

Analisis Karakteristik Beda Potensial Membran Albumin Dan Membran Vitellin Telur Puyuh (*Coturnix coturnix*) Akibat Tercemar Hidrogen Peroksida (H_2O_2)

Ummu Hidayati Mardiyah^{1)*}, Didik R. Santoso²⁾, Unggul P. Juswono²⁾

¹⁾ Program Studi Magister Ilmu Fisika, Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya

²⁾ Jurusan Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

Diterima 23 Januari 2017, direvisi 30 April 2017

ABSTRAK

Penelitian analisis karakteristik beda potensial membran albumin dan membran vitellin telur puyuh (*Coturnix coturnix*) akibat tercemar hidrogen peroksida (H_2O_2) dilakukan untuk mengetahui efek pencemar hidrogen peroksida (racun) terhadap ketahanan suatu sel. Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan salah satu kelompok oksigen reaktif (ROS) yang dapat merusak lipid, protein dan asam nukleat karena dapat berdifusi secara bebas melewati lapisan ganda membran, sehingga konsentrasi hidrogen peroksida perlu dikontrol. Ketahanan suatu sel dapat diketahui dari perubahan nilai potensial membran yang terukur. Metode yang digunakan dalam penelitian menggunakan mikroelektroda yang dihubungkan dengan *unity gain differential amplifier* dan *PicoScope*. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa terdapat perubahan beda potensial pada membran albumin dan membran vitellin telur puyuh akibat tercemar hidrogen peroksida (H_2O_2). Nilai beda potensial tertinggi membran albumin berada pada konsentrasi 0 ppm sebesar $(-144 \pm 2 \text{ mV})$ dan membran vitellin $(-172 \pm 3 \text{ mV})$, sedangkan nilai beda potensial membran albumin terendah berada pada konsentrasi 4000 ppm sebesar $(-8 \pm 1 \text{ mV})$ dan membran vitellin $(-18 \pm 2 \text{ mV})$.

Kata kunci: beda potensial, membran albumin, membran vitellin, telur puyuh, larutan hidrogen peroksida (H_2O_2)

ABSTRACT

The research of analysis the potential difference characteristic of albumin and vitelline membranes quail egg (*Coturnix Coturnix*) due to contaminated by hydrogen peroxide (H_2O_2) was conducted to determine the effect of hydrogen peroxide (toxic) against the resistance of a cell. Hydrogen peroxide (H_2O_2) is one group of reactive oxygen species (ROS) that can damage lipids, proteins and nucleic acids because they can diffuseion freely passed by bilayer membrane, so that the hydrogen peroxide concentration needs to be controlled. The resistance of a cell can be determined from changes in the value of the measured membrane potential. The method used in the research applied a microelectrode connected with *unity gain differential amplifier* and *PicoScope*. The measurement results show that there is a change the potential difference at the albumin membrane and vitellin membrane of quail egg due to contaminated hydrogen peroxide (H_2O_2). The highest value of the membrane potential difference in the concentration 0 ppm at the albumin membrane is $(-144 \pm 2 \text{ mV})$ and the vitelline membrane is $(-172 \pm 3 \text{ mV})$, while the lowest value of the potential difference in the concentration 4000 ppm is $(-8 \pm 2 \text{ mV})$ at the albumin membrane and $(-18 \pm 1 \text{ mV})$ at the vitellin membrane.

Keywords: potential difference, albumin membrane, vitelline membrane, quail egg, hydrogen peroxide solution (H_2O_2)

PENDAHULUAN

Setiap makhluk hidup tersusun atas berjuta-

juta sel. Setiap sel memiliki membran sel yang berfungsi mengontrol atau mengendalikan pertukaran zat antara didalam dan diluar sel. Membran sel merupakan komponen utama dalam mempertahankan keberlangsungan hidup sel, karena pada membran sel terdapat channel ion yang mengatur dan mempertahankan

*Corresponding author:

E-mail: ummumardiyah@gmail.com

keseimbangan ion-ion yang keluar/masuk kedalam sel [1]. Proses membuka dan menutup channel ion dapat terjadi sebagai respon terhadap perubahan potensial listrik pada membran sel, perubahan konsentrasi ion di kedua sisi membran, dan terjadi melalui ikatan channel dengan hormon atau neurotransmitter [2].

Potensial membran dapat menjadi indikator sehat atau tidaknya sebuah sel. Nilai potensial membran akan mengalami penurunan apabila membran sel rusak atau kehabisan sitosol ATP [3], misal adanya pencemar berupa hidrogen peroksida pada lingkungan sel dapat mengakibatkan membran sel tersebut rusak. Pencemaran air yang diakibatkan hidrogen peroksida tersebut dapat menimbulkan radikal-radikal baru yang membentuk kelompok oksigen reaktif [4].

Hidrogen peroksida merupakan bahan utama dalam industri penyamakan kulit, dan sebagai pemutih *pulp* dalam industri kertas. Penanganan limbah industri yang kurang baik dapat mengakibatkan pencemaran lingkungan dan membahayakan kehidupan biota di sekitar lingkungan tersebut. Selain itu, hidrogen peroksida juga dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui konsumsi bahan makanan yang mengandung hidrogen peroksida. Baru-baru ini masyarakat awam menggunakan hidrogen peroksida sebagai pemutih makanan [5]. Hidrogen peroksida tersebut digunakan oleh industri rumahan sebagai pemutih pada sari kelapa (*nata de coco*), pemutih pada ikan asin dan menghilangkan bercak-bercak hitam pada kikir tanpa adanya aturan pemakaian

Sifat transportasi pada membran sel dan pergerakan ion bebas intraseluler dapat ditentukan dan diukur menggunakan mikroelektroda. Mikroelektroda merupakan probe kecil yang dapat dimasukkan ke dalam sel

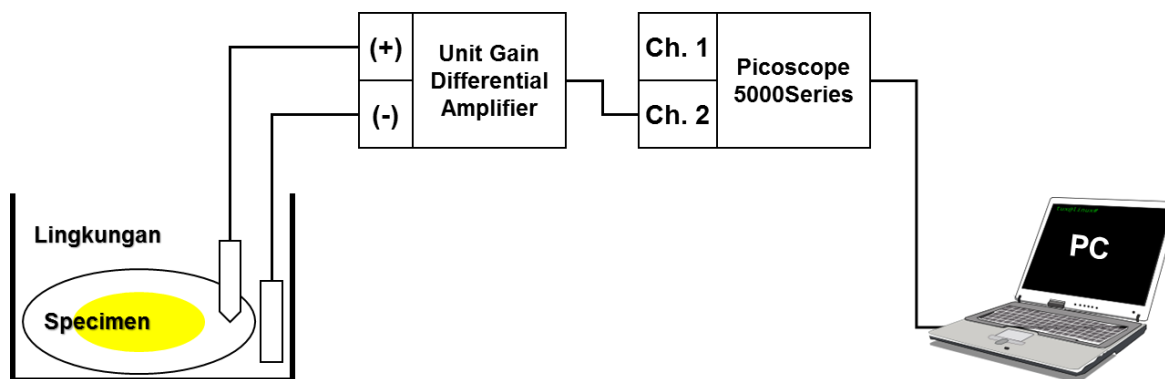
untuk mengukur perbedaan potensial antara ujung probe dengan titik referensi eksternal yang diletakkan dalam larutan lingkungan sel/jaringan. Mikroelektroda yang selektif terhadap ion merespon perubahan konsentrasi ion yang terjadi pada membran sel [6].

Perubahan potensial membran sel dapat menjadi indikator dari tingkat pencemaran suatu lingkungan. Hidrogen peroksida merupakan salah satu kelompok oksigen reaktif yang dapat merusak protein, lipid dan asam nukleat, sehingga konsentrasi hidrogen peroksida perlu dikontrol [7]. Penelitian terdahulu menunjukkan semakin tinggi konsentrasi hidrogen peroksida (H_2O_2), maka nilai potensial membran semakin mengalami penurunan kenegatifan [8,9].

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik beda potensial membran albumin dan membran vitellin telur puyuh (*Coturnix coturnix*) akibat tercemar hidrogen peroksida (H_2O_2) yang bermanfaat sebagai studi dalam pengembangan obat-obatan yang bermanfaat untuk memblock *channel* ion tertentu.

METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan sebagai bioindikator dalam penelitian ini adalah telur puyuh (*Coturnix coturnix*). Hidrogen peroksida digunakan sebagai larutan pencemar untuk mengetahui perubahan beda potensial pada membran albumin dan membran vitellin telur puyuh. Alat dan bahan yang disiapkan antara lain pembuatan larutan (larutan BSM, larutan H_2O_2 , larutan HCl, larutan KCl), pembuatan mikroelektroda dan elektroda referensi, penyepuhan kawat perak, pengambilan data, pengolahan data dan analisis data.



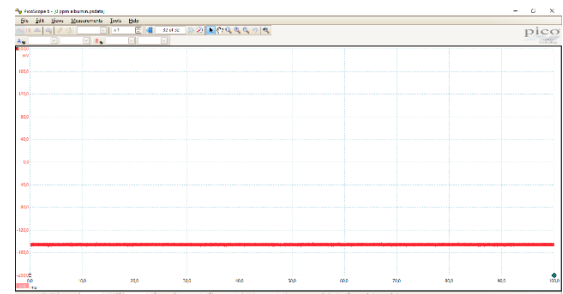
Gambar 1. Skema sistem pengukuran

Pengambilan data dilakukan setelah semua persiapan alat dan bahan selesai. Mikroelektroda dengan kawat perak sepuhan dihubungkan dengan input positif *unity gain differential amplifier*. Elektroda referensi atau jembatan garam yang disisipi kawat perak hasil sepuhan dipotong sepanjang ± 4 cm dan dimasukkan ke lingkungan air telur puyuh, kemudian dihubungkan dengan input negatif *unity gain differential amplifier*. *Unity gain differential amplifier* dihubungkan ke salah satu channel A/B pada *PicoScope*. Selanjutnya *PicoScope* dihubungkan ke laptop menggunakan kabel USB. Sinyal (potensial membran) akan langsung terekam dan disimpan di laptop. Skema pengukuran dari penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 1.

Pengambilan data potensial membran telur puyuh diambil sebanyak 5 kali pada membran albumin dan membran vitellin telur puyuh, kemudian kelima telur puyuh tersebut dicemari oleh limbah pencemar hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan 6 variasi konsentrasi. Larutan pertama menggunakan larutan standar (BSM) sebagai kontrol. Setelah didapat hasil yang konstan pada output *PicoScope* di layar laptop, larutan BSM dikeluarkan dan diganti dengan larutan hidrogen peroksida untuk tiap variasi konsentrasi yang berbeda.

Variasi konsentrasi hidrogen peroksida yang digunakan antara lain 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm dan 4000 ppm. Penggantian konsentrasi larutan hidrogen peroksida pada telur puyuh dilakukan setiap

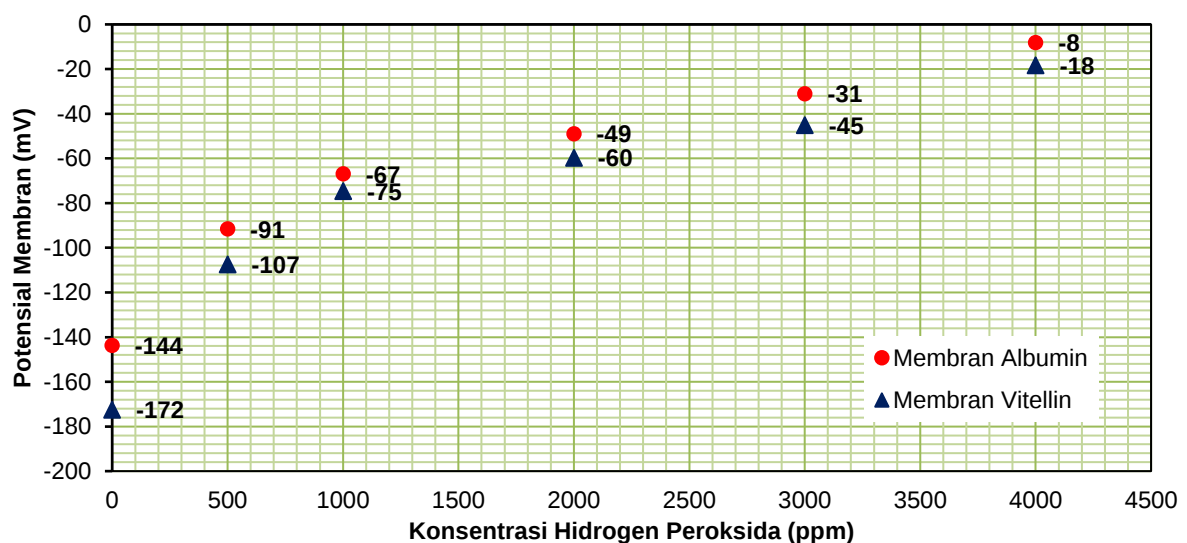
data yang sudah dalam keadaan konstan. *PicoScope* akan langsung mencatat/merekam aktifitas kelistrikan berupa sinyal tegangan. Sinyal tegangan yang tercatat/terekam tersebut merupakan aktifitas kelistrikan yang terjadi pada membran albumin maupun membran vitellin akibat terjadinya perubahan lingkungan pada telur puyuh. Hal tersebut dilakukan secara berulang untuk larutan hidrogen peroksida dengan konsentrasi yang berbeda.



Gambar 2. Contoh tampilan sinyal yang dihasilkan picoscope dari hasil pengukuran

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis data potensial membran albumin dan membran vitellin telur puyuh (*Coturnix coturnix*) dan variasi konsentrasi hidrogen peroksida (H_2O_2) ditampilkan pada grafik hubungan antara variasi konsentrasi hidrogen peroksida (ppm) sebagai sumbu-X dan rata-rata potensial membran albumin dan membran vitellin (mV) sebagai sumbu-Y seperti Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Grafik hubungan potensial membran albumin dan membrane vitelin telur puyuh dengan pencemar hidrogen peroksida

Gambar 3 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pencemar H_2O_2 , nilai potensial membran albumin maupun membran vitellin akan mengalami penurunan kenegatifan. Penurunan kenegatifan nilai potensial membran (penurunan dari rentang indikator bahwa sel dalam keadaan baik, yaitu sekitar -50 sampai -200 mV) pada telur puyuh dalam menanggapi lingkungan yang tercemar juga berbeda. Pada membran albumin, potensial membran mulai mengalami penurunan saat diberi pencemar hidrogen peroksida dengan konsentrasi 2000 ppm, yaitu sebesar (-49 ± 2) mV. Sedangkan pada membran vitellin, potensial membrannya mulai mengalami penurunan saat diberi pencemar hidrogen peroksida dengan konsentrasi 3000 ppm, yaitu sebesar (-45 ± 4) mV. Hal ini menunjukkan bahwa membran vitellin memiliki daya tahan yang lebih baik daripada membran albumin saat menerima perubahan lingkungan akibat adanya pencemar.

Potensial membran yang dihasilkan dari pengukuran membran albumin dan membran vitellin telur puyuh berasal dari aktivitas antara *channel* protein ion dan pompa ion yang bekerja secara berlawanan. *Channel* protein ion membran dapat membuka dan menutup tanpa memerlukan energi dalam melewati ion-ion tertentu keluar/masuk ke dalam sel. Permeabilitas ion juga turut mempengaruhi dalam aktivitas membuka dan menutup *channel* [10].

Perubahan nilai potensial membran akibat konsentrasi hidrogen peroksida yang semakin tinggi mengakibatkan nilai potensial membran albumin dan membran vitellin telur puyuh mengalami depolarisasi. Depolarisasi terjadi akibat meningkatnya permeabilitas membran Na^+ , sehingga ion Na^+ yang berada di luar sel akan terus-menerus masuk ke dalam sel. Hodgkin, Huxley dan Kartz mengungkapkan bahwa terjadinya depolarisasi mengakibatkan permeabilitas membran terhadap K^+ menurun, dimana secara normal permeabilitas membran terhadap K^+ lebih tinggi dibandingkan terhadap Na^+ . Perubahan permeabilitas dan distribusi ion-ion pada membran telur puyuh akibat pencemar hidrogen peroksida ini mengakibatkan terjadinya perubahan nilai potensial membran, seperti penurunan besar potensial membran [11].

Adanya bahan organik ataupun anorganik

berupa pencemar di lingkungan suatu sel dapat mengubah susunan kimia air, membran lipid bilayer dan merusak protein membran [8]. Kerusakan protein membran akibat pencemar hidrogen peroksida dapat terjadi pada bagian protein *channel* ion K^+ . Protein *channel* ion K^+ mengalami kerusakan karena protein *channel* tersebut paling banyak ditemukan pada membran sel [12]. Kerusakan protein akibat oksidasi juga dapat terjadi karena adanya reaksi antara asam-asam amino penyusun protein tersebut. Sistein merupakan asam amino penyusun protein yang mengandung gugus sulfidril (SH). Gugus sulfidril (SH) ini paling peka terhadap pengaruh radikal bebas seperti radikal hidroksil ($OH\bullet$) [13].

Gambar 4. Oksidasi Sistein oleh H_2O_2

Gambar 4 menunjukkan bahwa interaksi antara protein jenis sistein yang mengandung gugusan sulfidril dengan hidrogen peroksida, dimana hidrogen peroksida mengoksidasi sistein, sehingga menyebabkan terputusnya ikatan disulfida ($-S-S-$). Mekanisme oksidasi sistein akibat hidrogen peroksida merupakan reaksi nukleofilik dimana hasil akhirnya menghasilkan sistin. Reaksi antara anion tiolat pK_a rendah dengan H_2O_2 akan menghasilkan asam sulfenik ($RSOH$). Oksidasi ini merupakan reaksi reversible yang disebut sulfenylation, dimana secara langsung asam sulfenik dapat direduksi kembali ke bentuk tiol, atau secara tidak langsung melalui pembentukan ikatan disulfida. Pembentukan ikatan disulfida terjadi melalui reaksi asam sulfenik yang berikatan dengan sistein kedua di protein yang sama maupun protein yang berbeda (tetangga). Persentase pembentukan disulfida akan mengalami penurunan saat konsentrasi H_2O_2 semakin meningkat. Peningkatan konsentrasi H_2O_2 menyebabkan terjadinya penurunan sistein, sehingga dapat meningkatkan pembentukan asam sulfonat sistein. Pembentukan asam sulfonat sistein terjadi akibat konsentrasi H_2O_2 yang berlebih mengoksidasi lanjut kelompok sulfenyl ke asam sulfinat (RSO_2H) dan/atau membentuk asam sulfonat (RSO_3H). Oksidasi lanjutan ini merupakan reaksi irreversible [14].

Difusi hidrogen peroksida ke dalam sel yang tidak terkontrol akan menghasilkan radikal hidroksil ($OH\bullet$) yang dapat menghambat transport anion, seperti ion Cl^- dan pembloker

channel K⁺. Pemblokiran *channel* ion akibat hidrogen peroksida dapat mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel sehingga transport ion baik kedalam maupun keluar sel akan terganggu [15].

KESIMPULAN

Penurunan kenegatifan potensial membran albumin dan membran vitellin telur puyuh terjadi akibat pencemar berupa hidrogen peroksida yang berinteraksi dengan protein *channel* membran memberikan efek menghambat transport anion, meningkatkan permeabilitas membran terhadap ion Na⁺, membloker *channel* K⁺ dan memutus ikatan disulfida. Hal ini menyebabkan permeabilitas membran telur puyuh terhadap ion K⁺ menurun. Perubahan permeabilitas dan distribusi ion-ion yang terjadi pada membran telur puyuh mempengaruhi perubahan nilai potensial membrannya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hille, B. (2001) Ion Channels of Excitable Membranes. 3rd ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts USA.
- [2] Pareja, D.A.G. (2011) Pharmacological Evaluation of New Meta- and Para-Hydroxyl Substituted C-4-aryl-1, 4-dihydropyridines in Cardiomyocytes. Universidad De Chile.
- [3] Blatt, M.R., Beilby, M.J. and Tester, M. (1990) Voltage dependence of the Chara proton pump revealed by current-voltage measurement during rapid metabolic blockade with cyanide. *The Journal of Membrane Biology*, **114**, 205–23.
- [4] Cuzzocrea, S., Riley, D.P., Caputi, A.P. and Salvemini, D. (2001) Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacological Reviews*, **53**, 135–59.
- [5] Matondang, R.A., Rochima, E. and Kurniawati, N. (2015) Studi Kandungan Formalin Dan Zat Pemutih Pada Ikan Asin Di Beberapa Pasar Kota Bandung. *Perikanan Kelautan*, **6**, 70–7.
- [6] Miller, A.J., Cookson, S.J., Smith, S.J. and Wells, D.M. (2001) The use of microelectrodes to investigate compartmentation and the transport of metabolized inorganic ions in plants. *Journal of Experimental Botany*, **52**, 541–9.
- [7] Bienert, G.P., Schjoerring, J.K. and Jahn, T.P. (2006) Membrane transport of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, **1758**, 994–1003. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.02.015>
- [8] Latifah, R. (2011) Pengaruh Merkuri Klorida, Timbal Nitrat dan Hidrogen Peroksida Terhadap Potensial Sel Telur Ikan Gurami Studi Kasus Polutan Air di Daerah Aliran Sungai (DAS) Brantas. Universitas Brawijaya.
- [9] Ningsih, I.S., Juswono, U.P. and Kusharto. (2013) Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau Terhadap Potensial Membran Sel Telur Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Tercemari Kelompok Senyawa Oksigen Reaktif (ROS) Berupa Hidrogen Peroksida (H₂O₂). *Physics Student Journal*, **1**, 32–5.
- [10] Kappen, B. (2008) Introduction to Biophysics. University Nijmegen, Netherlands.
- [11] Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter., P. (2002) Molecular Biology of The Cell. 4th ed. Garland Science, New York.
- [12] Ikawati, Z. (2008) Pengantar Farmakologi Molekuler. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- [13] Suryohudoyo, P. (2000) Oksidan, Antioksidan dan Radikal Bebas. *Buku Naskah Lengkap Simposium Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Penuaan (Lustrum IX FKUA 1995-2000) 7 September 2000*, Universitas Airlangga, Surabaya.
- [14] Paulsen, C.E. and Carroll, K.S. (2013) Cysteine-Mediated Redox Signaling: Chemistry, Biology, and Tools for Discovery. *Chemical Reviews*, **113**, 4633–79. <https://doi.org/10.1021/cr300163e>
- [15] Handoko, E. and Sumilat, W.A. (2011) Metabolisme Hidrogen Peroksida dan Peranannya pada Infeksi Telinga [Internet]. PERHATI-KL.