

**OPTIMASI IMUNOSENSOR ELEKTROKIMIA BERBASIS
NANOBODI PADA *Screen-Printed Gold Electrode* (SPGE)
SEBAGAI DETEKTOR KORTISOL**

SKRIPSI

**RAHEL MARGARENTA SINABUTAR
A 221 072**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2026**

**OPTIMASI IMUNOSENSOR ELEKTROKIMIA BERBASIS
NANOBODI PADA *Screen-Printed Gold Electrode* (SPGE)
SEBAGAI DETEKTOR KORTISOL**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**RAHEL MARGARENTA SINABUTAR
A 221 072**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2026**

LEMBAR PENGESAHAN

**OPTIMASI IMUNOSENSOR ELEKTROKIMIA BERBASIS NANOBIODI
PADA *Screen-Printed Gold Electrode* (SPGE) SEBAGAI DETEKTOR
KORTISOL**

**RAHEL MARGARENTA SINABUTAR
A 221 072**

Juni 2026

Disetujui oleh :

Pembimbing



Umi Baroroh, S.Si., M.Biotek

Pembimbing



Nur Asni Setiani, M.Si

KUTIPAN

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

ABSTRAK

Stres merupakan masalah kesehatan global yang berkaitan dengan peningkatan hormon kortisol sebagai biomarker utama respons stres. Penelitian ini bertujuan mengembangkan immunosensor elektrokimia berbasis nanobody kortisol (NbCor) pada platform *Screen-Printed Gold Electrode* (SPGE) untuk deteksi kortisol secara sensitif dan selektif. Nanobody diimobilisasi pada permukaan SPGE, kemudian dikarakterisasi menggunakan *Cyclic Voltammetry* (CV), sedangkan respons sensor dievaluasi menggunakan *Differential Pulse Voltammetry* (DPV). Optimasi dilakukan pada konsentrasi NbCor 1; 5; dan 10 mg/mL untuk memperoleh kondisi imobilisasi optimum. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi NbCor 10 mg/mL menghasilkan nilai inhibisi tertinggi sebesar 70,16%. Sensor memberikan respons linear terhadap konsentrasi kortisol dengan persamaan regresi $y = -36,667x - 44,828$ dan nilai R^2 sebesar 0,9445. Nilai *Limit of Detection* (LoD) dan *Limit of Quantification* (LoQ) masing-masing sebesar 3,58 ng/mL dan 10,85 ng/mL. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa immunosensor elektrokimia berbasis SPGE–NbCor berhasil dikembangkan dan dioptimasi untuk deteksi kortisol dengan kinerja analitik yang baik, ditunjukkan oleh keberhasilan imobilisasi nanobody, respons yang linear terhadap peningkatan konsentrasi kortisol serta memiliki sensitivitas yang memadai, sehingga berpotensi untuk pengembangan sistem deteksi kortisol berbasis elektrokimia.

Kata kunci: kortisol, nanobody, SPGE, biosensor, elektrokimia.

ABSTRACT

Stress is a global health concern associated with elevated cortisol levels, the primary biomarker of the physiological stress response. This study aimed to develop an electrochemical immunosensor based on cortisol nanobodies (NbCor) using a Screen-Printed Gold Electrode (SPGE) platform for sensitive and selective cortisol detection. The nanobodies were immobilized on the SPGE surface and characterized using Cyclic Voltammetry (CV), while the sensor response was evaluated by Differential Pulse Voltammetry (DPV). The NbCor concentration was optimized at 1; 5; and 10 mg/mL to determine the optimal immobilization condition. The results showed that the optimum NbCor concentration was 10 mg/mL, yielding the highest inhibition value of 70.16%. The sensor exhibited a linear response to increasing cortisol concentrations with the regression equation $y = -36.667x - 44.828$ and a coefficient of determination (R^2) of 0.9445. The Limit of Detection (LoD) and Limit of Quantification (LoQ) were 3.58 ng/mL and 10.85 ng/mL, respectively. Based on these findings, the SPGE–NbCor electrochemical immunosensor was successfully developed and optimized for cortisol detection, demonstrating good analytical performance through successful nanobody immobilization, a linear response to increasing cortisol concentrations, and adequate sensitivity. Therefore, the developed sensor shows potential for further development as an electrochemical cortisol detection system.

Keywords: cortisol, nanobody, SPGE, electrochemical, biosensor.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yesus Kristus atas kasih karunia, penyertaan, dan berkat-Nya yang senantiasa melimpah, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“OPTIMASI IMUNOSENSOR ELEKTROKIMIA BERBASIS NANOBODI PADA *Screen-Printed Gold Electrode* (SPGE) SEBAGAI DETEKTOR KORTISOL”**

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Umi Baroroh, S.Si., M.Biotek dan Nur Asni Setiani, M.Si. yang telah dengan penuh kesabaran memberikan bimbingan, arahan, masukan, dukungan, pengorbanan yang diberikan, serta motivasi selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh pendidikan di institusi ini.
2. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik, yang telah memberikan dukungan dalam kelancaran proses akademik.
3. Dr. apt. Hesti Riasari, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi sekaligus Dosen Wali, yang telah memberikan arahan, motivasi, serta perhatian selama masa perkuliahan.
4. Seluruh dosen, staf administrasi, dan karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama penulis menempuh pendidikan.
5. Terima kasih untuk Mamah yang tidak pernah berhenti berdoa, berjuang, dan mencintai tanpa syarat. Setiap langkah dan pencapaian ini tidak akan pernah berarti tanpa doa, pengorbanan, dan kasih sayang Mamah yang menjadi kekuatan terbesar dalam hidup penulis. Terima kasih karena selalu ada dalam setiap jatuh dan bangkit, menjadi rumah paling aman, dan alasan penulis terus bertahan hingga titik ini. Skripsi ini adalah persembahan kecil untuk cinta yang begitu besar dan tidak akan pernah terbalas sepenuhnya.
6. TITABS, yaitu Elsa Maria dan Enjelina Sihotang, yang bukan hanya menjadi sahabat dan teman seperjuangan, tetapi juga telah menjadi keluarga dan tempat penulis pulang di tengah lelah dan panjangnya proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih karena selalu ada, mendengarkan setiap keluh kesah, menguatkan di saat penulis hampir menyerah, dan tetap bertahan bersama dalam setiap proses yang tidak mudah. Kehadiran kalian akan selalu menjadi bagian yang hangat dan berarti bagi

7. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dinda Eka Maharani, Enjel Fitriani Sagala, Iis Nurfitriani, dan Selfia Nazwal Shiyami yang telah menjadi bagian dari perjalanan penulis dalam meraih gelar sarjana. Terima kasih karena selalu hadir, berjuang bersama, saling menguatkan di masa sulit, serta menghadirkan tawa dan cerita yang membuat masa perkuliahan terasa lebih hangat dan ringan untuk dijalani. Kehadiran kalian akan selalu menjadi bagian berharga bagi penulis.
8. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Afina Putri Wibowo, Nuke Attahirah, dan Giessela Dinda yang meskipun kini berjalan dalam kesibukan dan perjuangan untuk meraih impian masing-masing, tetap memberikan perhatian, dukungan, dan doa bagi penulis. Walaupun tidak selalu hadir dalam setiap waktu, penulis percaya bahwa doa dan ketulusan kalian selalu menyertai setiap proses perjalanan ini.
9. Rekan-rekan mahasiswa angkatan 2022 yang telah memberikan kebersamaan, dukungan, serta semangat selama proses perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan karya ini di masa mendatang.

Akhir kata, penulis berharap kiranya skripsi ini dapat menjadi berkat serta memberikan manfaat bagi penulis sendiri maupun bagi pihak lain yang membutuhkan, khususnya dalam pengembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi dan biosensor.

Bandung, Juni 2026
Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	ii
DAFTAR GAMBAR	iii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Kegunaan Penelitian	4
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kortisol.....	5
2.2 Nanobodi Kortisol (NbCor)	7
2.3 <i>Platform Screen-Printed Gold Electrode (SPGE)</i>	9
BAB III TATA KERJA.....	11
3.1 Alat.....	11
3.2 Bahan	11
3.3 Metode Penelitian.....	11
3.3.1 Imobilisasi dan Optimasi Konsentrasi Nanobodi Kortisol pada SPGE	11
3.3.2 Optimasi Pengukuran Elektrokimia Kortisol Menggunakan Sensor SPGE-Nanobodi	12
3.3.3 Pembuatan Kurva kalibrasi dan Penentuan LoD dan LoQ.....	13
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Imobilisasi dan Optimasi Konsentrasi Nanobodi Kortisol pada SPGE	15
4.2 Optimasi Pengukuran Elektrokimia Kortisol Menggunakan Sensor SPGE-NbCor	21
4.3 Pembuatan Kurva kalibrasi dan Penentuan LoD dan LoQ	23

BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	30
5.1 Simpulan	30
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya	30
DAFTAR PUSTAKA.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4. 1 Nilai arus puncak (I_p) dan persentase inhibisi pada berbagai konsentrasi nanobodi kortisol (NbCor).	18
4. 2 Hasil pengukuran arus puncak (I_p) sensor SPGE–NbCor pada berbagai konsentrasi kortisol menggunakan metode DPV.....	23
4. 3 Parameter regresi linear untuk perhitungan LoD dan LoQ imunosensor kortisol	28
4. 4 Hasil perhitungan batas deteksi dan batas kuantifikasi.....	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Poros HPA yang menunjukkan hubungan antara CRH, ACTH, dan kortisol, serta menggambarkan mekanisme umpan balik negatif dari kortisol dan ACTH terhadap produksi CRH.....	5
4.1 Skema Imobilisasi dan Optimasi Konsentrasi Nanobodi Kortisol pada SPGE	15
4.2 Optimasi konsentrasi nanobodi kortisol (NbCor) pada permukaan SPGE menggunakan teknik <i>Cyclic Voltammetry</i> (CV).....	16
4.3 SPGE untuk Tahapan Imobilisasi dan Optimasi Konsentrasi nanobodi kortisol (NbCor) pada SPGE.....	17
4.4 Ilustrasi konsentrasi nanobodi kortisol (NbCor) terhadap transfer elektron pada permukaan SPGE.	19
4.5 Respons Differential Pulse Voltammetry (DPV) sensor SPGE–NbCor terhadap variasi konsentrasi kortisol	21
4.6 Kurva kalibrasi hubungan konsentrasi kortisol terhadap perubahan respons arus sensor SPGE–NbCor.....	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 GRAFIK CV OPTIMASI KONSENTRASI OPTIMUM NANOBODI KORTISOL	34
2 VOLTAMMOGRAM DPV BERBAGAI KONSENTRASI KORTISOL	35
3 PERHITUNGAN % INHIBISI PADA BERBAGAI KONSENTRASI NANOBODI KORTISOL (NBCOR).....	36
4 PERHITUNGAN LOD DAN LOQ	37

DAFTAR PUSTAKA

- Asni Setiani, N., Baroroh, U., Pia Handayani, A., Chairunnisa, N., & Mardiah, I. (2022). *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Hasil Penelitian Program Studi S1 Farmasi Konstruksi Plasmid Rekombinan pET-28a-Nanobodi Secara In Silico*.
- Baroroh, U., Setiani, N. A., Mardiah, I., Astriany, D., & Yusuf, M. (2022). Computational Design of Nanobody Binding to Cortisol to Improve Their Binding Affinity Using Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulations. *Indonesian Journal of Chemistry*, 22(2), 515–525.
- Dhull, N., Kaur, G., Gupta, V., & Tomar, M. (2019). Highly sensitive and non-invasive electrochemical immunosensor for salivary cortisol detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 293, 281–288.
- Ding, L., Wang, Z., Zhong, P., Jiang, H., Zhao, Z., Zhang, Y., Ren, Z., & Ding, Y. (2019). Structural insights into the mechanism of single domain VHH antibody binding to cortisol. *FEBS Letters*, 593(11), 1248–1256.
- El-Farhan, N., Rees, D. A., & Evans, C. (2017). Measuring cortisol in serum, urine and saliva – are our assays good enough? In *Annals of Clinical Biochemistry* (Vol. 54, Number 3, pp. 308–322). SAGE Publications Ltd.
- El-Moghazy, A. Y., Huo, J., Amaly, N., Vasylieva, N., Hammock, B. D., & Sun, G. (2020). An Innovative Nanobody-Based Electrochemical Immunosensor Using Decorated Nylon Nanofibers for Point-of-Care Monitoring of Human Exposure to Pyrethroid Insecticides. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 12(5), 6159–6168.
- Gallup. (2026). State of the global workplace 2026: Global data summary. Gallup.
- Hartati, Y. W., Letelay, L. K., Gaffar, S., Wyantuti, S., & Bahti, H. H. (2020a). Cerium oxide-monoclonal antibody bioconjugate for electrochemical immunosensing of HER2 as a breast cancer biomarker. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 27, 100316.
- Hartati, Y. W., Letelay, L. K., Gaffar, S., Wyantuti, S., & Bahti, H. H. (2020b). Cerium oxide-monoclonal antibody bioconjugate for electrochemical immunosensing of HER2 as a breast cancer biomarker. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 27.
- Ionescu, R. E. (2023). Ultrasensitive Electrochemical Immunosensors Using Nanobodies as Biocompatible Sniffer Tools of Agricultural Contaminants and Human Disease Biomarkers. In *Micromachines* (Vol. 14, Number 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
- Ji, T., Ye, W., Xiao, W., Dawson, G., Dong, Q., & Gwenin, C. (2024). Iridium oxide-modified reference screen-printed electrodes for point-of-care portable electrochemical cortisol detection. *Talanta*, 280, 126776.

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2021). Laporan nasional Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2021. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Liu, J., Xu, N., Men, H., Li, S., Lu, Y., Low, S. S., Li, X., Zhu, L., Cheng, C., Xu, G., & Liu, Q. (2020). Salivary cortisol determination on smartphone-based differential pulse voltammetry system. *Sensors (Switzerland)*, 20(5).
- Liu, X., Hsu, S. P. C., Liu, W. C., Wang, Y. M., Liu, X., Lo, C. S., Lin, Y. C., Nabilla, S. C., Li, Z., Hong, Y., Lin, C., Li, Y., Zhao, G., & Chung, R. J. (2019). Salivary Electrochemical Cortisol Biosensor Based on Tin Disulfide Nanoflakes. *Nanoscale Research Letters*, 14.
- Mani, V., Chikkaveeraiah, B. V., Patel, V., Gutkind, J. S., & Rusling, J. F. (2009). Ultrasensitive immunosensor for cancer biomarker proteins using gold nanoparticle film electrodes and multienzyme-particle amplification. *ACS Nano*, 3(3), 585–594.
- Muyldermans, S. (2013). Nanobodies: Natural single-domain antibodies. In *Annual Review of Biochemistry* (Vol. 82, pp. 775–797).
- Naeem, A. N., Guldin, S., & Ghoreishizadeh, S. S. (2024). Electrochemical Sensors for Cortisol: A Review. *IEEE Sensors Journal*, 24(5), 5746–5758.
- Nunez, S. G., Rabelo, S. P., Subotic, N., Caruso, J. W., & Knezevic, N. N. (2025). Chronic Stress and Autoimmunity: The Role of HPA Axis and Cortisol Dysregulation. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 26, Number 20). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
- Rukman, M. S. (2024). *Pemurnian protein nanobodi kortisol dari Escherichia coli BL21 (DE3) dengan metode immobilized metal affinity chromatography dalam kondisi natif dan denaturasi* [Skripsi sarjana, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia].
- Russell, G., & Lightman, S. (2019). The human stress response. In *Nature Reviews Endocrinology* (Vol. 15, Number 9, pp. 525–534). Nature Publishing Group.
- Sankiewicz, A., Oldak, L., Zelazowska-Rutkowska, B., Hermanowicz, A., Lukaszewski, Z., & Gorodkiewicz, E. (2022). An Immunosensor for the Determination of Cortisol in Serum and Saliva by Array SPRi. *Sensors*, 22(24).
- Sekar, M., Sriramprabha, R., Sekhar, P. K., Bhansali, S., Ponpandian, N., Pandiaraj, M., & Viswanathan, C. (2020). Review—Towards Wearable Sensor Platforms for the Electrochemical Detection of Cortisol. *Journal of The Electrochemical Society*, 167(6), 067508.
- Tohari, T. R., Anshori, I., Baroroh, U., Nugroho, A. E., Gumilar, G., Kusumawardani, S., Syahrini, S., Yulianto, B., Arnafia, W., Faizal, I., Hartati, Y. W., Subroto, T., & Yusuf, M. (2022). Development of a Single-Chain

- Variable Fragment of CR3022 for a Plasmonic-Based Biosensor Targeting the SARS-CoV-2 Spike Protein. *Biosensors*, 12(12).
- World Health Organization. (2024, September 2). Mental health at work. *World Health Organization*.
- Zea Garcia, M., Bellagambi, F., Ben Halima, H., Zine, N., Jaffrezic-Renault, N., Villa, R., Gabriel, G., & Errachid, A. (2020). Electrochemical sensors for cortisol detections: Almost there. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 132, 116058.
- Zhu, H., Zhang, H., Ni, S., Korabečná, M., Yobas, L., & Neuzil, P. (2020). The vision of point-of-care PCR tests for the COVID-19 pandemic and beyond. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 130). Elsevier B.V.