

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Analisis klinik merupakan bagian dari pemeriksaan klinik yang sering dilakukan dilaboratorium klinik. Pemeriksaan klinik menjadi tindakan yang sangat diperlukan sebagai penunjang penegakan diagnosis pada suatu penyakit. Manfaat hasil pemeriksaan analisis klinik sangat ditentukan oleh akurasi, presisi dan selektivitas metode analisis. Adanya penyimpangan dalam hasil pemeriksaan analisis klinik akan sangat berdampak pada rantai penatalaksanaan terapi selanjutnya. Salah satu faktor penyebab penyimpangan hasil analisis klinik adalah terjadinya interferensi analisis karena keberadaan zat kimia lain dalam sampel. Zat penginterferensi atau interferen ini dapat berupa material endogen maupun material eksogen seperti obat dan metabolitnya.

Kemanfaatan hasil pemeriksaan laboratorium klinik sangat ditentukan oleh akurasi, presisi, dan selektivitas metode analisis yang digunakan. Hasil pemeriksaan yang menyimpang dari nilai sebenarnya akan sangat mempengaruhi tindakan terapi yang akan diputuskan oleh tenaga medis. Salah satu penyebab timbulnya penyimpangan hasil analisis klinik biasanya terjadi interferensi analisis karena adanya entitas kimia lain dalam suatu sampel. Zat penginterferensi atau interferen dapat berupa material endogen maupun material eksogen seperti obat dan metaboliknya (Sutedjo,2008).

Suatu metode yang biasa digunakan pada penentuan kadar protien dalam cairan biologis berupa darah, urin dan ludah, yaitu dengan menggunakan metode

Biuret, Lowry dan sebagainya. Pemilihan metode yang baik dan tepat untuk suatu pengukuran bergantung pada beberapa faktor seperti banyaknya material pada sampel yang tersedia, waktu yang dibutuhkan untuk melakukan pengukuran, alat spektrofotometer yang tersedia (VIS atau UV). Pada analisis protein dapat dilakukan secara kualitatif dan secara kuantitatif . Analisis protein secara kualitatif meliputi reaksi Xantoprotein, reaksi Hopkins-Cole, reaksi Millon, reaksi Nitroprusida, dan reaksi Sakaguchi. Sementara itu, analisis protein secara kualitatif meliputi metode Kjeldhal, metode titrasi formol, metode Lowry, metode spektrofotometri UV (Apriyantono *et al.*, 1989).

Metode Lowry adalah metode penetapan kadar protein yang paling sering digunakan dalam berbagai penelitian. *The Journal of Biological Chemistry* metode Lowry menjadi acuan yang paling sering digunakan dalam berbagai karya tulis ilmiah. Penetapan kadar protein dengan metode Lowry merupakan pengembangan dari metode Biuret yang memiliki kelemahan rentan terhadap terjadinya interferensi oleh keberadaan senyawa lain yang bersifat mereduksi (Folin and Ciocalteu, 1927; Lowry *et al.*, 1951).

Salah satu senyawa yang mampu menimbulkan interferensi terhadap hasil penetapan kadar protein dengan metode Lowry adalah senyawa yang memiliki gugus fenol. Selain mereduksi kompleks asam fosfomolibdat-fosfotungstat yang berasal dari pereaksi Folik Ciocalteu (Folik Ciocalteu,1927;Lowry et al, 1951), senyawa fenol juga mampu mereduksi kuprum secara langsung (Winters and Minhin, 2005).

Vitamin E adalah salah satu fitonutrien penting dalam makanan. Vitamin E merupakan antioksidan yang larut lemak. Vitamin ini banyak terdapat dalam membran eritrosit dan lipoprotein plasma. Vitamin E merupakan antioksidan potensial yang berperan sebagai antikanker (Ng *et al.*, 2004). Pada vitamin E (baik tokoferol maupun tokotrienol) merupakan antioksidan yang potensial. Sebagai antioksidan, vitamin E berfungsi sebagai donor ion hidrogen yang mampu mengubah radikal bebas menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak. Tokoferol mempunyai beberapa fungsi terhadap kesehatan. Beberapa fungsi tokoferol adalah dapat mencegah penyakit jantung, mencegah penyakit alzheimer, dan mencegah kanker (Meydani, 2000). Selain itu menurut Anonymous (2010), vitamin E dapat melindungi kulit dari sinar ultraviolet, dapat menyebabkan luka, berfungsi sebagai antioksidan, serta melindungi tubuh akibat kelebihan vitamin A dan melindungi vitamin A dari kerusakan.

Keberadaan senyawa yang bersifat pereduksi dalam suatu struktur vitamin E dapat membantu senyawa pada vitamin menginterferensikan hasil penetapan kadar protein dengan metode Lowry. Interferensi dapat terjadi pada saat pemeriksaan kadar protein pada wanita yang sedang mengonsumsi vitamin E yang banyak digunakan sebagai penangkal radikal bebas utama dalam pemeriksaan klinik dibandingkan dengan vitamin lain yang mempunyai aktivitas kerja yang lebih efektif (Winarsi, 2005).

Parasetamol memiliki gugus OH-Fenolik diteliti oleh Riandono mendapatkan hasil yaitu terjadi interferensi pada penetapan kadar protein dengan

metode Lowry (Riandono, 2011). Dengan demikian, Vitamin E yang mempunyai sifat pereduksi kemungkinan dapat menyebabkan terjadinya interferensi pada penetapan kadar protein dengan metode Lowry (Winters and Michin, 2005).

Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian tentang terjadinya interferensi oleh vitamin E terhadap hasil penetapan kadar protein menggunakan metode Lowry. Oleh karena itu, peneliti merasa perlu untuk melakukan penelitian ini dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan vitamin E pada penetapan kadar protein menggunakan metode Lowry.

Penulis mengharapkan hasil penelitian ini bisa bermanfaat bagi pasien yang sedang melakukan pemeriksaan kadar protein total, sehingga diperoleh hasil pemeriksaan pasien yang sesungguhnya pada saat pemeriksaan.

B. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah diuraikan, maka masalah penelitian dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah terjadi interferensi oleh vitamin E pada penetapan kadar protein menggunakan metode Lowry?
2. Bagaimana pola interferensi yang terjadi pada penetapan kadar protein dengan metode Lowry yang diberikan vitamin E?

C. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengkaji pengaruh penggunaan vitamin E terhadap hasil penetapan kadar protein menggunakan metode Lowry.

2. Mengkaji pola interferensi akibat penggunaan vitamin E pada penetapan kadar protein dengan menggunakan metode Lowry.

D. MANFAAT PENELITIAN

Manfaat yang diharapkan dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memperoleh hasil analisis klinik yang akurat
2. Memberikan inspirasi untuk penelitian analisis klinik lebih lanjut di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim.

E. TINJAUAN PUSTAKA

1. Protein

Protein merupakan sumber-sumber asam amino yang mengandung unsur C, H, O dan N yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Protein adalah makromolekul polipeptida yang tersusun dari sejumlah L-asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida, berbobot molekul tinggi dari 5000 sampai berjuta-juta. Protein terdiri dari bermacam-macam golongan, makro molekul yang heterogen, walaupun demikian semuanya merupakan turunan dari polipeptida dengan BM yang tinggi. Unsur yang ada dalam hampir semua protein adalah hidrogen, oksigen, nitrogen, dan belerang. Ditinjau dari strukturnya, protein dibagi dalam dua golongan besar, yaitu golongan protein sederhana dan protein gabungan. Protein sederhana adalah protein yang hanya terdiri dari molekul-molekul asam amino, sedangkan protein gabungan adalah protein yang terdiri dari protein dan gugus bukan protein.

Protein merupakan suatu polipeptida yang memiliki struktur primer, sekunder, tersier dan kuartener serta mempunyai bobot molekul yang sangat bervariasi, yang memiliki sifat yang berbeda-beda (Poedjiadi, 2006).

Penentuan konsentrasi protein merupakan proses yang rutin digunakan dalam kerja Biokimia. Reagen pendeteksi gugus-gugus fenolik seperti reagen folin dan ciocalteu telah digunakan dalam penentuan konsentrasi protein oleh Lowry (1951) yang kemudian dikenal dengan metode Lowry.

2. Interferensi pada Analisis Klinik

Interferensi pada analisis klinik adalah penyimpangan pada hasil pemeriksaan klinik yang diperoleh, baik berupa kenaikan maupun penurunan, dibandingkan dari nilai sebenarnya. Menurut *International Union Of Pure And Applied Chemistry (IUPAC)* (1989), interferensi merupakan kesalahan sistemik dari hasil analisis yang disebabkan adanya materi lain yang berada dalam sampel yang dianalisis (Selby, 1999).

Berdasarkan sumber interferensi, interferensi dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu interferensi endogen dan interferensi eksogen, interferensi endogen terjadi akibat adanya materi yang secara alami terdapat dalam spesimen, seperti lipid, hemoglobin, dan bilirubin. Sedangkan interferensi eksogen terjadi akibat adanya materi yang secara alami tidak terdapat pada spesimen, seperti obat, racun, produk herbal, dan cairan intervena (Saibaba *et al.*, 1998; Dimesky, 2008).

Beberapa metode untuk melakukan pengujian terhadap interferensi analisis, diantaranya berupa *guideline* yang dibuat oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (1986) dan *Internasional Federation of Clinical Chemistry*

(Kazmierczak and Catrou, 2000) serta desain eksperimen yang dibuat oleh Letellier and Desjarlais (1985). Metode-metode ini menerangkan besarnya pengaruh interferan terhadap perubahan atau penyimpangan hasil analisis namun tidak menerangkan hubungan antara perubahan jumlah analit dan jumlah interferan serta korelasi keduanya dalam menimbulkan kesalahan sistematik pada hasil analisis yang disebabkan oleh adanya keberadaan suatu substansi lain pada konsentrasi tertentu dalam sampel. Interferensi analisis adalah kesalahan sistematik sebuah pengukuran yang disebabkan oleh sebuah komponen sampel yang tidak secara sendirian menghasilkan respon dalam pengukuran (Selby, 1999).

Interferensi tidak hanya terjadi karena adanya interaksi interferan dan reagen, tetapi juga karena adanya interaksi interferan dan analit. Tiga tipe interferensi yang dapat terjadi yaitu : *analyte dependent*, jika derajat interferensi tergantung dari kadar, *analyte independent* yaitu saat interferensi nilainya konstan sebarangpun kadar analit, serta pola interferensi kombinasi keduanya yaitu saat efek yang dihasilkan intereferensi tergantung pada interaksi analit dan interferensi (Kroll *et al.*, 1987). Menetapkan pola interferensi menggunakan analisis regresi berganda dengan model persamaan sebagai berikut:

$$F(A,E) = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 E + \beta_3 A.E$$

Model persamaan ini menggambarkan interferensi yang terjadi yaitu sebagai berikut :

- F : variabel-variabel bebas
- A : kadar analit
- E : kadar vitamin E

A.E : kadar interaksi analit – vitamin E

F(A.E): sebagai variabel bebas

dinyatakan sebagian besar perubahan absorbansi yang terbaca atau besarnya perubahan kadar protein. Signifikansi koefisien regresi menunjukkan bahwapola interferensi yang terbentuk (Koll *et al.*, 1987)

3. Penetapan Kadar Protein dengan Metode Lowry

Protein merupakan suatu polipeptida yang memiliki struktur primer, sekunder, tersier dan kuartener serta mempunyai bobot molekul yang sangat bervariasi, yang memiliki sifat yang berbeda – beda (Poedjadi, 2006). Pemeriksaan kadar protein dalam urin dapat digunakan untuk evaluasi fungsi ginjal dan petunjuk awal terjadi adanya kerusakan ginjal atau penyakit lainnya (Lerma *et al.*, 2008). Penentuan konsentrasi protein merupakan proses yang rutin digunakan dalam kerja Biokimia dengan reagen pendeteksi gugus – gugus fenolik seperti reagen folin dan ciocalteu yang telah digunakan dalam penentuan konsentrasi protein oleh Lowry (1951) yang kemudian dikenal dengan metode Lowry.

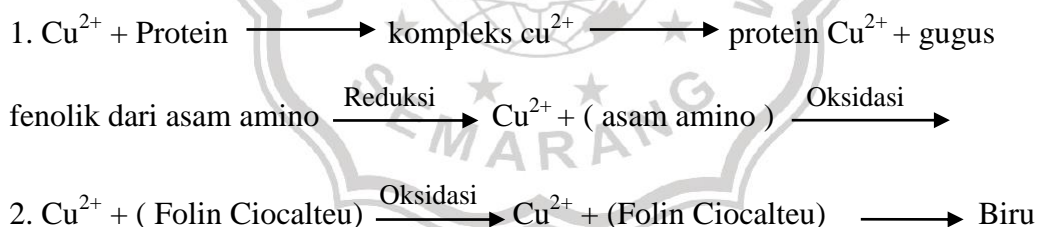
Metode Lowry memiliki kelebihan yang cukup baik dibandingkan dengan metode biuret yaitu sensitivitasnya yang lebih tinggi. Metode Lowry dapat 100 kali lebih sensitif dibandingkan dengan metode biuret (Maharani, 2011). Kekurangan yang utama dari metode Lowry yaitu rentan terhadap interferensi senyawa lain yang berada dalam sampel seperti adanya senyawa fenol pada cincin beta. Senyawa fenol seperti asam pikrat, dan asam sulfosalisilat, dapat menginterferensi melalui cara mereduksi kompleks asam fosfomolibdat – fosfotungstat (Folin and Ciocalteu, 1927; Lowry *et al.*, 1951). Disamping itu

senyawa fenol dapat mereduksi kumprum secara langsung (Winters and Michin, 2005).

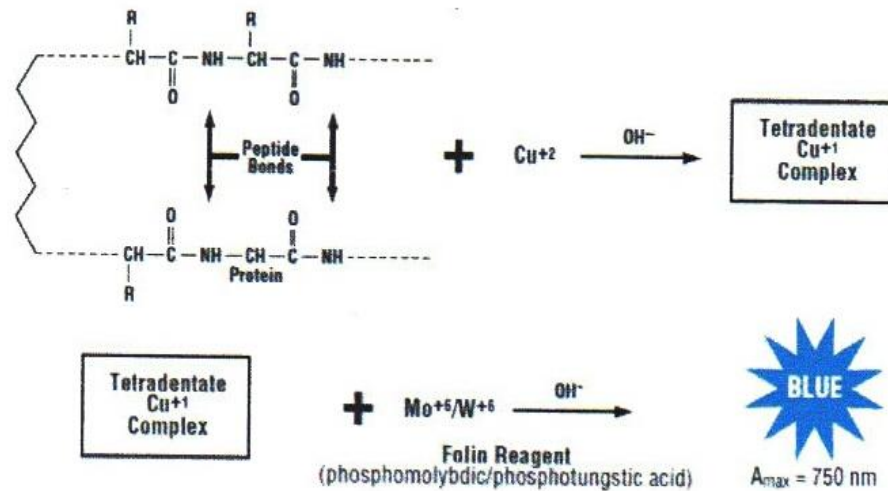
Reagen pendeteksi gugus – gugus fenolik seperti reagen folin dan ciocalteu telah digunakan dalam penentuan konsentrasi protein oleh Lowry *et al.*, (1951) yang kemudian dikenal dengan metode Lowry.

Bentuk yang paling sederhana dari reagen folin ciocalteu dapat mendeteksi residu tirosin (dalam protein) karena kandungan fenolik dalam residu tersebut mampu mereduksi fosfotungstat dan fosfomolibdat, yang merupakan konstituen utama reagen folin ciocalteu, menjadi tungsten dan molibdenum yang berwarna biru. Hasil reduksi ini menunjukkan puncak absorpsi yang lebar pada daerah merah. Sensitifitas dari metode folin ciocalteu ini mengalami perbaikan yang cukup signifikan apabila digabung dengan ion-ion Cu (Hermansyah, 2012).

Reaksi yang akan terjadi dapat dituliskan sebagai berikut :



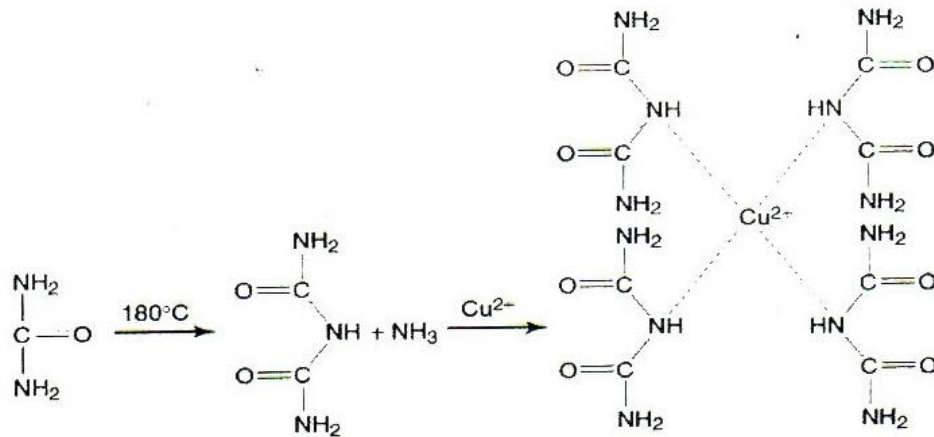
Prinsip mekanisme peralihan warna terjadi reduksi pereaksi Folin Ciocalteu menjadi *heteropolymolybdenum blue* (Waterborg and Mattews, 1996). Dan Ledger *et al.* (cit. Krohn,2001). Selama inkubasi terjadi penataan berulang kompleks biru, awalnya tidak stabil kemudian menjadi kompleks biru yang stabil dengan intensitas warna yang lebih tinggi. Adapun mekanisme reaksi yang dapat dilihat pada gambar 1 :



Gambar 1. Mekanisme reaksi metode lowry (Pierce, 2005)

Asam amino aromatik yang mengandung sulfur merupakan residu protein yang bertanggung jawab terhadap pembentukan warna. Adanya satu atau lebih asam amino tirosin, triptopan, sintein, histidin, dan asparin dalam struktur protein dapat meningkatkan intensitas warna yang terbentuk. Pada reaksi tahap pertama, peptida yang mengandung 3 atau lebih residu asam amino membentuk kompleks tetradentat dengan kupro (Krohn, 2011).

Reaksi pertama ini dikenal dengan nama reaksi biuret. Reaksi ini sebelumnya telah dikenal oleh Gornall *et al.*, (1949) untuk melakukan penetapan kadar protein berdasarkan mekanisme reaksi biuret yang distabilkan dengan tartar yang bertindak sebagai *chelating agent*. Reaksi ini disebut reaksi biuret karena senyawa kompleks yang dihasilkan tersebut sama seperti kompleks dari senyawa organik biuret ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$) yang direaksikan dengan kupri. Seperti terlihat pada gambar 2 (Krohn, 2001). Biuret merupakan produk yang dihasilkan dari pemanasan urea. Adapun reaksi yang terjadi pada reaksi biuret dapat dilihat pada gambar 2 :



Gambar 2. Reaksi Biuret

Pada reaksi kedua dilakukan amplikasi kompleks tetradentat dengan penambahan pereaksi Folin – Ciocalteu. Pada prinsipnya mekanisme amplikasi warna terjadi karena reduksi pereaksi Folin-Ciocalteu menjadi *heteropolymolybdenum blue* (Water and Matthews, 1996). Reduksi ini menurut Krohn (2001) terjadi karena proses transfer elektron kompleks tetradentat asam fosfomolibdat- fosfotungstat.

Warna biru yang terbentuk intensitasnya akan berkesinambungan saat inkubasi selama 30 menit dalam suhu kamar. Dikemukakan oleh Lowry *et al.*, (1995) dan (Pierce, 2005) bahwa selama 30 menit inkubasi terjadi penataan ulang kompleks biru stabil yang memiliki intensitas warna lebih tinggi. Lowry *et al.*, (1995) merekomendasikan pembacaan serapan pada panjang gelombang 750nm, Pierce (2005) menyebutkan bahwa pembacaan dapat dilakukan pada rentan 650nm sampai 750nm, sedangkan Olson and Markell (2007) menyebutkan pembacaan dapat dilakukan pada rentan 500nm sampai 759 nm dengan panjang gelombang optimal 660nm.

3. Spektrofotometri UV – VIS

Spektrofotometri UV – VIS adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektrofotometri UV – VIS biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV – VIS mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini sangat berguna untuk mengukur secara kuantitatif. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200 - 400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400 – 800 nm (Dachriyanus, 2004).

a. Prinsip Analisis

Prinsip analisis spektrofotometri adalah interaksi antara energi radiasi dengan suatu materi pada panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang tertentu dari suatu atom berbeda dari atom-atom lainnya. Sedangkan untuk molekul mempunyai tingkat energi yang bermacam-macam yaitu energi rasional, vibrasional dan energi elektronik sehingga sangat berpengaruh terhadap pembentukan panjang gelombang. Pengukuran intensitas sebagai hasil tersebut dapat dijadikan dasar untuk analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif. Dengan demikian, spektroskopi dapat menganalisis zat – zat tertentu dan sekaligus menentukan kadarnya berdasarkan intensitas serapannya (Rucker, 1998).

Radiasi yang berasal dari ultraviolet diabsorpsi oleh molekul – molekul organik aromatik, molekul yang mengandung elektron – π terkonjugasi dan atau atom yang mengandung elektron – n menyebabkan transisi elektropoda orbital terluarnya dari tingkat energi elektron yang paling dasar ke tingkat elektron yang tereksitasi paling tinggi. Banyak serapan radiasi ultraviolet pada panjang gelombang tertentu sebanding dengan banyaknya molekul analit yang mengabsorpsi sehingga dapat digunakan untuk analisis kuantitatif (Setiadarma, 2004). Keuntungan dari metode spektrofotometri UV yaitu penggunaannya mudah, waktu pengerjaan relatif lebih singkat dan memiliki reproduksibilitas yang tinggi. Gugus fungsi yang menyerap radiasi di daerah ultraviolet disebut gugus kromofor dan hampir semua gugus ini mempunyai ikatan tak jenuh. pada kromofor jenis ini terjadi transisi elektron dari $\pi \longrightarrow \pi^*$ (Dachriyanus, 2004).

Kromofor ini merupakan tipe transisi dari sistem yang mengandung elektron π pada orbital molekulnya. Untuk senyawa yang mempunyai sistem konjugasi, perbedaan energi antara keadaan dasar dan keadaan tereksitasi menjadi lebih kecil sehingga penyerapan terjadi pada panjang gelombang yang lebih besar (Dachriyanus, 2004).

b. Analisis kuantitatif dan hukum Lambert – Beer

Pada analisis kuantitati, pengukuran dilakukan dengan membandingkan dua pengukuran intensitas yang masuk dikurangi yang hilang oleh penghambatan, pemantulan dan serapan oleh konsisten yang ada. Hukum Lambert – Beer menyatakan bahwa intensitas yang diserap oleh zat penyerapan berbanding lurus

dengan tabel dan konsentrasi larutan (Rohman, 2007). Hukum Lambert – Beer dinyatakan dalam persamaan sebagai berikut :

$$A = e \cdot b \cdot c$$

Keterangan :	A	: daya serap
	E	: daya serap molar (dalam mol cm ⁻¹)
	b	: kadar (dalam mol liter ⁻¹)
	c	: panjang jalur (dalam cm)

4. Sediaan Kapsul

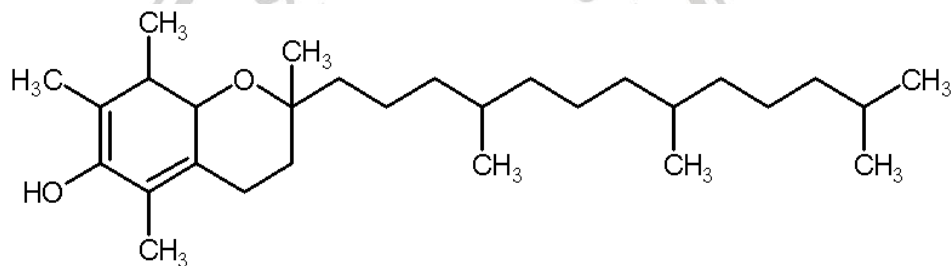
Kapsul adalah sediaan yang terdiri dari obat dalam cangkang keras atau lunak yang dapat larut. Cangkang umumnya terbuat dari gelatin, tetapi dapat juga terbuat dari pati atau bahan lain yang sesuai. (Ditjen Pom, 1995).

Kapsul keras biasanya terbuat dari gelatin dari gelatin yang terdiri dari cangkang kapsul bagian badan dan bagian tutup kapsul. kedua bagian tutup kapsul (Ansel, 2005). Gelatin mempunyai beberapa kekurangan, seperti mudah mengalami peruraian oleh mikroba bila dalam keadaan lembab atau bila disimpan dalam larutan berair. Sebagian contoh yang lain, cangkang kapsul gelatin menjadi rapuh jika disimpan pada kondisi kelembaban relatif yang rendah (Chang, R.K. *et al.*, 1998).

5. Vitamin E

Vitamin E adalah salah satu fitonutrien penting dalam makanan. Vitamin E merupakan antioksidan yang larut lemak. Vitamin ini banyak terdapat dalam membran eritrosit dan lipoprotein plasma. Sebagai antioksidan, vitamin E berfungsi sebagai donor ion hidrogen yang mampu mengubah radikal bebas menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, sehingga tidak mampu merusak

rantai asam lemak. Vitamin E mempunyai 2 isomer yaitu tokoferol (*Toc*) dan tokotrienol (*Toc-3*). Tokoferol mempunyai rantai samping *phytyl*, sedangkan tokotrienol mempunyai rantai samping yang sama dengan ikatan rangkap pada posisi 3', 7', 11'. Baik tokoferol maupun tokotrienol mempunyai 4 isomer yang dinyatakan sebagai α (alfa), β (beta), γ (gama), δ (delta) yang dibedakan berdasarkan jumlah dan posisi gugus metil pada cincin kroma. α -tokoferol merupakan vitamin E utama *in vivo* yang menunjukkan aktivitas biologi tertinggi (Tanito *et al.*, 2004). Baik tokoferol maupun tokotrienol bersifat sangat non polar dan selalu ada pada fase lemak (Watkins *et al.*, 2004). Struktur kimia α -tokoferol diperlihatkan pada Gambar berikut :



Gambar 3. Struktur kimia α -tokoferol (Ronal dan Junsoo, 2004)

Vitamin E merupakan antioksidan potensial yang berperan sebagai antikanker. Walaupun vitamin E (baik tokoferol maupun tokotrienol) merupakan antioksidan yang potensial, antikanker vitamin E tidak berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Peran vitamin E sebagai anti tumor adalah memodulasi sejumlah jalur penyimpanan sinyal intraseluler pasca mitogenesis dan apoptosis (Packer, 1991). Peran tokotrienol sebagai antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan tokoferol.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tokotrienol mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. alfa -tokotrienol mempunyai aktivitas penangkapan radikal peroksil pada membran liposomal dan aktivitas antikanker yang lebih tinggi. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa tokotrienol lebih mampu mencegah kematian sel-sel syaraf yang diinduksi glutamat (Musalmah *et al.*, 2005).Tokoferol dan tokotrienol adalah suatu antioksidan yang sangat efektif, yang dengan mudah menyumbangkan atom hidrogen pada gugus hidroksil (OH) dari struktur cincin ke radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi tidak reaktif.Adanya hidrogen yang disumbangkan, tokoferol sendiri menjadi suatu radikal, tetapi lebih stabil karena elektron yang tidak berpasangan pada atom oksigen mengalami delokalisasi ke dalam struktur cincin aromatik (Silalahi, 2002).

Tokoferol mempunyai beberapa fungsi terhadap kesehatan. Beberapa fungsi tokoferol adalah dapat mencegah penyakit jantung, mencegah penyakit alzheimer, dan mencegah kanker (Meydani, 2000). Selain itu menurut Anonymous (2010), vitamin E dapat melindungi kulit dari sinar ultraviolet, dapat menyebabkan luka, berfungsi sebagai antioksidan, serta melindungi tubuh akibat kelebihan vitamin A dan melindungi vitamin A dari kerusakan.

Efek samping yang paling umum dialami akibat vitamin E adalah keluhan alergi seperti kesulitan bernafas, tenggorokan terasa tersumbat, pembengkakan bibir, lidah atau wajah. Efek samping yang lain meliputi kelelahan, sakit kepala, mual, penglihatan kabur, dan diare. Vitamin E diketahui menyebabkan peningkatan risiko pendarahan pada individu yang mengambil worfin untuk

antikoagulasi atau mereka yang kekurangan vitamin K. Vitamin E menghambat penyerapan obat antidepresi desimpramine, obat antipsikotik klopromazin, beta – blocker untuk tekanan darah tinggi dan obat antimalaria chloroquine. Siklosporin mengkonsumsi vitamin E dosis tinggi bersamaan dengan siklosporin dapat meningkatkan jumlah siklosporin yang diserap oleh sehingga dapat meningkatkan efek siklosporin dan meningkatkan efek samping siklosporin.

F. Landasan Teori

Salah satu senyawa yang mampu menimbulkan interferensi terhadap hasil penetapan kadar protein dengan metode Lowry adalah senyawa yang memiliki gugus fenol (Folin Ciocalteu, 1927; Lowry *et al.*, 1951). Gugus fenol akan mereduksi kompleks asam fosfomolibdat-fosfotungstat yang berasal dari pereaksi Folin Ciocalteu dan mereduksi kromium secara langsung (Winters and Michin, 2005). Vitamin E merupakan senyawa yang mempunyai gugus tokoferol dan tokotrienol yang bersifat pereduksi, sehingga kemungkinan vitamin E menyebabkan terjadinya interferensi pada penetapan kadar protein dengan metode Lowry (Winters and Michin, 2005).

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa parasetamol (Riandono, 2011), doksisisiklin (Hayva, 2015), estradiol (Kartipa, 2015), sefadroksil (Elfi, 2016), levodopa (Betta, 2016) adalah senyawa yang memiliki gugus fenol yang bersifat mereduksi, menyebabkan terjadinya interferensi pada penetapan kadar protein dengan metode Lowry. Dengan demikian, vitamin E diperkirakan memiliki efek yang sama.

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori, hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah vitamin E menginterferensi hasil analisis penetapan kadar protein dengan metode Lowry. Pola interferensi yang terjadi dapat ditentukan dengan analisis regresi linier berganda.



