

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Petai (*Parkia speciosa* Hassk.)

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Petai (*Parkia speciosa* Hassk.)

Tanaman petai berupa pohon dengan ketinggian antara 5 - 25 m dan membentuk percabangan yang banyak. Tanaman petai dapat tumbuh di daerah dataran rendah sampai di daerah pegunungan dengan ketinggian 1.500 m di atas permukaan laut. Namun tanaman ini akan tumbuh baik dan berproduksi tinggi pada daerah antara 500 - 1.000 m di atas permukaan laut. Menurut Seidemann (2005), petai (*Parkia speciosa* Hassk.) termasuk suku Mimosaceae dengan klasifikasi sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae

Divisio : Magnoliphyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Fabales

Suku : Mimosaceae

Marga : *Parkia*

Jenis : *Parkia speciosa* Hassk.

Nama Lokal : Patai (Minang Kabau), foopatu (Buru), pateh (Ambon), parira (Batak Karo), palia/ pelia (Batak Toba), petai (Katingan, Sampit), puti (Sumba), pode (Bima), pote (Sawu), paloh (ceram), pateka (Ambon), sindutan (Jawa), dan petar (Lampung) (Heyne, 1987; Wiart, 2006).



Gambar 1. (a) Pohon petai dan (b) buah petai beserta kulit buahnya (Mahardhika, 2013)

2.1.2 Deskripsi Tanaman Petai

Petai dapat tumbuh di daerah dataran rendah sampai di daerah pegunungan. Namun tanaman ini akan tumbuh baik dan berproduksi tinggi pada daerah antara 500 - 1.000 m di atas permukaan laut. Daun menyirip ganda berbentuk majemuk dengan panjang 5 - 9 cm dan lebar 1,5 - 2,2 cm serta memiliki tebal 121 - 150,04 μm . Setiap induk tangkai memiliki daun, daun muda yang berkisar 1 - 3 minggu memiliki warna hijau muda, sedangkan daun petai yang tergolong dewasa-tua berkisar lebih dari 3 minggu memiliki warna tua hingga kecoklatan. Tanaman petai memiliki daun berujung tumpul dengan pinak daun 3 - 4 pasang. Bagian pangkal basal daun petai berbentuk simetris yang runcing (Rugayah *et al.*, 2014).

Karangan bunga pada petai berbentuk bongkol yang terkulai dengan tangkai yang panjang, bunga yang masih muda dan belum mekar berwarna hijau. Setelah bunga dewasa dan terlihat benang sari serta putiknya, bunga petai berubah menjadi warna kuning. Ukuran bunga petai menjadi lebih besar, buah berbentuk kulit buah panjang dan pipih. Biji petai tersusun rapi dalam kulit buah yang menggantung di pohon dan pada setiap kulit buah terdapat 10 - 18 biji yang

diselaputi kulit tipis bewarna putih ketika muda. Selaput tersebut akan menjadi bewarna kuning pada saat biji sudah tua (Endang, 1995).

2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Petai

Petai dapat dijadikan sebagai sumber energi, memiliki protein, karbohidrat, fosfor, vitamin A, dan zat besi. Petai juga mengandung vitamin C yang cukup tinggi dan vitamin C sangat penting peranannya dalam proses hidroksilasi asam amino prolin dan lisin menjadi hidroksi prolin dan hidroksi lisin. Perannya adalah dalam proses penyembuhan luka serta daya tahan tubuh melawan infeksi dan stres. Tanaman petai mengandung alkaloid, saponin, terpenoid, fenolik, flavonoid, dan tanin. Senyawa yang terkandung pada biji maupun kulit buah petai antara lain lektin, sisteina, stigmast-4-en-on, polisulfida siklik (heksationana, tetratiana, tritolana, pentatiepana, pentatiokana, dan tetratiepana, formaldehida, tiol, dan asam tiazolidina-4-karboksilat (Agoes, 2010).

2.1.4 Manfaat Tanaman Petai untuk Pengobatan

Kulit buah petai yang selama ini menjadi limbah organik, ternyata bermanfaat untuk kesehatan. Hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap kulit buah petai menunjukkan adanya efek hipoglikemik, aktivitas antioksidan dan antibakteri. Kulit buah petai mengandung senyawa metabolit sekunder golongan saponin, flavonoid, dan tanin (Kamisah dkk., 2013).

Salah satu tumbuhan obat yang telah diketahui memiliki khasiat sebagai antioksidan adalah petai (*Parkia speciosa* Hassk), baik pada biji maupun kulit bagian luar dan dalamnya. Petai banyak ditemukan di Asia Tenggara. Bijinya sering dikonsumsi masyarakat, baik dalam kondisi segar maupun diolah bersama bahan pangan lainnya. Biji petai memiliki khasiat untuk mengobati penyakit lever (hepatalgia), edema, radang ginjal (nefritis), diabetes, kanker, kolera dan cacingan.

kulit buah petai bagian dalam (prikarp) juga dapat dimakan bersamaan dengan bijinya karena dipercaya berkhasiat menurunkan kadar gula darah. Selain berpotensi sebagai antidiabetes, biji dan kulit buah petai juga telah diketahui mengandung senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan dengan nilai konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀) sebesar 26 mg/L pada biji, 3,90 mg/L pada kulit bagian luar, dan 46,90 mg/L pada kulit bagian dalam (Kurniawati, 2014).

2.2 Penyakit Alzheimer

Penyakit Alzheimer adalah kerusakan otak yang ditandai dengan penurunan dari perhatian, memori, dan kepribadian. Fungsi kognitif pada penderita penyakit Alzheimer tidak hilang pada satu saat. Fungsi pertama yang menurun adalah perhatian dan memori. Perubahan kepribadian sering muncul ketika penderita menjadi kurang spontan, lebih apatis, dan menarik diri. Munculnya penurunan perhatian terhadap diri sendiri dan masalah perilaku muncul ketika penderita menjadi sering berjalan dan tersesat. Penderita mengalami disorientasi dalam memperhatikan waktu, lokasi, dan identitas mereka. Penurunan ini semakin berkembang jika penderita mengalami kekurangan dalam bahasa atau mempunyai sejarah pada alkohol atau gangguan neurologis seperti stroke atau Parkinson (Sarafino, 2006).

Memori merupakan suatu proses penyimpanan dan pengeluaran kembali informasi yang didapat dari proses belajar. Penyimpanan dan pemanggilan kembali informasi yang telah disimpan terjadi melalui sinyal-sinyal syaraf yang dijalankan melalui neuron ke neuron berikutnya melalui batas antar neuron (*interneuronal junction*) yang disebut sinaps. Sinyal-sinyal di antara neuron dihantar oleh senyawa neurotransmitter, salah satu neurotransmitter adalah asetilkolin (ACh). Asetilkolin disekresi sebagian besar di daerah otak (Lynch, 2004).

Penyakit Alzheimer merupakan bentuk demensia yang paling umum, berjumlah kira-kira dua-pertiga dari semua kasus. Hal ini dapat menyebabkan penurunan kemampuan kognitif secara berangsur-angsur, sering bermula dengan kehilangan daya ingat. Penyebab dari 60 – 70% kasus demensia adalah Alzheimer yang dapat dikatakan sebagai salah satu bentuk penyakit spesifik dari demensia. Berbeda dengan beberapa penyakit atau gangguan fungsi tubuh akibat infeksi dan penggunaan obat yang menyebabkan demensia, Alzheimer disebabkan kerusakan atau kematian sel otak dan belum dapat disembuhkan hingga saat ini, bersifat progresif dan berlangsung dalam waktu yang lama. Biasanya seseorang mulai terdiagnosis pada umur 60 tahun namun individu usia muda pun dapat mengalaminya. Hal ini dapat menyebabkan keadaan vegetatif total dan kemudian kematian (Lynch, 2004).

Alzheimer merupakan salah satu akibat dari gangguan fungsi asetilkolin. Asetilkolinesterase (AChE) merupakan enzim yang berfungsi sebagai katalisator pada pemecahan asetilkolin (ACh) menjadi bentuk tidak aktif yaitu asetat dan kolin. Pengukuran aktivitas enzim AChE dapat menggambarkan akumulasi ACh dalam tubuh (Shah *et al.*, 2009). Hasil penelitian Park *et al.* (2004) menunjukkan pada penderita Alzheimer aktivitas enzim asetilkolinesterase lebih besar. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas AChE dapat menggambarkan potensi sebagai obat anti Alzheimer.

Tanda-tanda klasik yang dialami oleh kebanyakan penderita pada stadium awal antara lain *short-term memory loss* yang merupakan kemunduran fungsi memori merupakan tanda yang paling awal. *Learning and retaining new information* yaitu keadaan saat penderita mengalami kesulitan untuk belajar hal

yang baru. Akibatnya adalah mengulang-ulang sesuatu seperti pada pembicaraan dan janji. *Reasoning and abstractive thought* merupakan kesulitan untuk melihat kalender, memahami lelucon, atau menentukan waktu. Penderita mengalami kesukaran dalam menghitung buku cek, memasak, atau tugas yang membutuhkan langkah berurutan. *Judgment and planning* ditandai dengan pasien yang mengalami kesukaran dalam kemampuan untuk mengantisipasi atau mempertimbangkan akibat suatu peristiwa atau tindakan serta tidak mampu memecahkan masalah sehari-hari. *Language skills* ditandai dengan pasien yang sangat sulit menemukan kata yang benar dalam mengungkapkan pikiran. *Inhibition and impulse control* merupakan penderita yang dahulu pasif menjadi lebih agresif dan kadang-kadang berperilaku tidak wajar.

Berdasarkan beberapa gambaran mengenai penyakit Alzheimer di atas dapat disimpulkan bahwa penyakit Alzheimer merupakan penurunan kemampuan kognitif yang terjadi secara progresif dan penderita mengalami beberapa perubahan. Penyakit Alzheimer merupakan bentuk paling umum dari demensia. Dua pendekatan utama digunakan untuk mengidentifikasi penyebab penyakit tersebut, yaitu kolinergik dan nonkolinergik (Kitphati *et al.*, 2012).

Salah satu strategi pengobatan Alzheimer adalah melalui peningkatan fungsi kolinergik dengan penggunaan inhibitor asetilkolinesterase (AChE) untuk meningkatkan jumlah asetilkolin dalam sinapsis antara saraf kolinergik. Menurut Wollen (2010), obat komersial yang telah banyak digunakan untuk pengobatan Alzheimer merupakan inhibitor AChE, yaitu donepezil, rivastigmina, galantamina, dan takrin. Donepezil HCl adalah inhibitor spesifik dan reversibel dari asetilkolinesterase (AChE), suatu kolinesterase utama di otak. Donepezil meningkatkan fungsi kolinergik dengan cara meningkatkan konsentrasi asetilkolin

yaitu melalui efek penghambatan hidrolisis asetilkolin oleh AChE. Inhibitor AChE seperti takrin diketahui memiliki keterbatasan berupa efek samping seperti hepatotoksisitas serta harga yang mahal (Jung dan Park 2007). Oleh karena itu, penelitian untuk menemukan inhibitor AChE terus dilakukan, terutama inhibitor berbasis tanaman obat dengan harapan dapat mengurangi atau menghindari efek samping yang dapat ditimbulkan.

Inhibitor AChE merupakan pengobatan Alzheimer dengan pendekatan kolinergik. Sementara itu, pendekatan nonkolinergik dapat dilakukan melalui penggunaan antioksidan. Stres oksidatif yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif telah diketahui sebagai penyebab oksidasi biomolekul sehingga terjadi kerusakan sel. Hal tersebut dapat menyebabkan proses neurodegeneratif termasuk defisiensi kognitif sebagai penyebab penuaan otak, Alzheimer, dan penyakit Parkinson (Orhan *et al.*, 2007). Oleh karena itu, penelitian mengenai pengobatan Alzheimer dengan inhibitor AChE sering kali disertai dengan pengujian aktivitas antioksidan.

2.3 Patogenesis Penyakit Alzheimer

2.3.1 Faktor Genetik

Beberapa peneliti mengungkapkan 50% prevalensi kasus Alzheimer ini diturunkan melalui gen *autosomal dominant*. Individu keturunan garis pertama pada keluarga penderita Alzheimer mempunyai risiko menderita demensia 6 kali lebih besar dibandingkan kelompok kontrol normal. Pemeriksaan genetika DNA pada penderita Alzheimer terdapat kelainan lokus pada kromosom 21 dan kromosom 19. Hasil penelitian penyakit Alzheimer terhadap anak kembar menunjukkan 40 - 50% adalah *monozygote* dan 50% adalah *dizygote*. Keadaan ini

mendukung bahwa faktor genetik berperan dalam penyakit Alzheimer (Japardi, 2002).

2.3.2 Faktor Infeksi

Terdapat hipotesis yang menunjukkan terdapatnya infeksi virus pada keluarga penderita Alzheimer karena ditemukan adanya antibodi reaktif. Infeksi virus tersebut menyebabkan infeksi pada susunan saraf pusat yang bersifat lambat, kronik dan remisi. Beberapa penyakit infeksi seperti Creutzfeldt-Jacob *disease* dan kuru (penyakit neurologis), diduga berhubungan dengan penyakit Alzheimer. Hipotesis tersebut mempunyai beberapa persamaan antara lain manifestasi klinik yang sama, tidak adanya respon imun yang spesifik, adanya plak amiloid pada susunan saraf pusat, timbulnya gejala mioklonus, adanya gambaran spongiform (Japardi, 2002).

2.3.3 Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan juga dapat berperan dalam patogenesis penyakit Alzheimer. Faktor lingkungan antar lain, aluminium, silikon, merkuri, dan seng. Aluminium merupakan neurotoksik potensial pada susunan saraf pusat. Hal tersebut belum dapat dijelaskan secara pasti, apakah keberadaan aluminium adalah penyebab degenerasi neurosal primer atau sesuatu hal yang tumpang tindih. Pada penderita Alzheimer, juga ditemukan keadaan ketidakseimbangan merkuri, nitrogen, fosfor, sodium, dengan patogenesis yang belum jelas. Ada dugaan bahwa asam amino glutamat akan menyebabkan depolarisasi melalui reseptor *N-methyl D-aspartate* sehingga kalsium akan masuk ke intraseluler (cairan-influks) dan menyebabkan kerusakan metabolisme energi seluler dengan akibat kerusakan dan kematian neuron (Japardi, 2002).

2.3.4 Faktor Immunologis

Sebanyak 60% pasien yang menderita Alzheimer didapatkan kelainan serum protein seperti penurunan albumin dan peningkatan *alpha* protein, anti *trypsin alphamarcoglobuli*, dan haptoglobuli. Faktor imunologis tersebut dapat memengaruhi otak penderita Alzheimer. Akibatnya dapat terjadi penurunan fungsi kognitif otak (Japardi, 2002).

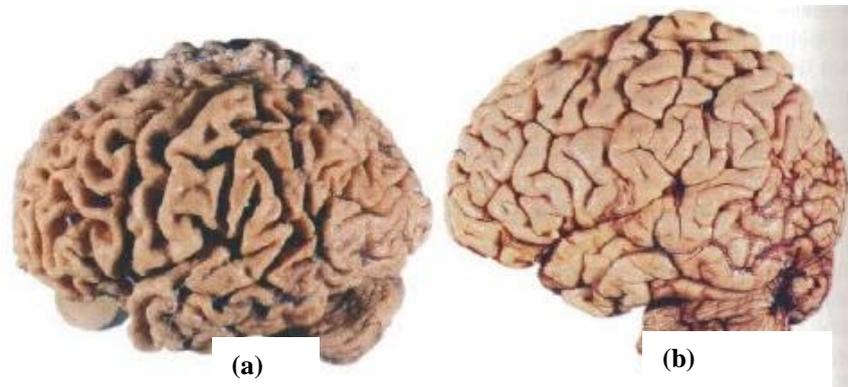
2.3.5 Faktor Trauma

Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan penyakit Alzheimer dengan trauma kepala. Hal ini dihubungkan dengan petinju yang menderita demensia pugilistik, pada otopsinya ditemukan banyak *neurofibrillary tangles*. Faktor trauma merupakan salah satu penyebab terjadinya Alzheimer. Apabila trauma parah terjadi di kepala, dapat mengakibatkan otak mengalami kerusakan ataupun penurunan fungsi kognitif.

2.3.6 Faktor Neurotransmitter

Perubahan neurotransmitter pada jaringan otak penderita Alzheimer mempunyai peranan yang sangat penting seperti asetilkolin, noradrenalin, dopamin, serotonin, dan monoamin oksidase (MAO). Terdapat penurunan aktivitas asetilkolin transferase, transpor kolin, dan penurunan biosintesis asetilkolin pada penderita Alzheimer. Kadar metabolisme norepinefrin dan dopamin didapatkan menurun pada jaringan otak penderita Alzheimer. Konsentrasi noradrenalin menurun baik pada post dan ante-mortem penderita Alzheimer. Terjadi peningkatan MAO A pada hipotalamus dan frontais sedangkan MAO B meningkat pada daerah temporal dan menurun pada nukleus basalis dari meynert pada penderita Alzheimer. Otak penderita Alzheimer terlihat

lebih mengkerut dan mengecil akibat apoptosis sel-sel otak pada saat yang hampir bersamaan (Japardi, 2002).



Gambar 2. Beda otak penderita Alzheimer (a) dan otak normal (b) (Japardi, 2002)

2.4 Antioksidan

Menurut Kosasih (2004), definisi antioksidan adalah zat yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron sehingga tidak reaktif lagi. Berkaitan dengan fungsinya, senyawa antioksidan diklasifikasikan dalam lima tipe antioksidan, yaitu *primary antioxidants*, *oxygen scavengers*, *secondary antioxidants*, *antioxidative enzyme*, dan *chelators sequestrants*. *Primary antioxidants*, yaitu senyawa-senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Senyawa antioksidan yang termasuk kelompok ini, misalnya BHA (*butylated hydroxyanisole*), BHT (*butylated hydroxy toluene*), PG (*propyl gallate*), TBHQ (*tert-butyl hydroquinone*), dan tokoferol.

Oxygen scavengers, yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini, senyawa tersebut akan bereaksi dengan oksigen yang berada dalam sistem sehingga jumlah

oksigen akan berkurang. Contoh dari senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat), askorbilpalminat, asam eritorbat, dan sulfit. *Secondary antioxidants*, yaitu senyawa-senyawa yang mempunyai kemampuan untuk berdekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Tipe antioksidan ini pada umumnya digunakan untuk menstabilkan poliolefin resin. Contohnya: asam tiodipropionat dan dilauriltiopropionat.

Antioxidative enzyme, yaitu enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya glukose oksidase, superoksidase dismutase (SOD), glutation peroksidase, dan katalase. *Chelators sequestrants*, yaitu senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam seperti besi dan tembaga yang mampu mengkatalis reaksi oksidasi lemak. Senyawa yang termasuk didalamnya adalah asam sitrat, asam amino, asam etilen diamin tetra asetat (EDTA), dan fosfolipid

2.4.1 Metode Pengukuran Antioksidan

Metode untuk menentukan aktivitas antioksidan ada beberapa cara, yaitu metode BCB (*β -Carotene Bleaching Method*) atau Metode Pemutihan β -karoten, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil Radical Scavenging Method*) (Metode Pemerangkapan Radikal Bebas DPPH), TBARS Assay (*Thiobarbituric Acid-Reactive Substance*), CUPRAC Assay (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*), ORAC Assay (*Oxygen-Radical Absorbance Capacity*), dan FRAP Assay (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

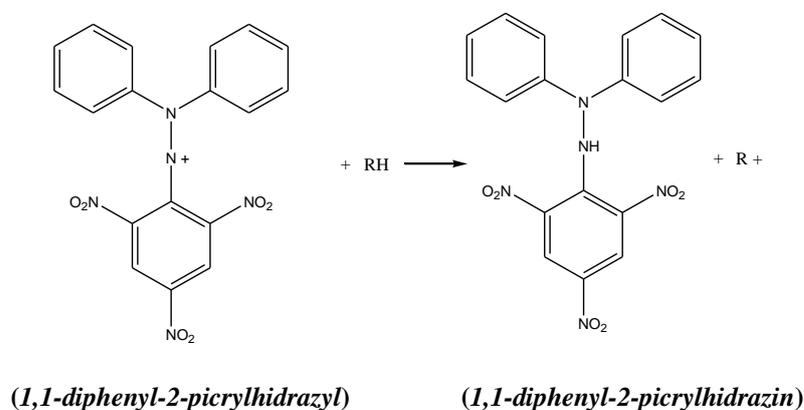
2.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat adalah metode uji dengan menggunakan radikal bebas DPPH.

Metode ini dipilih karena lebih sederhana. Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}). Hal ini dapat dicapai dengan cara menginterpretasikan data eksperimental dari metode tersebut.

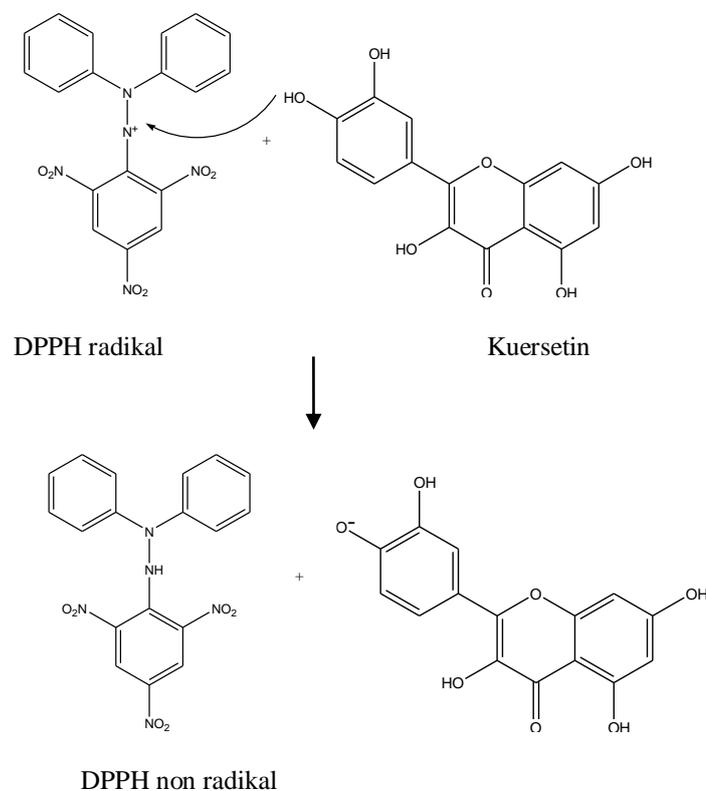
DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak. Karena adanya elektron yang tidak berpasangan, DPPH memberikan serapan kuat pada 517 nm. Elektron menjadi berpasangan karena terdapatnya penangkap radikal bebas yang menyebabkan absorbansinya menurun secara stokiometri sesuai jumlah elektron yang diambil. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour *et al.*, 2009).

Metode DPPH merupakan metode yang mudah, cepat, dan sensitif untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu atau ekstrak tanaman (Koleva *et al.*, 2010). DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) yang bersifat sebagai radikal bebas akan diikat oleh ekstrak yang mengandung antioksidan. Ekstrak akan menstabilkan DPPH yang memiliki elektron yang tak berpasangan dengan mekanisme sebagai berikut :



Gambar 3. Reaksi DPPH dengan antioksidan (Molyneux, 2003)

Mekanisme kuersetin yang termasuk tipe *secondary antioxidants* adalah dengan memiliki kemampuan untuk berdekomposisi hidroperoksida sehingga menjadi produk akhir yang stabil. Kuersetin akan mengubah DPPH yang bersifat radikal sehingga menjadi DPPH non radikal. DPPH non radikal akan bersifat lebih stabil. Kemampuan senyawa kuersetin dalam menangkap radikal bebas dapat dikaitkan dengan adanya gugus hidroksi fenolik yang dapat sebagai donor atom hidrogen pada radikal. Adapun mekanisme reaksinya sebagai berikut :



Gambar 4. Mekanisme kerja kuersetin dan DPPH (Erika, 2014)

2.5 Pengujian Asetilkolinesterase (AChE)

Berbagai macam metode telah dikembangkan selama dekade terakhir untuk kuantifikasi penghambatan aktivitas AChE. Uji yang paling umum didasarkan pada metode Ellman yang menggunakan substrat asetilkolin iodida (ATCI) dan *5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid* (DTNB). Metode ini memanfaatkan reaksi kolorimetri yang terjadi antara ATCI dan DTNB untuk menghasilkan anion

kuning dari asam 5-tio-2-nitro-benzoat. Metode ini memiliki beberapa kelemahan, termasuk gangguan yang besar dari beberapa senyawa. Metode ini sangat terbatas untuk pengujian terhadap antidots AChE organofosfat, atau untuk mengukur aktivitas AChE dalam sampel individu yang diberi perlakuan. Antidot berisi kelompok oxime reaktif yang dapat memisahkan DTNB dan memberikan reaksi positif palsu dalam proses yang disebut *oximolysis* (Houghton, 2006).

2.6 ELISA (*Enzyme - Linked Immunosorbent Assay*)

ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) merupakan teknik biokimia yang banyak digunakan di bidang imunologi untuk mendeteksi adanya antibodi atau antigen pada suatu sampel. Fungsi dari tes ELISA yaitu bukan hanya untuk mengetahui keberadaan suatu antigen dengan antibodi tetapi juga untuk mengukur kadar antigen atau antibodi tersebut dengan menggunakan alat spektrofotometer (World Health Organization, 2008).

Spektrofotometer adalah sebuah alat yang dapat mengukur jumlah dari cahaya yang menembus sumuran dari *microplate*. Setelah pemberian substrat, akan terbentuk kompleks antigen-antibodi yang terjadi pada *well microplate*. Enzim yang terikat pada antibodi ke dua pada kompleks antigen-antibodi yang terbentuk akan memberikan perubahan warna pada cairan tersebut, sehingga akan memberikan *optical density* yang berbeda. *Optical density* dapat dinyatakan meningkat atau menurun berdasarkan pengenceran material standart, sehingga akan menghasilkan kurva *dose-response* yang nantinya akan digunakan untuk mengestimasi kadar protein tersebut (World Health Organization, 2008).

Microplate reader pada ELISA adalah suatu spektrofotometer khusus yang disusun untuk membaca lempeng mikro (*microplate*). Prinsip kerja dari alat ini

menggunakan prinsip spektrofotometri yang sama seperti metode konvensional, tetapi dapat menghasilkan peningkatan jumlah sampel yang dapat dianalisis (Heredia *et al.*, 2006). Perbedaan dengan spektrofotometer konvensional yang memfasilitasi pembacaan pada berbagai panjang gelombang, *microplate reader* memiliki filter atau kisi-kisi difraksi yang membatasi rentang panjang gelombang yang digunakan dalam ELISA, umumnya antara 400 sampai 750 nm (World Health Organization, 2008).

Microplate reader bekerja dalam rentang ultraviolet dan melakukan analisis antara 340 - 700 nm. Kelebihan dari ELISA yaitu hanya menggunakan sampel dalam jumlah yang kecil sekitar 200 μ L sehingga cocok untuk pengujian enzim. Sistem optik yang dimanfaatkan oleh banyak produsen menggunakan serat optik untuk menyuplai cahaya untuk sumur lempeng mikro yang berisi sampel. Berkas cahaya yang melewati sampel memiliki diameter yang berkisar antara 1 sampai 3 mm. Suatu sistem deteksi mendeteksi cahaya yang berasal dari sampel, menguatkan sinyal dan menentukan absorbansi sampel. Selanjutnya suatu sistem pembacaan mengubahnya menjadi data yang memungkinkan interpretasi hasil pengujian. Saat ini beberapa *microplate reader* menggunakan sistem berkas cahaya ganda (World Health Organization, 2008).