LOD dapat dihitung sesuai persamaan 2.3-2.5.

$$S_m = S_{avg,bl} + K_{sbl} \dots \dots \dots 2.3$$

$$C_m = (S_m - S_{avg,bl})/m \dots \dots \dots 2.4$$

$$C_m = K_{sbl}/m \dots \dots \dots 2.5$$

Keterangan:

S_m = sinyal minimum yang dapat dideteksi

$S_{avg,bl}$ = rata-rata sinyal blanko

S_{bl} = standar deviasi sinyal blanko

C_m = konsentrasi minimum yang masih dapat dideteksi

m = *slope* kurva kalibrasi

k = nilai perkalian variasi sinyal blanko

3. Presisi

Dalam Harminta (2004) presisi merupakan parameter yang menunjukkan derajat kesesuaian hasil uji individual yang dilakukan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Penentuan presisi dapat dilakukan dengan menghitung standar deviasi relatif dari pengukuran menggunakan Persamaan 2.6-2.7. Suatu metode dinyatakan presisi memenuhi kriteria penerimaan RSD pada Tabel 2.2.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(y-\bar{y})^2}{n-1}} \dots \dots \dots 2.6$$

$$RSD = \frac{SD}{X} \times 100\% \dots\dots\dots 2.7$$

Tabel 2.2 Kriteria penerimaan presisi dan akurasi pada konsentrasi analit yang berbeda (Yuwono dan Indrayanto, 2005)

Konsentrasi analit (%)	Unit	Mean recovery (%)	Presisi (RSD, %)
100	100%	98 – 102	1,3
≥10	10%	98 – 102	1,8
≥1	1%	97 – 103	2,7
≥0,1	0,1%	95 – 105	3,7
0,01	100 ppm	90 – 107	5,3
0,001	10 ppm	80 – 110	7,3
0,0001	1 ppm	80 – 110	11
0,00001	100 ppb	80 – 110	15
0,000001	10 ppb	60 – 115	21
0,0000001	1 ppb	40 – 120	30

4. Akurasi

Akurasi merupakan nilai yang menggambarkan kedekatan respon sensor terhadap nilai sebenarnya. Akurasi dapat juga diartikan sebagai kesesuaian antara rata-rata respon sensor terhadap nilai yang sebenarnya sehingga pengukuran akurasi sering dilakukan dengan menghitung tingkat kesalahan baik absolut (E) maupun relatif (Er), seperti yang ditunjukkan pada persamaan 2.8-2.9. Pada penentuan akurasi, suatu metode dinyatakan akurat jika memenuhi kriteria penerimaan pada Tabel 2.2.

$$E = x_i - x_t \dots\dots\dots 2.8$$

$$Er = \frac{(x_i - x_t)}{x_t} \times 100\% \dots\dots\dots 2.9$$

Keterangan:

x_i = nilai individual respon sensor

x_t = nilai respon yang sebenarnya

5. Waktu Respon dan Waktu Pakai

Waktu respon adalah waktu yang dibutuhkan biosensor untuk menghasilkan respon yang stabil (*steady-state*) saat direaksikan dengan inhibitor. Waktu pakai sensor dapat dinyatakan sebagai waktu dimana sensor memberikan reaksi yang sama dan stabil terhadap suatu analit pada konsentrasi yang sama hingga mengalami penurunan drastis (biasanya lebih dari 15% dari respon sensor awal). Dengan diketahuinya waktu pakai sensor maka dapat ditentukan berapa lama dan berapa kali suatu sensor kimia dapat digunakan untuk pengukuran suatu analit (Kuswandi, 2010).

2.4. Tinjauan Tentang Sampel

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa ramuan tumbuhan yang dipercaya berkhasiat sebagai antidiabetes. Ramuan ini telah diresepkan sebagai saintifikasi jamu untuk menurunkan kadar gula darah pasien di Puskesmas Gondomanan Yogyakarta (Febriyanti dkk., 2014). Ramuan tersebut dikonsumsi dalam bentuk infusa dengan cara merebus simplisia kedalam 150 mL air dan dikonsumsi setiap dua kali sehari. Komposisi saintifikasi jamu antidiabetes tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Komposisi Saintifikasi Jamu Antidiabetes

Sampel	Berat
Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>)	5 gram
Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	3 gram
Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>)	5 gram

2.4.1. Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Klasifikasi Sambiloto

Kerajaan : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Solanaceae

Suku : Acanthaceae

Marga : *Andrographis*

Jenis : *Andrographis paniculata* (Siddhartha dkk., 2007).

Sambiloto termasuk tanaman obat tradisional yang umum ditemukan di daerah Asia Tenggara dari India ke Indo-Cina (Subramanian dkk., 2008). Sambiloto mempunyai beberapa nama daerah, diantaranya sambiloto atau andiloto (Jawa), ki oray atau ki peurat (Pasundan), ampadu tanah (Minang) (Hanan, 1996). Secara tradisional, sambiloto telah digunakan masyarakat sebagai antimikroba, antispasmodik, antidiare, antioksidan, antidiabetes, antikanker, antipiretik, hepatoprotektif, anti-inflamasi, dan beberapa penyakit menular lainnya (Niranjana dkk., 2010; Rajasekaran dkk., 2016). Morfologi sambiloto dapat dilihat pada Gambar 2.13.



Gambar 2.13 Sambiloto (Abu dkk., 2017)

2.4.2. Salam (*Syzygium polyanthum*)

Klasifikasi Salam

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Myrtaceae
Marga	: <i>Syzygium</i>
Jenis	: <i>Syzygium polyanthum</i> (Siddhartha dkk., 2007)

Salam mempunyai nama asing yaitu *salam leaf* (Inggris), daeng klua (Thailand), dan kelat samak (Malaysia). Di Indonesia tanaman ini juga dikenal dengan beberapa nama daerah yang berbeda, seperti ubar serai dan meselengan (Sumatra); manting dan salam (Jawa); gowok (Sunda); kastolam (Sumenep) (Ravindran, 2017). Daun salam dapat digunakan untuk mengatasi beberapa penyakit diantaranya DM, diare, gastritis, kudis/gatal, dan adstringen (Sumono dan Wulan, 2008). Morfologi salam dapat dilihat pada Gambar 2.14.



Gambar 2.14 Salam (Dalimartha, 2000)

2.4.3. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Klasifikasi Temulawak

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma xanthorrhiza</i> (Rukmana, 1995)

Temulawak memiliki beberapa nama daerah, diantaranya adalah temo lobak (Madura), koneng gede (Sunda), dan temu lawak (Indonesia). Temulawak sendiri telah banyak digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit seperti kanker, lambung, diabetes, inflamasi, infeksi bakteri, dan radikal bebas (Fi dan Aam, 2014; Novita dkk., 2015; Sylvester dkk., 2015). Morfologi temulawak dapat dilihat pada Gambar 2.15.



Gambar 2.15 Temulawak (Lim, 2016)

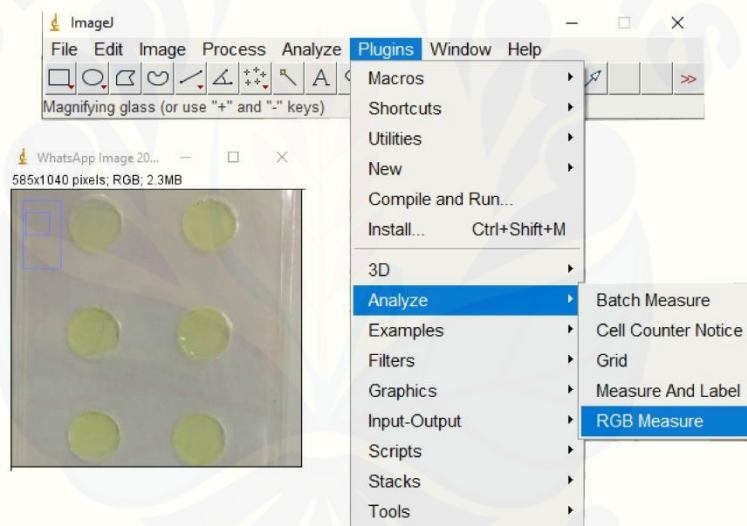
2.5. Tinjauan Tentang Aplikasi *ImageJ*

ImageJ merupakan program pada *laptop* yang digunakan untuk analisis gambar. Program ini terdiri dari beberapa bagian yaitu *tool bar*, *menu bar*, dan *status bar* (Gambar 2.16). Program ini telah banyak dimanfaatkan dibidang kesehatan dan biologi. Analisis gambar dalam *imageJ* dapat berupa ukuran objek dan intensitas warna pada gambar (Felipe dkk., 2006; Andrialovanirina dkk.,

2020). Dibidang sensor, *ImageJ* telah banyak digunakan seperti penelitian Li dkk (2019) pada sensor *Point of Care* pendeteksi tripsin dan Hui dkk (2018) pada sensor kertas untuk deteksi serum dan sampel biologi. Pengukuran intensitas warna dilakukan dengan mengarahkan kursor dengan bentuk yang dapat ditentukan pada menu pada koordinat gambar yang diukur dalam pixel/detik. Cara penggunaan program *ImageJ* dapat dilihat pada Gambar 2.17.



Gambar 2.16 Bagian dalam program *ImageJ*



Gambar 2.17 Alur penggunaan program *ImageJ*

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

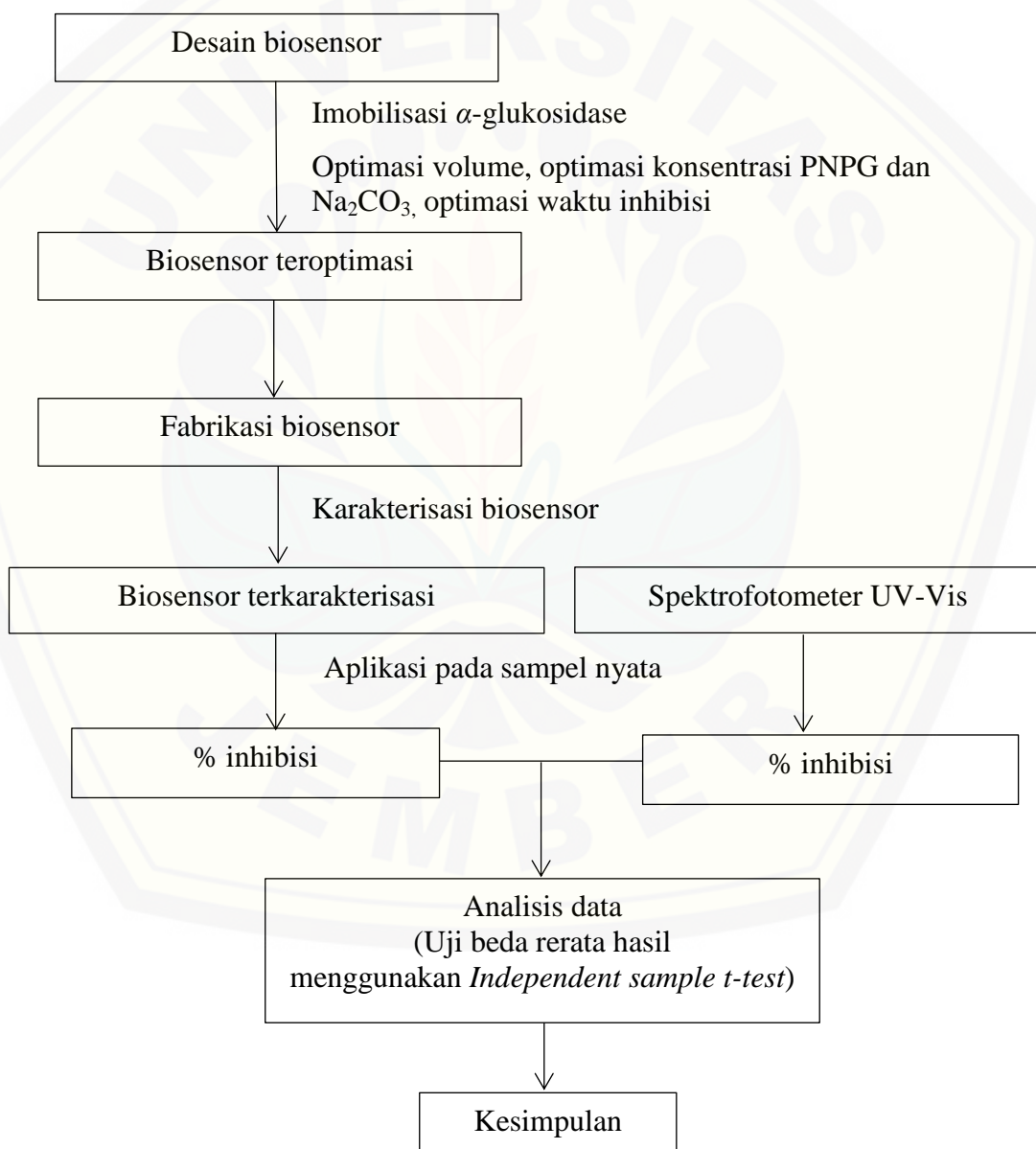
Penelitian ini dilakukan mulai bulan September 2019 sampai selesai, yang bertempat di Laboratorium Kimia Analisis dan Laboratorium Biosensor Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.3. Definisi Operasional

- a. Biosensor berbasis plastik zona mikro adalah biosensor yang dibuat dengan bahan plastik dengan volume area deteksi pada rentang satuan mikroliter.
- b. Zona mikro dibuat dengan memanaskan beberapa lapisan plastik kemudian dilubangi dengan diameter tertentu dan digunakan sebagai area deteksi.
- c. Biosensor dibuat dengan mengimobilisasikan enzim α -glukosidase pada bagian tengah area deteksi dan dikeringkan.
- d. α -Glukosidase merupakan enzim yang digunakan untuk mengkalisis pemecahan substrat PNPG menjadi D-glukosa dan *p*-NP.
- e. Pembentukan *p*-NP dari reaksi enzimatik tersebut akan menghasilkan warna kuning akibat protonisasi menjadi ion *p*-Nitrofenolat.
- f. Warna kuning dari *p*-NP merepresentasikan daya inhibisi α -glukosidase oleh larutan sampel uji dimana semakin kecil intensitas warnanya (menuju tidak berwarna) maka semakin besar potensi inhibisi enzim.
- g. Pengukuran daya inhibisi α -glukosidase dinyatakan dengan nilai % inhibisi.
- h. Pengukuran perubahan intensitas warna pada larutan uji dilakukan dengan bantuan *scanner Canon LiDE 120* pada resolusi 300 DPI dan aplikasi *ImageJ* pada *laptop* yang ditunjukkan dengan nilai RGB (*Red, Green, Blue*).

- i. *Mean Blue* adalah rerata intensitas warna biru dalam satuan pixel gambar digital yang dipilih untuk mengetahui perubahan warna yang terjadi pada biosensor.
- j. Respon biosensor berupa intensitas warna biru dalam satuan piksel (*pixel*) menggunakan nilai *mean Blue* atau Δ *mean Blue*.

3.4. Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian

3.5. Alat dan Bahan

Beberapa peralatan dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.5.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : seperangkat alat gelas, ultrasonik, mikropipet (*Dlap Micropipette Plus, Socorex Swiss*), pipet tetes, neraca analitik (*Sartorius*), scanner (*Canon LiDE 120*), oven (*Memmert*), kulkas (*LG*), *white tip*, *yellow tip*, *blue tip*, *microtube*, *stopwatch*, setrika (*Panasonic*), pelubang kertas (*Joyko*), termometer, pH meter (*Eutech Instrument*), kuvet, spektrofotometer UV-Vis (*Hitachi U-1800*).

3.5.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (*Sigma-Aldrich*), α -glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* (*Sigma-Aldrich*), *steril water for irrigation*, *aqua destillata*, dapar fosfat pH 7 (KH_2PO_4 , K_2HPO_4), Na_2CO_3 , plastik laminasi (*Sakurai*), serbuk daun salam (*Syzygium polyanthum*), serbuk daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dari Materia Medika Batu Malang.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Persiapan Bahan

a. Preparasi Larutan Dapar Fosfat 0,1M (pH 7)

Larutan dapar fosfat dibuat dengan melarutkan 225,6 mg NaH_2PO_4 dan 1,153 gram Na_2HPO_4 menggunakan *steril water for irrigation* dalam labu ukur 100 mL sampai tepat tanda kemudian *adjust* pH sampai 7.

b. Preparasi Larutan Induk Akarbose

Larutan induk akarbose 50000 $\mu\text{g/mL}$ dibuat dengan melarutkan 250 mg akarbose menggunakan dapar fosfat pH 7 dalam labu ukur 5 mL. Larutan standar baku induk 50000 $\mu\text{g/mL}$ kemudian diencerkan dengan menggunakan dapar fosfat menjadi 7 rentang konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$, 5000 $\mu\text{g/mL}$, 15000 $\mu\text{g/mL}$, 22500 $\mu\text{g/mL}$, 30000 $\mu\text{g/mL}$, dan 40000 $\mu\text{g/mL}$ masing-masing sebanyak 1 mL.

c. Preparasi Larutan Enzim α -glukosidase

α -Glukosidase sebanyak 100 Unit dilarutkan ke dalam 10 mL dapar fosfat pH 6,8 sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 10 Unit/mL. Enzim dibagi kedalam 20 vial dan disimpan dalam freezer. Larutan dipipet sejumlah tertentu dengan dapar fosfat pH 7 untuk memperoleh konsentrasi 4 Unit/mL.

d. Preparasi Larutan Substrat PNPG

Larutan PNPG 20 mM dibuat dengan menimbang 30,125 mg PNPG kemudian dilarutkan dalam 5 mL dapar fosfat pH 7. Larutan kemudian dipipet untuk memperoleh larutan PNPG 1; 3; 5; 10; 15 dan 20 mM.

e. Preparasi Larutan Na_2CO_3

Larutan Na_2CO_3 1 M dibuat dengan melarutkan 530 mg Na_2CO_3 dan dilarutkan dalam 5 mL *steril water for irrigation*. Larutan kemudian dipipet sejumlah tertentu untuk mendapatkan konsentrasi 0,1 M dan 0,2 M.

f. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah infusa simplisia yang diperoleh dari Materia Medika Batu. Terdapat dua jenis infusa yang digunakan dalam penelitian ini yaitu infusa tunggal dan infusa campuran yang dibuat berdasarkan resep saintifikasi jamu antidiabetes. Infusa campuran dibuat dengan menimbang 5 gram serbuk sambiloto; 3 gram serbuk salam; dan 5 gram serbuk temulawak kemudian ditambahkan 150 mL *aqua destillata* pada bagian tengah wadah infusa. Timer dijalankan selama 15 menit terhitung setelah air pada sampel mencapai suhu 90°C. Sampel disentrifugasi kemudian disaring dengan kertas saring hingga diperoleh konsentrasi infusa sebesar 8,33%. Filtrat dari sampel diambil kemudian diencerkan hingga diperoleh konsentrasi infusa campuran untuk analisis yaitu 0,5%. Prosedur yang sama dilakukan dalam pembuatan infusa sampel tunggal dengan ditimbang 13 gram serbuk untuk setiap jenis simplisia sehingga dihasilkan konsentrasi 8,33%. Filtrat yang diperoleh diencerkan hingga diperoleh konsentrasi infusa tunggal untuk analisis yaitu sambiloto 0,5% ; salam 0,25% ; dan temulawak 0,75%.

3.6.2. Optimasi Biosensor

a. Optimasi Volume Area Deteksi

Beberapa macam volume larutan enzim substrat yaitu masing-masing 15, 17 dan 20 μL diimobilisasikan ke dalam area deteksi, kemudian volume larutan di seluruh permukaan area diamati. Terpenuhi tidaknya area deteksi biosensor dapat diketahui dengan menambahkan satu lapisan plastik dipermukaan atas biosensor yang sebelumnya telah dilubangi tepat pada bagian tengah area deteksi dibawahnya seperti pada Gambar 3.3. Lubang ini berfungsi sebagai jalan memasukkan larutan enzim substrat kedalam area deteksi. Adanya lapisan plastik dibagian atas akan mempermudah pengamatan volume reagen yang dapat memenuhi area deteksi.

b. Optimasi Konsentrasi PNPG

Penentuan konsentrasi PNPG optimum dilakukan dengan mereaksikan beberapa macam konsentrasi yaitu 1; 3; 5; 10; 15 dan 20 mM sebanyak 3,7 μL pada area deteksi biosensor kemudian dilakukan perhitungan perubahan intensitas warna yang terjadi pada waktu 15 menit. Reaksi kemudian ditambahkan larutan Na_2CO_3 0,2 M. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali. Konsentrasi substrat dipilih berdasarkan konsentrasi yang menunjukkan keadaan *steady-state* atau warna kuning yang dihasilkan konstan.

c. Optimasi Konsentrasi Na_2CO_3

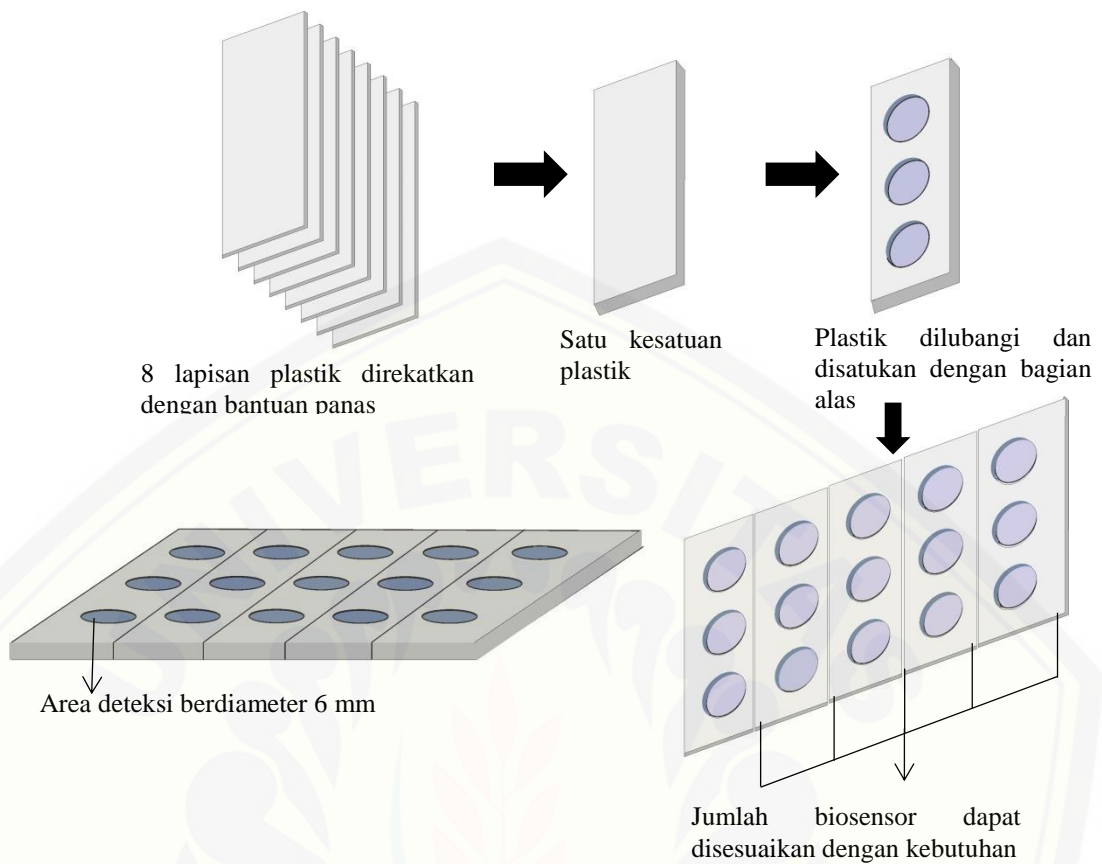
Penentuan konsentrasi Na_2CO_3 optimum dilakukan dengan mereaksikan substrat 5 mM dengan enzim pada biosensor kemudian diinkubasi selama 15 menit. Selanjutnya larutan Na_2CO_3 sebanyak 15 μL ditambahkan dan dioptimasi pada konsentrasi 0,1 M dan 0,2 M. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali. Konsentrasi Na_2CO_3 dipilih berdasarkan selisih nilai $\Delta\text{mean Blue}$ yang besar terhadap blanko.

d. Optimasi Waktu Inhibisi

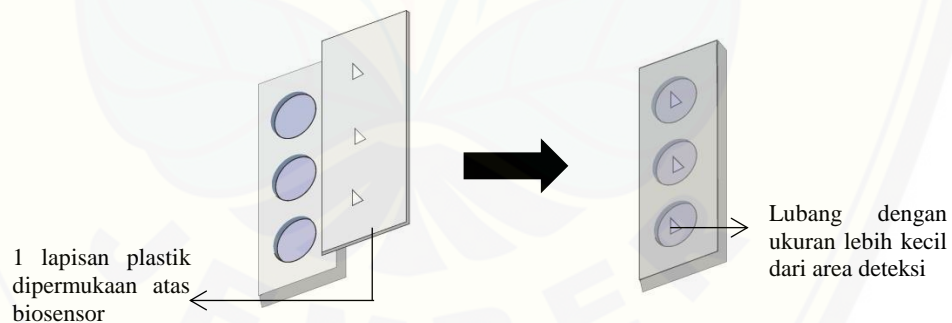
Waktu inhibisi diartikan sebagai waktu inkubasi inhibitor sebelum ditambahkan substrat PNPG. Waktu inhibisi ditentukan dengan mereaksikan standar akarbose 20000 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 1,5 μL pada area kerja biosensor kemudian diinkubasi pada waktu 1, 3, dan 5 menit. Biosensor selanjutnya direaksikan dengan 3,7 μL substrat 10 mM dan diinkubasi selama 15 menit. Reaksi kemudian ditambahkan dengan 15 μL Na_2CO_3 . Waktu inhibisi dipilih berdasarkan waktu inkubasi inhibitor tersingkat untuk menghasilkan respon inhibisi yang sama.

3.6.3. Fabrikasi Biosensor

Biosensor dibuat menggunakan bahan plastik laminasi dengan merekatkan 8 lapisan plastik berukuran 1x3,5 cm menggunakan bantuan panas setrika dengan kekuatan sedang hingga menjadi satu kesatuan. Proses dilanjutkan dengan melubangi plastik membentuk lingkaran berdiameter 6 mm menggunakan alat pelubang kertas dengan jarak antar lubang 0,5 cm. Satu lapisan plastik kemudian ditempatkan dibagian dasar dan dipanaskan dengan cara yang sama sebagai alas biosensor. Desain biosensor dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Desain biosensor



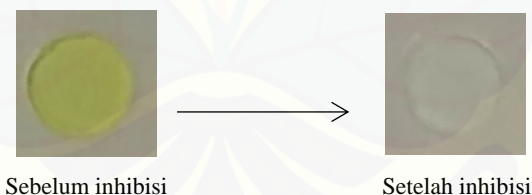
Gambar 3.3 Desain biosensor untuk optimasi volume

Biosensor dibuat dengan mengimobilisasikan $1 \mu\text{L}$ enzim 4 Unit/mL pada bagian tengah area deteksi. Tahap selanjutnya dilakukan pengeringan enzim pada suhu 37°C selama 15 menit kemudian disimpan untuk penggunaan selanjutnya. Enzim yang telah kering ditandai dengan tidak adanya cairan yang masih tersisa pada alas biosensor secara visual. Perubahan intensitas warna biosensor setelah reaksi diukur dengan bantuan *scanner* kemudian dianalisis dengan program

“ImageJ” pada *laptop* seperti Gambar 3.4. Pengukuran ini akan menghasilkan data *mean Blue*. Prosedur ini dilakukan dengan tiga kali replikasi. Prinsip kerja biosensor ini adalah perubahan warna dari kuning menjadi tidak berwarna akibat adanya senyawa inhibitor. Pada proses analisis warna, digunakan kertas putih sebagai *background* biosensor pada *scanner* sehingga perubahan yang terjadi dianalisis dari warna kuning ke warna putih. Perubahan warna pada biosensor dapat dilihat pada Gambar 3.5.



Gambar 3.4 Gambaran pengukuran warna pada biosensor



Gambar 3.5 Perubahan warna biosensor

3.6.4. Karakteristik Biosensor

a. Waktu respon

Penentuan waktu respon dilakukan dengan mengukur durasi waktu yang dibutuhkan biosensor terhadap penambahan standar akardose 500 $\mu\text{g/mL}$ yang telah diinkubasi sesuai waktu inhibisi dengan PNPG dan larutan Na_2CO_3 sampai terbentuk perubahan intensitas warna yang relatif konstan. Pengukuran interval waktu dilakukan setiap 5 menit dan dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-20. Selanjutnya, dibuat kurva baku antara waktu (menit) dengan nilai $\Delta\text{mean Blue}$.

Waktu pertama respon sensor menghasilkan sinyal yang stabil dipilih sebagai waktu respon biosensor.

b. Linieritas

Penentuan linieritas dilakukan pada area deteksi biosensor dengan menambahkan standar akardose konsentrasi 500-40000 $\mu\text{g/mL}$ kemudian diinkubasi selama 1 menit. Proses dilanjutkan dengan penambahan PNPG 5 mM dan inkubasi selama 15 menit kemudian ditambahkan larutan Na_2CO_3 . Intensitas warna ditentukan dengan nilai $\Delta\text{mean Blue}$ menggunakan aplikasi *ImageJ*. Nilai $\Delta\text{mean Blue}$ yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi tiap konsentrasi dengan menggunakan Persamaan 2.1. Linieritas biosensor dapat diketahui dari koefisien korelasi (r) antara konsentrasi standar dengan % inhibisi. Koefisien korelasi dihitung menggunakan analisis regresi linier $y = bx + a$. Hubungan linieritas yang ideal dicapai jika nilai r mendekati +1 atau -1.

c. Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi

Penentuan batas kuantitasi dan batas deteksi dilakukan pada area uji biosensor dengan menambahkan standar akardose konsentrasi 100-500 $\mu\text{g/mL}$ kemudian diinkubasi selama 1 menit dan dilanjutkan dengan penambahan PNPG dan inkubasi selama 15 menit. Selanjutnya, ditambahkan larutan Na_2CO_3 . Intensitas ditentukan dengan nilai $\Delta\text{mean Blue}$. Perhitungan batas kuantitasi dan batas deteksi dilakukan dengan Persamaan 2.2-2.5.

d. Presisi

Penentuan presisi dilakukan dengan meneteskan sejumlah larutan standar/sampel kemudian diinkubasi 1 menit, dilanjutkan dengan pemberian PNPG dan diinkubasi selama 15 menit. Reaksi dilanjutkan dengan penambahan larutan Na_2CO_3 pada area uji biosensor kemudian nilai *relative standar deviation* (RSD) dihitung dari enam kali pengulangan menggunakan Persamaan 2.6-2.7. Presisi biosensor tergolong baik apabila nilai RSD memenuhi kriteria penerimaan yang ditunjukkan pada Tabel 2.2.

e. Akurasi

Penentuan akurasi dilakukan menggunakan metode adisi dengan menambahkan sejumlah tertentu standar sebesar 30, 45, dan 60% dari konsentrasi sampel hasil pengukuran presisi. Nilai $\Delta mean\ Blue$ yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi sampel sesuai Persamaan 2.1. Nilai tersebut dibandingkan dengan % inhibisi teoritis sehingga diperoleh nilai % *recovery* yang dihitung berdasarkan Persamaan 2.8-2.9. Akurasi biosensor dikatakan baik jika nilai % perolehan kembali memenuhi kriteria penerimaan akurasi pada Tabel 2.2.

f. Waktu Pakai

Waktu pakai biosensor dilakukan dengan melapisi plastik polipropilen menggunakan *aluminium foil* dan plastik klip kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan disimpan pada dua suhu yang berbeda, yaitu pada suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) dan *chiller* ($2-4^{\circ}\text{C}$). Penentuan waktu pakai biosensor dilakukan dengan mengukur nilai $\Delta mean\ Blue$ setelah penambahan standar akardose dan substrat kemudian diinkubasi 15 menit. Reaksi selanjutnya ditambahkan sejumlah tertentu larutan Na_2CO_3 . Nilai $\Delta mean\ Blue$ dibandingkan antar interval waktu pengamatan hingga diperoleh penurunan lebih dari 15% dari respon awal biosensor (hari ke-0) (Kuswandi, 2010).

3.6.5. Aplikasi Biosensor pada Sampel Uji

Penentuan nilai % inhibisi sampel dilakukan dengan mengimobilisasikan 1,5 μL sampel pada area deteksi dan diinkubasi selama 1 menit. Selanjutnya, dilakukan penambahan 3,7 μL PNPG dengan cara yang sama dan diinkubasi selama 15 menit. Reaksi kemudian ditambahkan dengan 15 μL larutan Na_2CO_3 . Perubahan intensitas warna yang terjadi diukur dengan program *ImageJ*. Nilai *mean Blue* digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi sesuai Persamaan 2.1.

3.6.6. Metode Pembandingan Spektrofotometer UV-Vis

Metode penentuan % inhibisi biosensor dibandingkan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Prinsip dari metode ini adalah pengukuran kadar *p*-NP. Metode spektrofotometri dilakukan dengan mereaksikan 37 μL PNPG 5 mM dan

ditambahkan 438 μL dapar fosfat pH 7. Kemudian campuran ditambahkan sebanyak 15 μL larutan sampel dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$. Penambahan 10 μL enzim (4 Unit/mL) dilakukan setelahnya dan dilanjutkan dengan inkubasi selama 15 menit. Reaksi kemudian ditambahkan 500 μL Na_2CO_3 0,2 M. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 405 nm. Absorbansi ini kemudian digunakan untuk menghitung % inhibisi sampel sesuai rumus pada Persamaan 3.1. Hasil % inhibisi yang didapatkan dengan metode spektrofotometri kemudian dibandingkan dengan biosensor. Perbandingan ini dilakukan dengan menggunakan *Independent Sample T-test* dengan $p = 0,05$.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots 3.1$$

BAB 5. KESIMPULAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- a. Kondisi optimal biosensor meliputi volume optimal adalah 20 μL , konsentrasi PNPG 5 mM, konsentrasi Na_2CO_3 0,2 M dan waktu inhibisi 1 menit.
- b. Karakteristik biosensor
 - a) Waktu respon biosensor yang memberikan respon relatif stabil adalah 15 menit.
 - b) Linieritas biosensor berada pada rentang konsentrasi akarbose 500-40000 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai koefisien relasi (r) sebesar 0,9989 dan persamaan regresi yang diperoleh sebesar $y = 0,0017x + 14,77$.
 - c) Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) biosensor masing-masing sebesar 1109,6 $\mu\text{g/mL}$ dan 3698,8 $\mu\text{g/mL}$.
 - d) Biosensor memenuhi rentang parameter presisi (*repeatability*) dengan nilai yang diperoleh untuk akarbose dan infusa sambiloto masing-masing sebesar 2,695%, dan 1,634% sedangkan presisi antara akarbose dan sambiloto masing-masing 2,916% dan 1,658%.
 - e) Metode biosensor memenuhi rentang parameter akurasi yang diperbolehkan dengan nilai yang diperoleh untuk adisi 30%, 45% dan 60% masing-masing sebesar 99,628%, 104,191% dan 101,953%.
 - f) Metode biosensor kertas untuk polifenol waktu pakai pada penyimpanan suhu kamar ($\pm 25^\circ\text{C}$) adalah selama 270 menit dan pada suhu *chiller* ($2-8^\circ\text{C}$) selama 3 hari.
- c. Metode biosensor untuk menentukan potensi inhibisi enzim α -glukosidase pada sampel infusa sambiloto, salam, camuran dan temulawak tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan metode spektrofotometri UV-Vis berdasarkan uji *Independent Sampel T-test*.

- d. Sampel sambiloto, salam, campuran dan temulawak memiliki nilai akardose ekuivalen berturut-turut sebesar 6366,470 $\mu\text{g/mL}$, 30396,470 $\mu\text{g/mL}$, 7957,058 $\mu\text{g/mL}$, 1047,647 $\mu\text{g/mL}$.

5.2. Saran

Penelitian “Pengembangan Biosensor Berbasis Plastik Zona Mikro untuk Skrining Aktivitas Antidiabetes pada Ekstrak Tanaman Obat” ini masih perlu pengembangan dan studi lebih lanjut dengan beberapa saran, sebagai berikut :

- a. Waktu pakai yang diperoleh relatif pendek, sehingga diperlukan pengembangan biosensor dengan waktu pakai yang lebih lama.
- b. Respon biosensor dapat dipengaruhi oleh warna sampel, sehingga perlu adanya pengembangan lebih lanjut terhadap sampel agar tidak mempengaruhi respon biosensor.

DAFTAR PUSTAKA

- Aba, P. E. dan I. U. Asuzu. 2018. Mechanisms of actions of some bioactive anti-diabetic principles from phytochemicals of medicinal plants: a review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 9(2):85–96.
- Abbaspour, A., A. Khajehzadeh, dan A. Ghaffarinejad. 2009. A simple and cost-effective method, as an appropriate alternative for visible spectrophotometry: development of a dopamine biosensor. *Analyst*. 134(8):1692–1698.
- Abdul-Ghani, M. A. dan R. A. Defronzo. 2010. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2010
- Abu, M., M. Abdul Mannan, M. Nuruzzaman, K. Kamrujjaman, dan S. Kumar Das. 2017. Indigenous king of bitter (*andrographis paniculata*): a review. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 5(2):318–324.
- ADA. 2009. Diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. *Diabet Med*. 32 Suppl 1:S62-7.
- ADA. 2019. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes 2019. *Diabetes Care*. 42(January):S13–S28.
- Agrawal, P. B. dan A. B. Pandit. 2003. Isolation of α -glucosidase from *saccharomyces cerevisiae* : cell disruption and adsorption. 15:37–45.
- Ahmed, K. S. O. H., N. B. Milosavić, M. M. Popović, R. M. Prodanović, Z. D. Knežević, dan R. M. Jankov. 2007. Preparation and studies on immobilized α -glucosidase from baker's yeast *saccharomyces cerevisiae*. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 72(12):1255–1263.
- Alberti, K. G. M. M. dan P. Z. Zimmet. 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. provisional report of a who consultation. *Diabetic Medicine*. 15(7):539–553.
- Aldewachi, H., T. Chalati, M. N. Woodroffe, N. Bricklebank, B. Sharrack, dan P. Gardiner. 2018. Gold nanoparticle-based colorimetric biosensors. *Nanoscale*. 10(1):18–33.
- Alsawalha, M., A. Al-Subaie, R. Al-Jindan, S. Bolla, J. Balakrishna, P. Ravi, S. R. Gollapalli, V. Veeraraghavan, A. Pillai, J. Joseph, dan S. Mohan. 2019. Effect of *litsea lancifolia* leaf extract on glucose transporter 4 translocation and glucose uptake in 3t3l1 cell line. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*. 11(3):240.
- Andrialovanirina, N., D. Ponton, F. Behivoke, J. Mahafina, dan M. Léopold. 2020. A powerful method for measuring fish size of small-scale fishery

- catches using imagej. *Fisheries Research*. 223:105425.
- Are, P. C., R. Ram, R. Adidala, dan G. Puchchakayala. 2011. Hypoglycemic and antidiabetic activity of flavonoid on streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *European Journal of Biological Sciences*. 3(4):126–130.
- Ariani, N., I. R. Kartika, dan F. Kurniadewi. 2017. Uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase secara in vitro dari ekstrak metanol daun cryptocarya densiflora blume dan fraksi-fraksinya nurul. 7(1):1–6.
- Berawi, K. N., L. Shidarti, S. U. Nurdin, N. I. Lipoeto, I. Wahid, J. Sari, dan E. Nurcahyani. 2017. Comparison effectiveness of antidiabetic activity extract herbal mixture of soursop leaves(annona muricata), bay leaves(syzygium polyanthum) and pegagan leaves(centella asiatica). *Biomedical and Pharmacology Journal*. 10(3):1481–1488.
- Bhalla, N., P. Jolly, N. Formisano, dan P. Estrela. 2016. Introduction to biosensors. *Essays in Biochemistry*. 60(1):1–8.
- Caesar, L. K. dan N. B. Cech. 2019. Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1 + 1 does not equal 2. *Natural Product Reports*. 36(6):869–888.
- Cruz, A. F. D., N. Norena, A. Kaushik, dan S. Bhansali. 2014. A low-cost miniaturized potentiostat for point-of-care diagnosis. *Biosensors and Bioelectronics*. 62:249–254.
- Dai, H., Yuqing Li, Q. Zhang, Y. Fu, dan Yanbin Li. 2018. A colorimetric biosensor based on enzyme-catalysis-induced production of inorganic nanoparticles for sensitive detection of glucose in white grape wine. *RSC Advances*. 8(59):33960–33967.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia - Setiawan Dalimartha - Google Buku*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Day, R. A. J. dan U. A.L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga Publisher.
- Deepa, B. dan C. V. Anuradha. 2011. Linalool, a plant derived monoterpene alcohol, rescues kidney from diabetes-induced nephropathic changes via blood glucose reduction. *Diabetologia Croatica*. 40(4):121–137.
- Depkes RI. 2005. Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus. 1–89.
- Dewi, T. F., D. Ardiyanto, dan A. Mana. 2016. Pola persepan tanaman obat antidiabetes di rumah riset jamu “ hortus medicus ” tawangmangu periode januari-maret 2016. 9(2):58–64.
- Dulić, M., P. Ciganović, L. Vujić, dan M. Z. Končić. 2019. Antidiabetic and cosmeceutical potential of common barbery (berberis vulgaris l.) root bark extracts obtained by optimization of ‘green’ ultrasound-assisted extraction. *Molecules*. 24(19)

- Eggs, B. R. 1996. Biosensors: an introduction. *Advances in Molecular and Cell Biology*. 15(C):349–352.
- Febriyanti, R. M., I. Maesaroh, S. Supriyatna, H. Sukandar, dan F. S. Maelaningsih. 2014. Analisis farmakoekonomi saintifikasi jamu antihipertensi, antihiperlikemia, antihiperkolesterolemia, dan antihiperurisemia. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 1(2):39–46.
- Felipe, A., V. Rincão, dan F. Benati. 2006. Antiviral effect of guazuma ulmifolia and stryphnodendron adstringens on poliovirus and bovine herpesvirus. *Biological And*
- Fi, H. dan F. Aam. 2014. Antidiabetic effect of curcuma xanthorrhiza on adipogenesis of 3t3-l1 preadipocyte. *Regenerative Research*. 3(32):105–107.
- Fiévet, C., J. C. Fruchart, dan B. Staels. 2006. PPAR α and ppar γ dual agonists for the treatment of type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Current Opinion in Pharmacology*. 6(6):606–614.
- Fitrianda, M. I. 2016. *Aplikasi Thermochromic Ink Sebagai Indikator Temperatur Untuk Stabilitas Masa Pakai Pada Suppositoria*
- Gaikwad, S. B., G. Krishna Mohan, dan M. S. Rani. 2014. Phytochemicals for diabetes management. *Pharmaceutical Crops*. 5(1):11–28.
- Ganesan, K. dan S. Sultan. 2019. *Oral Hypoglycemic Medications*. Florida: StatPearls.
- Guo, S., X. Lin, Y. Wang, dan X. Gong. 2019. Fabrication of paper-based enzyme immobilized microarray by 3d-printing technique for screening α -glucosidase inhibitors in mulberry leaves and lotus leaves. *Chinese Medicine (United Kingdom)*. 14(1):1–11.
- Hadiarti, D. 2017. Inhibisi α -glucosidase ekstrak etanol buah-buas (premna serratifolia) secara in vitro. *Majalah Obat Tradisional*. 22(2):80.
- Hanan, A. 1996. Beberapa catatan tentang sambiloto. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 3(1):19.
- Harismah, K. dan Chusniatun. 2016. Pemanfaatan daun salam sebagai obat herbal dan rempah penyedap makanan. 19:110–118.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3):117–135.
- Holidah, D., Yasmin, dan F. M. Christianty. 2018. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak teh hitam dan teh hijau secara in vitro menggunakan metode inhibisi enzim α -glukosidase (in vitro antidiabetic activity of black tea and green tea extracts by inhibition of α -glucosidase method). *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 6(2):235–239.

- Hossain, M. F. dan J. Y. Park. 2017. Fabrication of sensitive enzymatic biosensor based on multi-layered reduced graphene oxide added ptau nanoparticles-modified hybrid electrode. *PLoS ONE*. 12(3):1–16.
- Hui, C. Y., M. Liu, Y. Li, dan J. D. Brennan. 2018. A paper sensor printed with multifunctional bio/nano materials. *Angewandte Chemie International Edition*. 57(17):4549–4553.
- Hutter, E. dan D. Maysinger. 2013. Gold-nanoparticle-based biosensors for detection of enzyme activity. *Trends in Pharmacological Sciences*. 34(9):497–507.
- IDF. 2020. Diabetes Complications. https://www.idf.org/aboutdiabetes/complications.html?gclid=CjwKCAjw4KD0BRBUEiwA7MFNTfXT_2q29mWrfh9YaqFJR2uhFOJELun1pUaGTDvUO1XxE7CCadxB2hoCiDMQAvD_BwE [Diakses pada April 5, 2020].
- Kao, L. S. dan C. E. Green. 2008. Analysis of variance: is there a difference in means and what does it mean. *Journal of Surgical Research*. 144(1):158–170.
- Kataria, M., M. Swati, T. Pathak, dan K. Kumar. 2014. *Enzyme Based Biosensors and Their Applications*. Elsevier B.V. *Electrochemical Enzym-Based Biosensor*.
- Kawamura, A. dan T. Miyata. 2016. Biosensors: an overview. *Biomaterials Nanoarchitectonics*. 157–176.
- Kurniawaty, E. dan E. E. Lestari. 2016. Uji efektivitas daun belimbing wuluh (averrhoa bilimbi l.) sebagai pengobatan diabetes melitus. *Majority*. 5(2):32–36.
- Kuswandi, B. 2010. *Biosensor: Konsep, Desain Dan Eksperimentasi*. Jember: Universitas Jember.
- Lestari, K., J. Hwang, S. Kariadi, A. Wijaya, A. Trihanggono, A. Subarnas, Supriyatna, dan M. Muchtaridi. 2012. Screening for ppar agonist from myristica fragrans seeds for the treatment of t ype 2 diabetes by in vitro and in vivo. *Medical and Health Science Journal*. 12:7–15.
- Leto, D. dan A. R. Saltiel. 2012. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of glut4. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 13(6):383–396.
- Li, H., M. Yang, D. Kong, R. Jin, X. Zhao, F. Liu, X. Yan, Y. Lin, dan G. Lu. 2019. Sensitive fluorescence sensor for point-of-care detection of trypsin using glutathione-stabilized gold nanoclusters. *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 282:366–372.
- Lim, T. K. 2016. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 12*. Switzerland: Springer International Publishing.
- Lin, C., Y. Zhu, J. Yu, X. Qin, X. Xian, F. Tsow, S. Forzani, D. Wang, N. Tao,

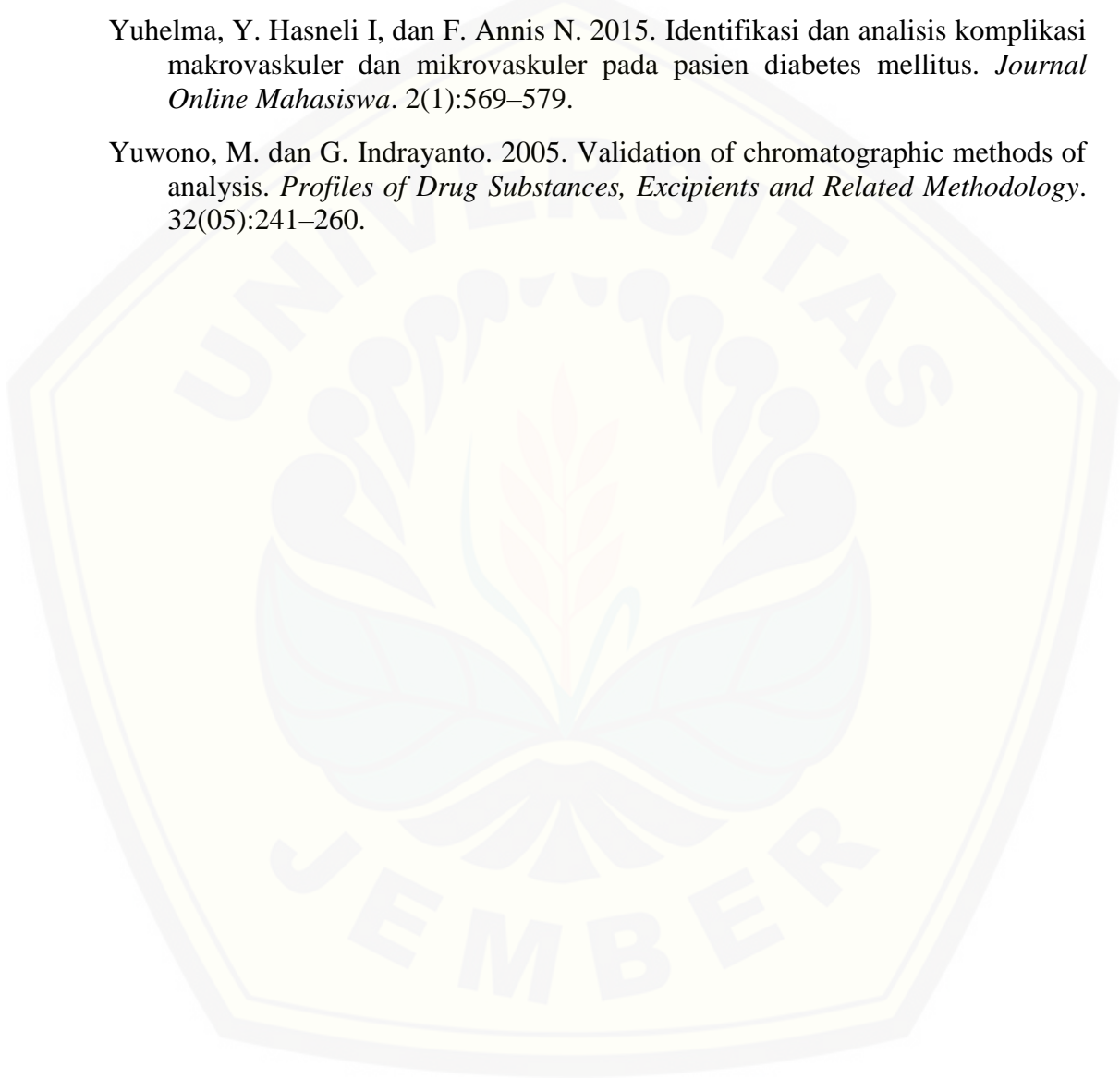
- dan U. States. 2018. Gradient-based colorimetric sensors for continuous gas monitoring. 90(8):5375–5380.
- Loranza, B. 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Alfa-Glukosidase Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Teraktif Daun Buni (*Antidesma Bunius L.*). Universitas Indonesia.
- Lu, G., H. Y. Tan, A. Neild, O. W. Liew, Y. Yu, dan T. W. Ng. 2010. Liquid filling in standard circular well microplates. *Journal of Applied Physics*. 108(12)
- Mahargyani, W. 2019. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak n-heksan kulit buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*). 4(1):13–23.
- Marriane, Yuandani, dan Rosnani. 2011. Antidiabetic activity from ethanol extract of kluwih's leaf (*artocarpus camansi*). *Jurnal Natural*. 11(2):64–68.
- Mehrotra, P. 2016. Biosensors and their applications - a review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. 6(2):153–159.
- Meskheli, M. B., N. A. Antelava, A. D. Bakuridze, E. R. Berishvili, dan K. Z. Pachkoria. 2011. Antidiabetic activity of berberin and extract, obtained from the bark of *phellodendron lavalei*, introduced in subtropic regions of georgia, in streptozotocin induced diabetic rats. *Georgian Medical News*. (191):53–60.
- Misset, O. dan A. van Dijk. 1998. *Diagnosing the Inactivating Process of Enzymes*. Elsevier Masson SAS. C. *Progress in Biotechnology*.
- Mohamad, N. R., N. H. C. Marzuki, N. A. Buang, F. Huyop, dan R. A. Wahab. 2015. An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 29(2):205–220.
- Mohiuddin, M., D. Arbain, A. K. M. S. Islam, M. S. Ahmad, dan M. N. Ahmad. 2016. Alpha-glucosidase enzyme biosensor for the electrochemical measurement of antidiabetic potential of medicinal plants. *Nanoscale Research Letters*. 11(1):1–12.
- More, T. A., B. R. Kulkarni, M. L. Nalawade, dan A. U. Arvindekar. 2014. Antidiabetic activity of linalool and limonene in streptozotocin- induced diabetic rat: a combinatorial therapy approach. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(8):159–163.
- Nasution, H., M. Rahma, dan R. Abdifi. 2013. Aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun asam jawa (*tamarindus indica linn*) terhadap enzim alfa glukosidase. *Jurnal Photon*. 4(1)
- Ngo, D. H., D. N. Ngo, T. T. N. Vo, dan T. S. Vo. 2019. Mechanism of action of mangifera indica leaves for anti-diabetic activity. *Scientia Pharmaceutica*. 87(2)

- Nguyen, H. H. dan M. Kim. 2017. An overview of techniques in enzyme immobilization. 26(6):157–163.
- Nguyen, H. H., S. H. Lee, U. J. Lee, C. D. Fermin, dan M. Kim. 2019. Immobilized enzymes in biosensor applications. *Materials*. 12(1):1–34.
- Niranjan, A., S. K. Tewari, dan A. Lehri. 2010. Biological activities of kalmegh (*andrographis paniculata* nees) and its active principles-a review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 1(2):125–135.
- Novia Pegin Wardani. 2010. Uji aktivitas anti diabetes ekstrak kering biji mahoni terstandar (*swietenia mahagoni* jack) pada mencit yang diinduksi aloksan. *Skripsi*. (050710106)
- Noviantari, N. P., L. Suhendra, dan N. M. Wartini. 2017. Pengaruh ukuran partikel bubuk dan konsentrasi pelarut aseton terhadap karakteristik ekstrak warna sargassum polycystum. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 5(3):102–112.
- Novita, R., L. Ambarsari, S. Falah, P. A. Kurniatin, W. Nurcholis, dan L. K. Darusman. 2015. Anti-inflammatory activity of temulawak nanocurcuminoid coated with palmitic acid in the sprague dawley rat. *Current Biochemistry*. 2(2):73–85.
- Nugraha, M. R. dan A. N. Hasanah. 2018. Metode pengujian aktifitas antidiabetes. *Farmaka*. 16(3):28–34.
- Nurcholis, W., A. A. Munshif, dan L. Ambarsari. 2018. Xanthorrhizol contents, α -glucosidase inhibition, and cytotoxic activities in ethyl acetate fraction of curcuma zanthorrhiza accessions from indonesia. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 28(1):44–49.
- Oon, S. F., M. Nallappan, T. T. Tee, S. Shohaimi, N. K. Kassim, M. S. F. Sa'ariwijaya, dan Y. H. Cheah. 2015. Xanthorrhizol: a review of its pharmacological activities and anticancer properties. *Cancer Cell International*. 15(1):1–15.
- Panche, A. N., A. D. Diwan, dan S. R. Chandra. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 5
- Paquin, F., J. Rivnay, A. Salleo, N. Stingelin, dan C. Silva. 2015. Smartphone quantifies salmonella from paper microfluidics. *J. Mater. Chem. C*. 3(207890):10715–10722.
- Perez, G. R., J. Campos-terán, N. Ornelas-soto, dan A. Méndez-albores. 2015. Biosensors based on oxidative enzymes for detection of environmental pollutants. 118–129.
- PERKENI. 2015. *Konsensus Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 Di Indonesia 2015*. Jakarta: PB. PERKENI.
- Pujiyanto, S., S. Dan, A. Widyasari, J. Biologi, F. Sains, D. Matematika, U.

- Diponegoro, dan J. Soedarto. 2015. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil inhibitor α -glukosidase dari tanaman pare (*Momordica charantia* L.). *Prosiding SNST Ke-6 Tahun 2015*. (2004):65–71.
- Rajasekaran, A., R. Arivukkarasu, dan L. Mathew. 2016. A systematic comprehensive review on therapeutic potential of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 5(5):189–199.
- Ravindran, P. N. 2017. *The Encyclopedia of Herbs and Spices*. UK: CABI.
- Rocchitta, G., A. Spanu, S. Babudieri, G. Latte, G. Madeddu, G. Galleri, S. Nuvoli, P. Bagella, M. I. Demartis, V. Fiore, R. Manetti, dan P. A. Serra. 2016. Enzyme biosensors for biomedical applications: strategies for safeguarding analytical performances in biological fluids. *Sensors (Switzerland)*. 16(6)
- Rosak, C. dan G. Mertes. 2012. Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: patient considerations. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 5:357–367.
- Rukmana, R. 1995. *Temulawak, Tanaman Rempah Dan Obat*. Yogyakarta: Kanisius.
- Saeedi, P., I. Petersohn, P. Salpea, B. Malanda, S. Karuranga, N. Unwin, S. Colagiuri, L. Guariguata, A. A. Motala, K. Ogurtsova, J. E. Shaw, D. Bright, dan R. Williams. 2019. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the international diabetes federation diabetes atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 157:107843.
- Safavi, A., N. Maleki, dan E. Farjami. 2009. Fabrication of a glucose sensor based on a novel nanocomposite electrode. *Biosensors and Bioelectronics*. 24(6):1655–1660.
- Sagbo, I. J., M. Van De Venter, T. Koekemoer, dan G. Bradley. 2018. In vitro antidiabetic activity and mechanism of action of *Brachylaena elliptica* (Thunb.) DC. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018
- Salehi, B., A. Ata, N. V. A. Kumar, F. Sharopov, K. Ramírez-Alarcón, A. Ruiz-Ortega, S. A. Ayatollahi, P. V. T. Fokou, F. Kobarfard, Z. A. Zakaria, M. Iriti, Y. Taheri, M. Martorell, A. Sureda, W. N. Setzer, A. Durazzo, M. Lucarini, A. Santini, R. Capasso, E. A. Ostrander, Atta-ur-Rahman, M. I. Choudhary, W. C. Cho, dan J. Sharifi-Rad. 2019. *Antidiabetic Potential of Medicinal Plants and Their Active Components*. 10. *Biomolecules*.
- Sarian, M. N., Q. U. Ahmed, S. Z. Mat So'Ad, A. M. Alhassan, S. Murugesu, V. Perumal, S. N. A. Syed Mohamad, A. Khatib, dan J. Latip. 2017. Antioxidant and antidiabetic effects of flavonoids: a structure-activity relationship based study. *BioMed Research International*. 2017:14.

- Sassolas, A., L. J. Blum, dan B. D. Leca-Bouvier. 2012. Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors. *Biotechnology Advances*. 30(3):489–511.
- Setiawan, B., E. Suhartono, D. Muda-Asisten, K. Kedokteran, dan B. K. Kedokteran. 2005. Oxidative Stress and The Roles of Antioxidant in Diabetes Mellitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 2005
- Sharma, B., A. Mittal, dan R. Danbur. 2014. Anti- diabetic agents from medicinal plants : a review. *Chemical Biology Letters*. 1(JANUARY):1–13.
- Siddhartha, K. M., N. S. Sangwan, Sangwan, dan R. S. 2007. *Andrographis paniculata* (kalmegh): a review
- Singh, A. T., D. Lantigua, A. Meka, S. Taing, M. Pandher, dan G. Camci-Unal. 2018. Paper-based sensors: emerging themes and applications. *Sensors (Switzerland)*. 18(9):1–22.
- Subramanian, R., M. Z. Asmawi, dan A. Sadikun. 2008. In vitro α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of *andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Acta Biochimica Polonica*. 55(2):391–398.
- Sumono, A. dan A. Wulan. 2008. The use of bay leaf (*eugenia polyantha wight*) in dentistry. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 41(3):147.
- Sylvester, W. S., R. Son, K. F. Lew, dan Y. Rukayadi. 2015. Antibacterial activity of java turmeric (*curcuma xanthorrhiza roxb.*) extract against *klebsiella pneumoniae* isolated from several vegetables. *International Food Research Journal*. 22(5):1770–1776.
- Tamayanti, W. D., E. C. Widjajakusuma, R. M. Widharna, W. D. Tamayanti, L. Hendriati, dan I. Sahrial Hamid. 2015. Antidiabetic effect of the aqueous extract mixture of *andrographis paniculata* and *syzygium polyanthum* leaf. *EJMP*. 6(2):82–91.
- Timur, S. dan Ü. Anik. 2007. α -glucosidase based bismuth film electrode for inhibitor detection. *Analytica Chimica Acta*. 598(1):143–146.
- Trisnawati, S. K. dan S. Setyorogo. 2013. Faktor risiko kejadian diabetes melitus tipe ii di puskesmas kecamatan cengkareng jakarta barat tahun 2012. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 5(1):6–11.
- WHO. 2006. *Guidelines for the Prevention, Management and Care of Diabetes Mellitus*
- Widharna, R., Ferawati, W. Tamayanti, L. Hendriati, I. Hamid, dan E. Widjajakusuma. 2015. Antidiabetic effect of the aqueous extract mixture of *andrographis paniculata* and *syzygium polyanthum* leaf. *European Journal of Medicinal Plants*. 6(2):82–91.
- Widyawati, T. 2007. ANTI-diabetic activity-guided studies of *syzygium polyanthum* (*wight*) leaf extracts and elucidation of their mechanisms of action

- Woods, B. L. dan R. A. Walker. 2013. PH effects on molecular adsorption and solvation of p-nitrophenol at silica/aqueous interfaces. *Journal of Physical Chemistry A*. 117(29):6224–6233.
- Yang, C. Y., Y. Y. Yen, K. C. Hung, S. W. Hsu, S. J. Lan, dan H. C. Lin. 2019. Inhibitory effects of pu-erh tea on alpha glucosidase and alpha amylase: a systemic review. *Nutrition and Diabetes*. 9(1)
- Yuhelma, Y. Hasneli I, dan F. Annis N. 2015. Identifikasi dan analisis komplikasi makrovaskuler dan mikrovaskuler pada pasien diabetes mellitus. *Journal Online Mahasiswa*. 2(1):569–579.
- Yuwono, M. dan G. Indrayanto. 2005. Validation of chromatographic methods of analysis. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. 32(05):241–260.





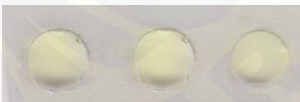
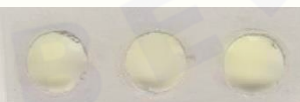
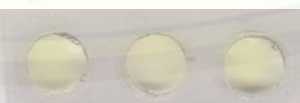
LAMPIRAN

Lampiran A. Optimasi konsentrasi PNPG

Data pengukuran respon terhadap variasi konsentrasi PNPG

Konsentrasi	<i>mean Blue</i>			Δ <i>mean Blue</i>			Rata-rata	SD
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
Putih	215,552	214,817	215,759	-	-	-	215,376	-
1 mM	191,465	190,158	192,068	23,911	25,218	23,308	24,146	0,976
3 mM	190,170	189,864	189,157	25,206	25,512	26,219	25,646	0,520
5 mM	180,854	179,945	180,988	34,522	35,431	34,388	34,780	0,567
10 mM	180,321	180,958	181,249	35,055	34,418	34,127	34,533	0,475
15 mM	180,843	181,330	180,828	34,533	34,046	34,548	34,376	0,286

Gambar

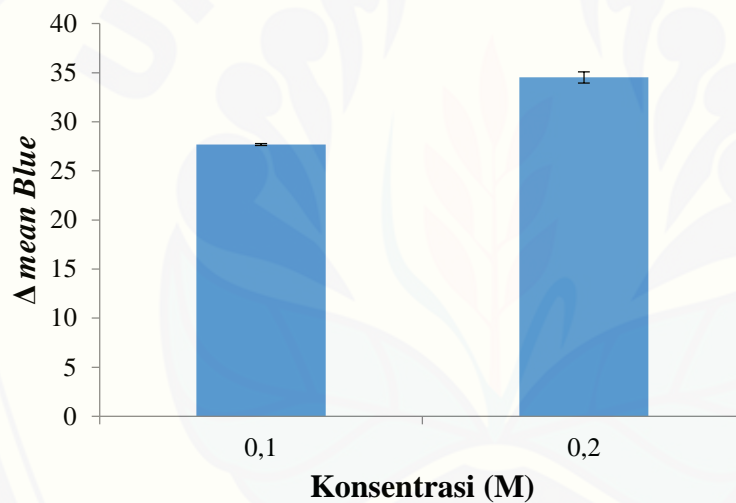
Konsentrasi	Respon
1 mM	
3 mM	
5 mM	
10 mM	
15 mM	

Lampiran B. Optimasi konsentrasi Na_2CO_3

Data pengukuran respon terhadap variasi konsentrasi Na_2CO_3

Replikasi	<i>mean Blue</i>			Δ <i>mean Blue</i>	
	Putih	0,1 M	0,2 M	0,1 M	0,2 M
1		187,785	181,414	27,591	33,962
2	215,376	187,648	180,268	27,728	35,108
3		187,593	180,874	27,783	34,502
		Rata-rata		27,701	34,524
		SD		0,099	0,573

Grafik optimasi konsentrasi Na_2CO_3

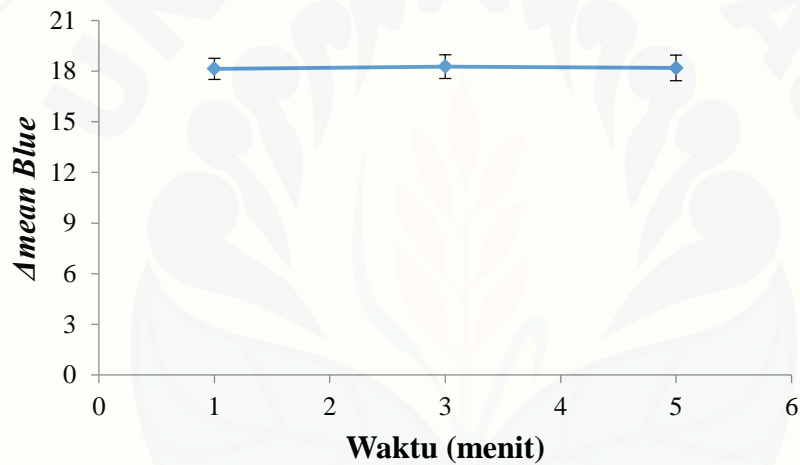


Lampiran C. Optimasi waktu inhibisi

Data pengukuran respon terhadap variasi waktu inhibisi pada konsentrasi akarbose 20000 $\mu\text{g/mL}$.

Waktu (menit)	<i>mean Blue</i>			Δ <i>mean Blue</i>			Rata-rata	SD
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
1	197,905	197,149	196,680	17,471	18,227	18,696	18,131	0,618
3	197,583	196,303	197,446	17,793	19,073	17,930	18,265	0,703
5	197,706	197,547	196,324	17,670	17,829	19,052	18,184	0,756

Grafik optimasi waktu inhibisi

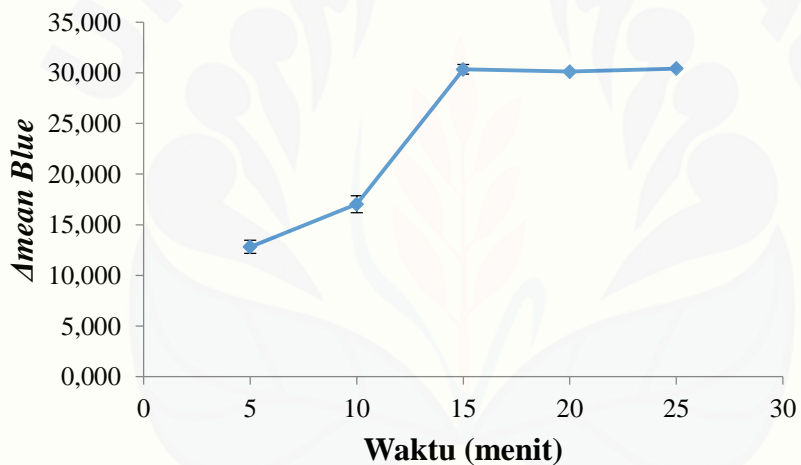


Lampiran D. Waktu respon

Data pengukuran waktu respon standar akarbose 500 $\mu\text{g/mL}$.

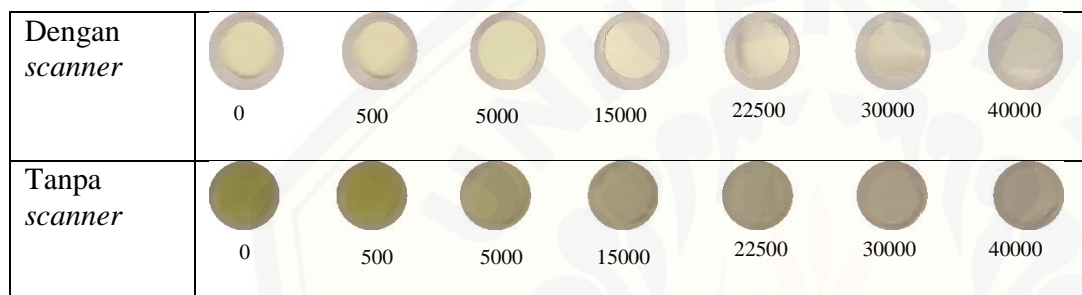
Waktu (menit)	Putih	<i>Mean Blue</i>			Δ <i>Mean Blue</i>			Rata- rata	SD
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
5		202,116	203,385	202,678	13,436	12,167	12,874	12,826	0,636
10		198,348	197,771	199,437	17,204	17,781	16,115	17,033	0,846
15	215,552	184,946	184,916	185,763	30,606	30,636	29,789	30,344	0,481
20		185,469	185,356	185,487	30,083	30,196	30,065	30,115	0,071
25		185,181	185,145	185,071	30,371	30,407	30,481	30,420	0,056

Kurva waktu respon standar standar akarbose 500 $\mu\text{g/mL}$.



Lampiran E. Linieritas

Gambar pengukuran linieritas standar akarbose



Data pengukuran linieritas standar akarbose

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	(a)	Blanko (b)	Mean Blue (c)			SI (a-b)	S _{et} I (a-c)			% Inhibisi			Rata-rata	SD
			Rep 1	Rep 2	Rep 3		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
500			184,858	184,739	185,259		30,694	30,813	30,293	14,871	14,541	15,983	15,132	0,756
5000			188,285	188,638	188,320		27,267	26,914	27,232	24,376	25,355	24,473	24,735	0,539
15000	215,552	179,496	193,558	193,763	193,073	36,056	21,994	21,789	22,479	39,000	39,569	37,655	38,742	0,983
22500			197,611	198,231	197,952		17,941	17,321	17,600	50,241	51,961	51,187	51,130	0,861
30000			202,956	203,529	203,292		12,596	12,023	12,260	65,065	66,655	65,997	65,906	0,799
40000			208,455	208,977	209,414		7,097	6,575	6,138	80,317	81,764	82,976	81,686	1,332

Lampiran F. LOD dan LOQ

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) (X)	% Inhibisi (Y)	Yi	Y-Yi	(Y-Yi) ²	
500	15,132	15,62	-0,49	0,24	
5000	24,735	23,27	1,47	2,15	
15000	38,742	40,27	-1,53	2,34	
22500	51,130	53,02	-1,89	3,57	
30000	65,906	65,77	0,14	0,02	
40000	81,686	82,77	-1,08	1,18	
				1,58	
				$S(Y/X)^2$	0,395
				$S(Y/X)$	0,628
				LOD	1109,6
				LOQ	3698,8

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= \frac{3 \times S(y/x)}{b \text{ (slope)}} \\ &= \frac{3 \times 0,6288}{0,0017} \\ &= 1109,647 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{LOQ} &= \frac{10 \times S(y/x)}{b \text{ (slope)}} \\ &= \frac{10 \times 0,6288}{0,0017} \\ &= 3698,824 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

Lampiran G. Presisi

1. Presisi *Repeatability*

Akarbose



Replikasi	(a)	Blanko (b)	<i>Mean Blue</i> (c)	% Inhibisi
1			186,139	18,107
2			186,294	18,536
3	215,745	179,593	186,615	19,424
4			186,306	18,569
5			186,541	19,219
6			186,139	18,107
Rata-rata			186,356	18,660
SD				0,553
RSD (%)				2,695

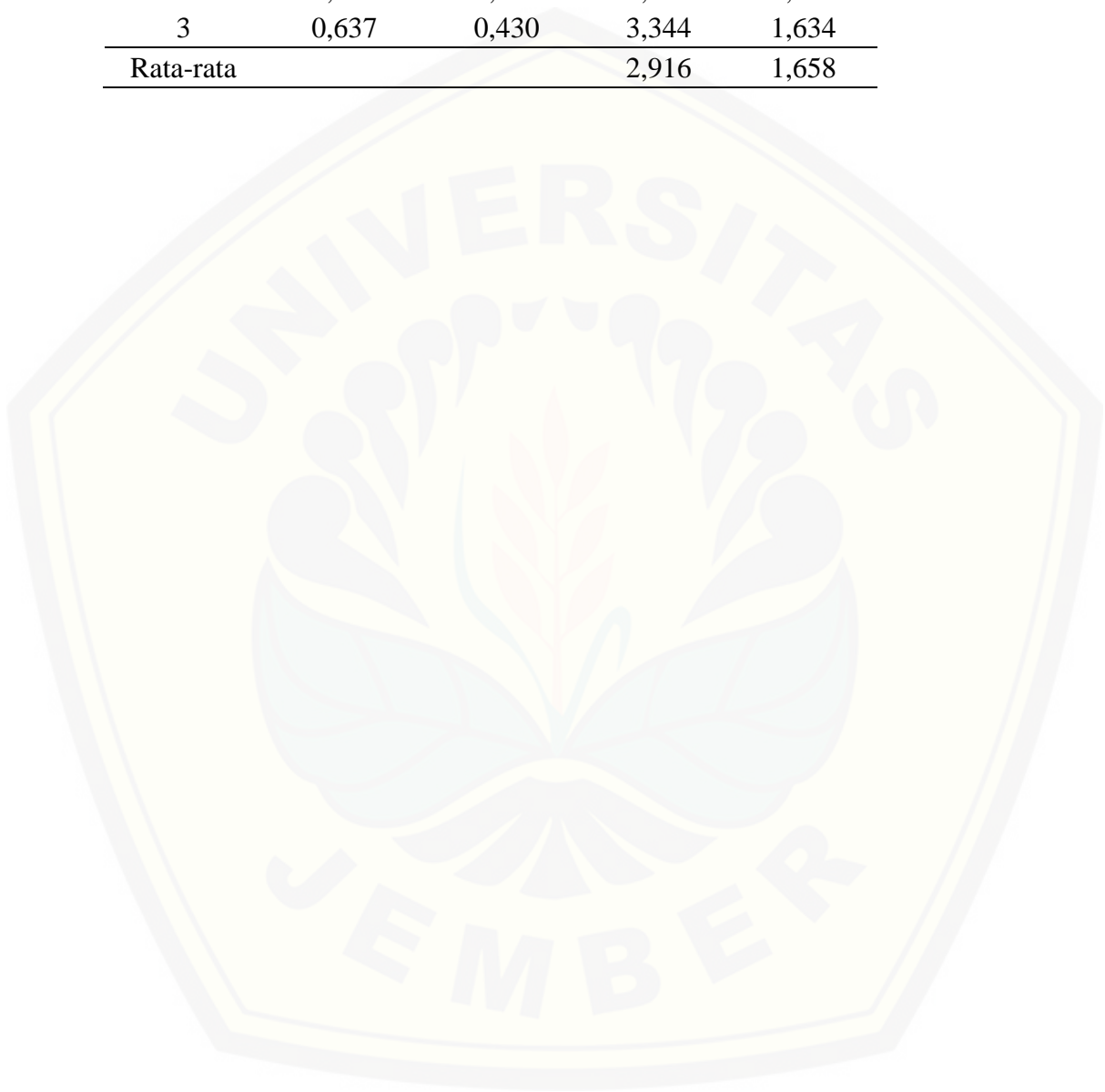
Sambiloto



Replikasi	(a)	Blanko (b)	<i>Mean Blue</i> (c)	% Inhibisi
1			188,184	23,764
2			188,455	24,513
3	215,745	179,593	188,372	24,284
4			188,592	24,892
5			188,336	24,184
6			188,513	24,674
Rata-rata			188,408	24,385
SD				0,398
RSD (%)				1,634

2. Presisi Antara

Hari ke-	SD		RSD (%)	
	Akarbose	Sambiloto	Akarbose	Sambiloto
1	0,553	0,398	2,965	1,634
2	0,467	0,424	2,439	1,706
3	0,637	0,430	3,344	1,634
Rata-rata			2,916	1,658



Lampiran H. Akurasi

Persamaan regresi : $Y = 0,0017x + 14,77$

Perhitungan teoritis

Konsentrasi akarbose ($\mu\text{g/mL}$)	Adisi	Konsentrasi adisi	Konsentrasi teoritis
2000	30%	600	2600
	45%	900	2900
	60%	1200	3200

Perhitungan percobaan

Adisi	(a)	Blanko (b)	<i>Mean Blue</i> (c)	Konsentrasi percobaan
30%	215,611	179,479	186,435	2596,279
			186,407	2550,855
			186,452	2623,857
45%	215,611	179,479	186,707	3079,075
			186,695	3059,539
			186,613	2926,042
60%	215,611	179,479	186,881	3362,350
			186,783	3202,805
			186,795	3222,341

Perhitungan akurasi

Adisi	Konsentrasi teoritis	Konsentrasi percobaan	% Recovery	Rata-rata	SD
30%	2600	2596,279	99,857	99,628	1,417
		2550,855	98,110		
		2623,857	100,918		
45%	2900	3079,075	106,175	104,191	2,872
		3059,539	105,501		
		2926,042	100,898		
60%	3200	3362,350	105,073	101,953	2,719
		3202,805	100,088		
		3222,341	100,698		

Lampiran I. Waktu pakaiPenyimpanan suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$)

Data pengukuran stabilitas

Menit Ke-	<i>Mean Blue</i>			Rata-rata	SD	% Penurunan
	Rep 1	Rep 2	Rep 3			
0	179,624	178,867	180,255	179,582	0,695	0,039
30	180,224	180,767	180,055	180,349	0,372	2,169
60	180,824	180,587	181,021	180,811	0,217	3,453
90	181,426	181,886	181,556	181,623	0,237	5,710
120	182,427	182,109	181,894	182,143	0,268	7,157
150	182,865	182,309	182,954	182,709	0,350	8,730
180	183,211	183,532	182,786	183,176	0,374	10,028
210	183,838	183,984	184,246	184,023	0,207	12,380
240	184,276	184,786	184,016	184,359	0,392	13,315
270	185,483	185,083	184,583	185,050	0,451	15,234





Penyimpanan suhu chiller ($2-8^{\circ}\text{C}$)

Data pengukuran stabilitas

Hari Ke-	<i>Mean Blue</i>			Rata-rata	SD	% Penurunan
	Rep 1	Rep 2	Rep 3			
0	179,624	179,867	179,255	179,582	0,308	0,03891
1	182,863	181,963	182,563	182,463	0,458	8,04524
2	184,373	184,825	183,138	184,112	0,873	12,6278
3	184,841	185,550	185,296	185,229	0,359	15,732

Lampiran J. Pengukuran % inhibisi sampel pada biosensor

Gambar hasil pengukuran

Sampel	Gambar
Sambiloto	
Salam	
Campuran	
Temulawak	

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	(a)	Blanko (b)	<i>Mean Blue</i> (c)			SI (a-b)	S_{etI} (a-c)			% Inhibisi			Rata- rata	SD
				Rep 1	Rep 2	Rep 3		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3		
Sambiloto	5000	215,568	179,349	188,858	188,739	188,259	36,214	26,710	26,829	27,309	26,254	25,926	24,600	25,593	0,876
Salam	2500	215,568	179,349	203,285	203,638	203,320	36,214	12,283	11,930	12,248	66,087	67,061	66,183	66,444	0,537
Campuran	5000	215,568	179,349	189,611	189,231	189,952	36,214	25,957	26,337	25,616	28,333	27,284	29,275	28,297	0,996
Temulawak	7500	215,568	159,522	168,812	169,064	168,519	56,046	46,756	46,504	47,049	16,576	17,025	16,053	16,551	0,487

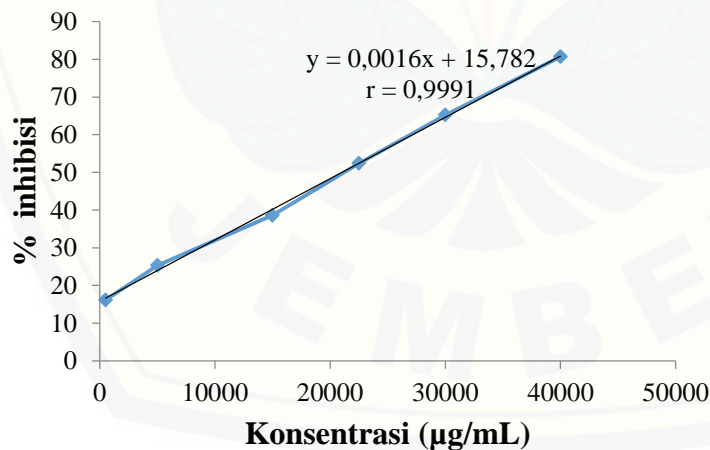
Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Inhibisi	Akarbose Ekuivalen
Sambiloto	5000	25,593	6366,470
Salam	2500	66,444	30396,470
Campuran	5000	28,297	7957,058
Temulawak	7500	16,551	1047,647

Lampiran K. Pengukuran sampel dengan spektrofotometer UV-Vis

Data pengukuran linieritas spektrofotometer UV-Vis

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)		Serapan			Rata- rata	A1-A0	% inhibisi
		Rep 1	Rep 2	Rep 3			
Blanko	A1	1,012	0,967	0,990	0,990	0,953	-
	A0	0,037	0,037	0,037	0,037		
500	A1	0,845	0,838	0,857	0,847	0,799	16,1652
	A0	0,05	0,045	0,049	0,048		
5000	A1	0,75	0,739	0,752	0,747	0,712	25,2974
	A0	0,038	0,034	0,034	0,035		
15000	A1	0,62	0,613	0,607	0,613	0,585	38,5934
	A0	0,028	0,026	0,031	0,028		
22500	A1	0,497	0,475	0,514	0,495	0,453	52,4143
	A0	0,049	0,038	0,039	0,042		
30000	A1	0,383	0,357	0,393	0,378	0,331	65,2554
	A0	0,046	0,05	0,044	0,047		
40000	A1	0,229	0,205	0,211	0,215	0,184	80,6858
	A0	0,028	0,031	0,034	0,031		

Kurva linieritas spektrofotometer UV-Vis



Lampiran L. Perbandingan metode dengan SPSS (*Independent T-test*)

Sambiloto

Group Statistics

	metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
sambiloto	spektro	3	25.64500	.707721	.408603
	biosensor	3	25.59333	.875745	.505612

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
sambiloto	Equal variances assumed	.263	.635	.079	4	.940	.051667	.650076	-1.753235	1.856568
	Equal variances not assumed			.079	3.831	.941	.051667	.650076	-1.785021	1.888354

Salam

Group Statistics

	metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
salam	spektro	3	65.93133	.629013	.363161
	biosensor	3	66.44367	.536777	.309908

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
salam	Equal variances assumed	.185	.689	-1.073	4	.344	-.512333	.477419	-1.837861	.813194
	Equal variances not assumed			-1.073	3.903	.345	-.512333	.477419	-1.850889	.826222

Campuran

Group Statistics

	metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
campuran	spektro	3	28.58200	.682464	.394021
	biosensor	3	28.29733	.995979	.575029

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
campuran	Equal variances assumed	.207	.673	.408	4	.704	.284667	.697073	-1.650718	2.220051
	Equal variances not assumed			.408	3.539	.706	.284667	.697073	-1.754355	2.323688

Temulawak

Group Statistics

	metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
temulawak	spektro	3	16.13467	.286371	.165336
	biosensor	3	16.55133	.486469	.280863

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
temulawak	Equal variances assumed	.490	.523	-1.278	4	.270	-.416667	.325914	-1.321550	.488217
	Equal variances not assumed			-1.278	3.238	.285	-.416667	.325914	-1.412123	.578790

Lampiran M. Kemasan Biosensor