PERAN ENZIM Ca^{2+} - ATPASE PADA MEMBRAN SEL DARAH MERAH

Gultom FP

Department Oral Biology Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Gultom FP. Peran Enzim Ca^{2+} - ATPase Pada Membran Sel Darah Merah. Indonesian Journal of Dentistry 2005; 12 (2):72-74.

Abstract

Ca^{2+} - ATPase enzyme is transmembrane protein which is found in membrane cell. This protein works as a pump in many cases such as thalassemia which causes leakage of the cell as there is oxidation of sulphidril chain from amino acid in membrane. The calcium-ion intake must be pumped out to get red blood cell homeostatic condition. The aim of this paper is to determine the activity of Ca^{2+} - ATPase enzyme as a pump of Ca ion in membrane cell.

Key words: Ca^{2+} - ATPase enzyme, RBC membrane.

Pendahuluan

Enzim Ca^{2+} - ATPase merupakan rantai polipeptida dengan berat molekul 138.000,¹ terdiri dari 10 segmen transmembran dan 2 bagian besar lipatan hidrofilik, menonjol masuk ke dalam sitoplasma diantara segmen transmembran 2,3 dan segmen 4,5. Enzim ini termasuk juga dalam tipe P dari golongan enzim ATPase dan terdapat pada membran sel.² Membran sel darah merah adalah membran yang permeable selektif berfungsi sebagai pertahanan sel dan memisahkan bagian dalam dan bagian luar. Glukosa, asam amino dan lemak dapat masuk kedalam sel dengan mekanisme transpor tertentu, demikian juga sisa metabolisme dapat meninggalkan sel.^{3,4,5,6}

Membran sel darah merah dapat menunjukkan perubahan morfologinya berupa gangguan metabolisme seperti pada penyakit talasemia, disini terjadi oksidasi terhadap gugus sulfhidril asam amino dari protein membran, yang mengakibatkan

pembentukan hubungan lintas silang yang disertai dengan perubahan kurang lenturnya membran sehingga terjadi kebocoran dan ion Ca^{2+} masuk ke dalam sel.^{7,8} Dampak biokimia terhadap penurunan kemampuan membran untuk mengatur transpor ion Ca^{2+} , akibat adanya kebocoran membran.⁹ Agar keadaan homeostasis sel dapat dicapai oleh enzim Ca^{2+} ATPase memompa Ca^{2+} keluar sel.

Enzim Ca^{2+} - ATPase

Ca^{2+} - ATPase berfungsi mengangkut ion kalsium sel. Enzim Ca^{2+} - ATPase merupakan rantai polipeptida dengan berat molekul 138.000,¹ terdiri dari 10 segmen transmembran dan 2 bagian besar lipatan hidrofilik, yang menonjol masuk kedalam sitoplasma diantara segmen transmembran 2,3 dan segmen 4,5. Enzim ini juga termasuk tipe P dari golongan enzim ATPase.²

Pada talasemia ditemukan adanya penumpukan ion kalsium yang disebabkan oleh peningkatan permeabilitas terhadap kalsium.^{7,10} Peningkatan

permeabilitas kalsium disebabkan oleh efek radikal bebas seperti dikatakan oleh Khansuwan⁽¹⁰⁾. Ion kalsium di dalam sel darah merah harus dipertahankan dalam jumlah yang kecil yaitu lebih kurang satu mikromolar, dalam keadaan homeostasis. Untuk mengangkut ion kalsium ini keluar dari sel melawan gradien konsentrasi Ca^{2+} , diperlukan suatu sistem mekanisme pompa, digerakkan oleh enzim Ca^{2+} - ATPase yang menghidrolisis ATP sebagai sumber energi.³ Dua ion kalsium dikeluarkan dengan setiap molekul ATP yang dihidrolisis. Proses ini memerlukan juga ion magnesium sebagai kofaktor. ATP ini dihasilkan dari glikolisis glukosa yang masuk ke dalam sel darah merah. Glukosa di dalam sel akan diubah menjadi glukosa 6-fosfat, yang kemudian melalui proses glikolisis akan membentuk 2 mol ATP dan 2 mol asam laktat per mol glukosa.¹¹

Enzim Ca^{2+} - ATPase pada membran sel darah merah dapat mengikat ion kalsium dengan afinitas yang tinggi. Kanal kalsium merupakan pintu masuknya ion kalsium melalui membran plasma berdasarkan potensial listrik pada saat depolarisasi membran plasma.¹² Pada beberapa kasus, aktivitas enzim Ca^{2+} - ATPase dirangsang oleh peningkatan kalsium bebas di dalam sitosol. Pengikatan kalsium diatur oleh suatu protein yang disebut kalmodulin, yang terdapat di dalam sel darah merah. Peningkatan kalsium di dalam sel akan merangsang pengikatan kalsium pada kalmodulin, yang merangsang sisi alosterik dari enzim Ca^{2+} - ATPase, sehingga mempercepat pengeluaran ion kalsium dari dalam sel, agar konsentrasi ion kalsium dapat dipertahankan rendah.³

Mekanisme kerja enzim Ca^{2+} - ATPase dalam memompa ion kalsium terdiri dari beberapa langkah. Langkah pertama dimulai ketika protein enzim ada dalam bentuk konformasi pertama, yang disebut dengan E1. Di sini kalsium pertama dan kedua akan berikatan dengan afinitas yang tinggi pada enzim pada permukaan sitoplasma. Selanjutnya ATP juga akan terikat pada sisi tersebut pada permukaan sitoplasma. Untuk bereaksi diperlukan magnesium yang terikat kuat pada kompleks ATP. ATP kemudian akan terhidrolisis sehingga terbentuk ADP, sementara gugus fosfat berikatan dengan residu aspartat dari protein enzim, membentuk asil fosfat berenergi tinggi, disebut E1-P. Langkah ketiga protein berubah ke konformasi E2-P, sambil memutar dua ion kalsium melalui membran sampai ikatan kalsium pada protein menjadi lemah pada permukaan luar sel. Langkah keempat ion kalsium melepaskan diri dari permukaan plasma protein. Langkah kelima ikatan fosfat aspartil terhidrolisis menyebabkan perubahan E2 menjadi E1, akibatnya

diper permukaan luar sel tempat melekatnya kalsium menjadi pasif, dan terjadi regenerasi dari permukaan sitosol tempat ion kalsium melekat. Peristiwa fosforilasi pompa kalsium oleh ATP terjadi pada saat perubahan konformasi E1 ke E2, dan defosforilasi terjadi pada perubahan konformasi E2 menjadi E1. Kemampuan ion kalsium untuk berikatan pada permukaan di permukaan luar sel pada E2. Perbedaan ini secara tidak langsung dapat mengangkat ion kalsium dari sitoplasma ke luar oleh protein enzim.³

Membran sel darah merah

Membran sel darah merah sering dipakai untuk penelitian biomembran, karena tidak memiliki organel dan jarang mengalami perubahan mutasi.¹³ Membran plasma adalah membran yang permeable selektif berfungsi sebagai pertahanan sel dan memisahkan bagian dalam dan bagian luar. Glukosa, asam amino dan lemak dapat masuk ke dalam sel dengan mekanisme tranpor tertentu, demikian juga sisa metabolisme dapat meninggalkan sel.^{3,4,5,6} Membran plasma sel darah merah manusia dapat diisolasi dengan cara lisis menggunakan larutan hipotonis karena sel ini tidak mempunyai membran lain, sehingga diperoleh "ghost". Membran ini terdiri atas tiga bagian besar, yaitu dua lapis lipid yang disusun oleh fosfolipid dan kolesterol yang tidak teresterifikasi, beserta protein integral atau protein yang melintasi membran dan tertanam di dalam lapisan lemak, dan bagian yang terakhir yaitu sitoskeleton yang berfungsi sebagai penyangga membran sel dan berupa protein yang melapisi bagian dalam membran sel darah merah.^{3,4}

Fosfolipid dan kolesterol merupakan bagian yang terbanyak dari membran sel, lebih kurang 95% dari lemak membran. Sedangkan bagian yang terbesar dari fosfolipid, yaitu fosfoliserida yang terdiri dari gliserol sebagai tulang punggung, dan rantai panjang dari asam lemak yang bersifat hidrofobik atau non polar, melekat pada atom karbon ke satu dan ke dua dari gliserol. Sisa dari atom karbon gliserol yaitu karbon ke tiga, terdapat ikatan fosfo-ester dan merupakan bagian permukaan dua lapis lipid yang bersifat polar atau hidrofilik.^{4,6} Fosfoliserida sendiri terdiri atas 27% fosfatidil etanol amin, 28% fosfatidil kolin, 13% fosfatidil serin dan 26% stingomyelin.^{3,4,5,6} Hampir seluruh membran sel juga mengandung glikolipid, yaitu karbohidrat yang larut di dalam air dan melekat pada bagian hidrofilik dari rantai asam lemak.^{3,6}

Membran protein dapat dibagi dalam dua bagian besar yaitu "protein integral" yang tertanam di dalam lapisan lipid, dan "protein perifer" sebagai

penyangga membran yang terdiri dari spektrin, aktin, protein pita 4.1. dan protein kecil lainnya.^{4,13}

Sifat lain sel darah merah normal adalah kelenturan membrannya. Derajat kelenturan membran erat terkait dengan fluiditas membran yang tergantung dari komposisi lipid membran. Bila kelenturan membran sel darah merah tinggi, maka baik pula fungsi fisiologis sel darah merah sebagai pengangkut oksigen.¹³

Pada penderita talasemia ditemukan perubahan pada membran sel darah merahnya, berupa pelebaran dan terbentuknya vakuola.⁷ Disertai kekakuan yang meningkat pada membran dan menurunnya kestabilan membran.¹⁴

Pada sel eukariota ditemukan adanya sistem pengangkutan ion kalsium pada membran plasma, membran mitokondria, membran endoplasmic retikulum dan lisosom. Secara umum pada membran plasma ada tiga sistem pengaturan ion kalsium yaitu sistem ATPase, kanal kalsium (calcium channel) dan pertukaran Na^+ dengan Ca^{2+} .¹² Sistem pertukaran Na^+ dengan Ca^{2+} tidak dijumpai pada membran sel darah merah.¹⁵

Molekul ATP dan kalsium sangat penting untuk menjaga bentuk bikonkaf sel darah merah.¹¹ Selain itu kalsium juga berfungsi untuk mengaktifkan enzim ATPase yang ada di membran plasma. Peneliti lain menemukan bahwa sel darah merah yang diisolasi dari pasien dengan "spherosistosis", menunjukkan adanya kerusakan membran sel darah merah yang mungkin ada hubungannya dengan protein spektrin dan peningkatan kalsium.¹³

Beberapa peneliti menemukan bahwa protein spektrin pita 2 mengalami fosforilasi, bila membran "ghost" dari sel darah merah diinkubasi dengan ATP. Ini membuktikan bahwa ATP diperlukan pada reaksi fosforilasi. Di samping ini fosforilasi pada membran sel darah merah manusia, juga memerlukan kation magnesium.¹³ Peneliti lain juga mempelajari mekanisme pertukaran ion kalsium pada penderita talasemia karena adanya penumpukan ion kalsium di dalam sel darah merah.¹⁰

Ringkasan

Enzim Ca^{2+} - ATPase merupakan protein transmembran yang termasuk dalam tipe P, berfungsi mempertahankan homeostasis sel dengan cara memompa kelebihan ion Ca^{2+} di dalam sel akibat terjadinya kebocoran membran pada penyakit talasemia. Kebocoran ini diakibatkan oleh adanya oksidasi gugus sulfhidril asam amino dari protein

membran sehingga kurang lenturnya membran, mengakibatkan ion Ca^{2+} dari luar sel masuk ke dalam sel.

Daftar Pustaka

1. Zurini M, Krebs J, Penniston JT, Carofeli E. Controlled Proteolysis of Purified Ca^{2+} - ATPase of the Erythrocyte Membrane. *The J of Biochem* 1984; 259 (1): 618-27.
2. Zvaritch E, Vellani F, Guerini D, Carofeli E. A Signal for Endoplasmic Reticulum Retention Located at the Carboxyl Terminus of the Plasma Membrane Ca^{2+} - ATPase Isoform 4C1. *The J of Biochem* 1995; 270 (6): 2679-88.
3. Darnell J, Lodish H, Baltimore D. *Molecular Cell Biology* New York : Scientific American Books 1986; 570-71.
4. Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ. *Hematology* 5th. New York: Mc Graw Hill Book Company, 1995.
5. Watson JD, Hopkins NH, Roberts JW, Steitz JA, Weiner AM. *Molecular Biology of The Gene* 4th ed. California: The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1987.
6. Marchesi VT, Furtmayr H. The Red Cell Membrane. *Ann Rev Biochem* 1976; 45: 667-97.
7. Weatherall DJ, Clegg JB. *The Thalassemia Syndromes*. 3rd ed. London: Blackwell Scientific Publication, 1981; 209-15.
8. Erusalimsky J, Shinar E, Rachmilewitz A, Milner Y. Alterations in Membrane Protein and Phosphorylation Pattern in B-Thalassemic Red Blood Cells. *Ann NY Academic science* 1985; 445: 81-91.
9. Kahane I, Rachmilewitz EA. Alterations in the red blood cell membrane and the effect of vitamin E on osmotic fragility in B-Thalassemia major. *Israel J Med SC* 1976; 12 (1): 11-5.
10. Khansuwan U. Studies on the Ca^{2+} ATPase of Thalassemic Red Blood Cell Membranes. *Doctor Dissertation*. Faculty of science. Mahidol University, Bangkok, 1995.
11. Jinbu Y, Sato S, Nakao T, Nakao M. Ankyrin Is Necessary For Both Drug-Induced And ATP Induced Shape Change of Human Erythrocyte Ghosts. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1982; 104 (3): 1087-92.
12. Carofeli E. Intracellular calcium Homeostasis. *Ann Rev of Biochem* 1987; 56: 395-427.
13. Devlin TM. Biological Membranes: Structure and Membrane Transport in *Biochemistry Correlations* 10th ed. New York: Wiley Medical Publication, 1982; 192.
14. Sorensen S, Rubin E, polster N, Mohandas, Schrier S. The role of membrane skeletal association alfa globin in the pathophysiology of beta Thalassemia. *Blood* 1990; 75: 1333-6.
15. Carofeli E. The Ca^{2+} Pump of the Plasma Membrane. *J of Biochem* 1992; 267(4): 2115-18.