

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sistem Saraf

Sistem saraf manusia berperan dalam mengontrol seluruh aktivitas manusia. Sistem saraf terbagi menjadi sistem saraf pusat dan sistem saraf perifer. Sistem saraf pusatlah yang menerima dan memberikan perintah kepada sistem saraf perifer untuk melakukan seluruh aktivitas yang hendak dilakukan. Sistem saraf pusat terdiri dari serebrum, serebelum, batang otak, dan korda spinalis. Sedangkan sistem saraf perifer terdiri dari 12 pasang nervus cranialis dan 31 pasang nervus spinalis (Khuruna, 2007).

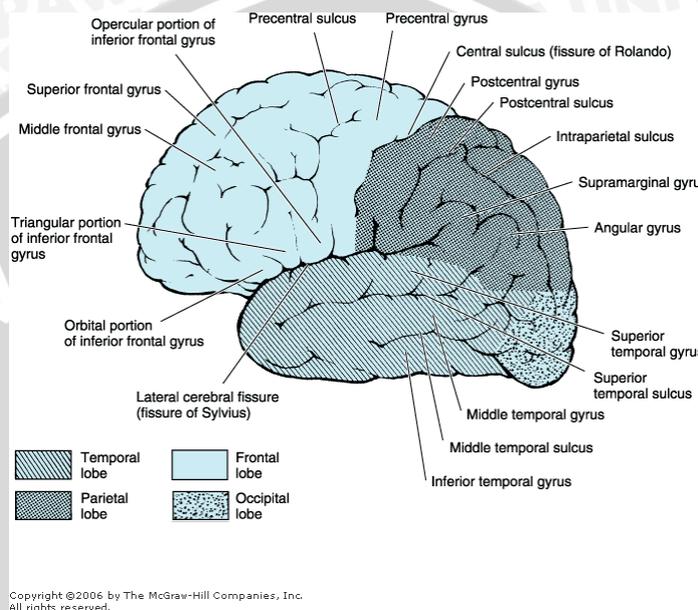
Sistem saraf secara keseluruhan memiliki suatu unit fungsional, yang disebut neuron. Neuron berfungsi sebagai penerima dan pemberi respon terhadap berbagai perubahan yang terjadi pada lingkungan, baik dari dalam maupun dari luar tubuh manusia. Manusia sendiri mengandung lebih dari 100 miliar neuron yang saling berhubungan dan bekerja secara berurutan dengan sistem yang sangat rumit (Khuruna, 2007).

2.1.1 Anatomi Otak

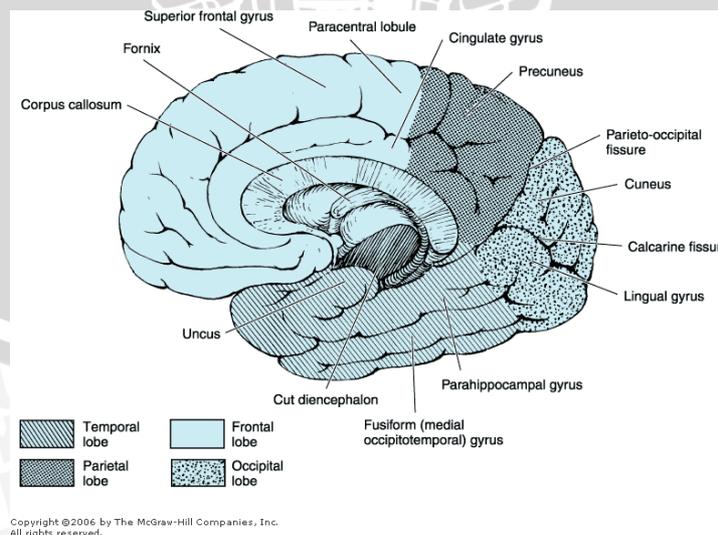
2.1.1.1 Pembagian Korteks Otak

Serebrum atau otak besar dibagi menjadi dua hemisfer oleh fisura longitudinalis serebri. Setiap hemisfer terbagi menjadi 4 lobus, yaitu lobus frontalis, parietalis, oksipitalis, dan temporalis. Otak juga mengalami pelipatan-

pelipatan konvulsi (girus) yang dipisahkan oleh alur (sulkus atau fisura). Girus dan sulkus ini akan membagi otak menjadi banyak bagian (Baehr dan Frotscher, 2010), seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.1 dan 2.2.

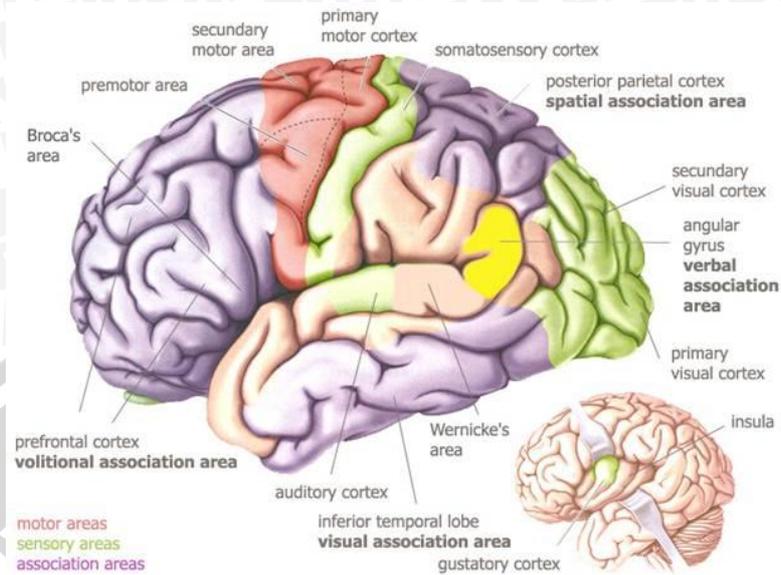


Gambar 2.1 Girus dan sulkus kortikal cerebrum (tampak lateral) (Ghimire, 2013)



Gambar 2.2 Girus dan sulkus kortikal serebrum (tampak medial) (Ghimire, 2013)

Pembagian area korteks otak didasarkan pada peta sitoarsitektural korteks serebri Brodmann, seperti yang diilustrasikan pada gambar 2.3. Area korteks primer dibagi menjadi 2. Pertama, area korteks somatosensorik primer (area 1, 2, 3), terletak di girus postsentralis lobus parietalis, berfungsi untuk persepsi terhadap rasa nyeri, suhu, dan sensasi somatik serta proprioseptif secara sadar, terutama dari separuh bagian tubuh dan wajah kontralateral. Kedua, area korteks motorik primer (area 4), terletak di girus presentralis lobus frontalis dinding anterior sulkus sentralis, berfungsi sebagai tempat asal gerakan volunter. Korteks visual primer (area 17), terletak di dalam sulkus kalkarinus lobus oksipitalis. Korteks auditorik primer (area 41), terletak di girus transversus *Heschl* yang membentuk permukaan atas girus temporalis superior. Korteks gustatorik primer (area 43), terletak di girus frontalis inferior pars operkularis bagian ventral korteks somatosensorik dan di atas sulkus lateralis. Korteks vestibularis primer (area 2v, 3a), area 2v terletak di lobus parietalis dasar sulkus intraparietalis, berfungsi untuk menimbulkan sensasi pergerakan dan vertigo. Sedangkan area 3a terletak di dasar sulkus sentralis dekat dengan korteks motorik, berfungsi untuk mengintegrasikan informasi somatosensorik, sensori khusus, dan motorik, untuk mengontrol posisi kepala dan tubuh (Baehr dan Frotscher, 2010).

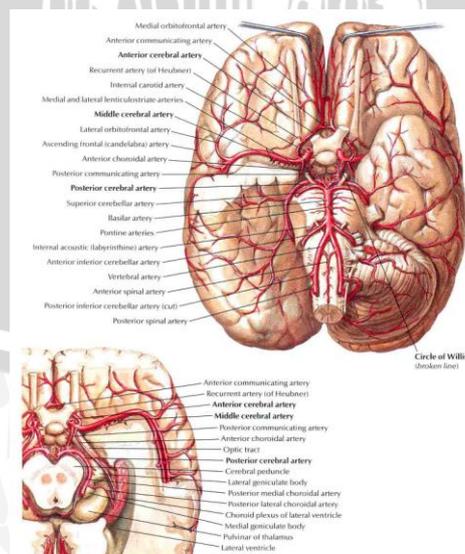


Gambar 2.3 Pembagian korteks otak berdasarkan fungsinya (Manuel, 2011)

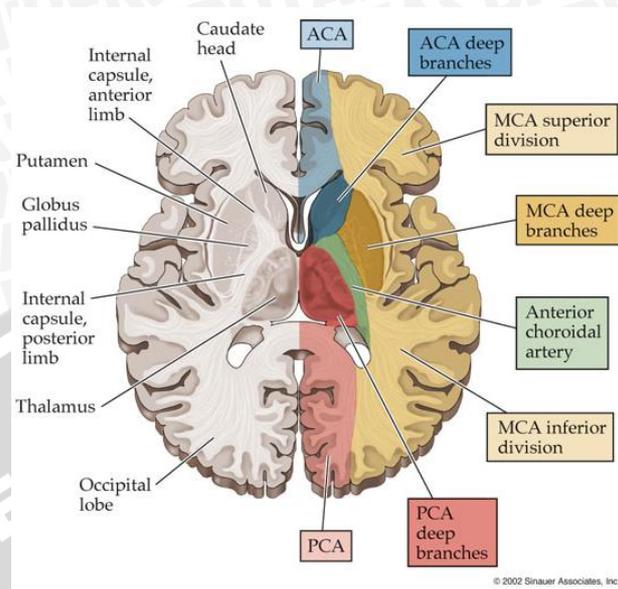
2.1.1.2 Suplai Darah Arteri Otak

Otak besar atau serebrum, mendapatkan suplai darah dari arteri vertebralis dan arteri karotis interna. Cabang-cabang kedua arteri tersebut yang memberikan suplai darah ke otak seperti yang nampak pada gambar 2.4. A. vertebralis berasal dari a. subklavia yang merupakan cabang aorta. Cabang utama a. vertebralis adalah a. inferior posterior serebeli. A. vertebralis kanan dan kiri kemudian menyatu di depan batang otak membentuk a. basilaris. Cabang a. basilaris mayor adalah a. inferior anterior serebeli, sedangkan cabang a. basilaris yang terletak di ujung bawah adalah a. superior serebeli. Cabang a. vertebralis paling banyak memberikan suplai darah kepada serebelum. Kemudian ujung a. basilaris membentuk *basilar tip* yang bercabang menjadi 2 a. serebri posterior. Arteri ini juga mendapatkan sedikit darah dari a. komunikans posterior. Cabang-cabang a. serebri posterior memberikan suplai darah ke bagian lateral talamus dan korteks visual di sulkus kalkarinus (Bradac, 2011).

Arteri karotis interna, berasal dari a. karotis komunis yang merupakan cabang aorta. Arteri ini memberikan suplai ke tigaperlima bagian serebrum. A. karotis interna masuk ke dalam otak melalui sinus kavernosus dan bercabang menjadi a. oftalmika, a. komunikans posterior, a. khoroidalis anterior, a. serebri anterior, dan a. serebri media. A. serebri media merupakan cabang a. karotis interna yang paling besar dan memiliki 8 cabang di dalam otak yang memberikan suplai darah pada otak lobus parietalis, frontalis, dan temporalis yang luas. Sedangkan a. serebri anterior memiliki 5 cabang yang memberikan suplai darah ke area korteks motorik dan sensorik primer yang luas dan girus cinguli. Jadi, area korteks somatosensorik dan motorik yang memiliki fungsi untuk gerakan volunter manusia, mendapatkan suplai darah terutama oleh a. karotis interna yang merupakan cabang dari a. karotis komunis (Bradac, 2011). Jadi, masing-masing pembuluh darah memberikan suplai darah ke daerah yang berbeda dalam serebrum. Ilustrasi pembagian area otak berdasarkan pembuluh darah yang memberikan suplai darah ke area tertentu dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.4 Pembuluh darah otak (Netter, 2010)



Gambar 2.5 Suplai arteri pada bagian otak (Sinauer Associates, 2002)

Seluruh pembuluh darah yang memberikan suplai darah ke otak memiliki banyak sistem kolateral. Sistem kolateral ini bertujuan agar otak tetap mendapatkan suplai oksigen dan nutrisi apabila salah satu pembuluh darahnya mengalami gangguan. Salah satu sistem kolateral tersebut adalah sirkulus arteriosus Willisii, yang merupakan pertemuan antara arteri besar dan arteri komunikans yang terletak di dasar otak (Hoksbergen *et al.*, 2000).

2.2 Stroke

Stroke merupakan suatu keadaan atau penyakit di mana permasalahan utama terletak pada pembuluh darah baik yang menuju maupun di dalam otak. Stroke terjadi ketika pembuluh darah yang membawa oksigen dan nutrisi menuju otak mengalami penyumbatan karena berbagai sumbatan atau pembuluh darah tersebut pecah. Ketika hal itu terjadi, bagian dari otak yang disuplai oleh pembuluh darah tersebut tidak akan mendapatkan suplai oksigen dan nutrisi

yang adekuat, sehingga sel otak akan mengalami kerusakan, bahkan kematian (American Stroke Association, 2012).

Menurut data WHO, di dunia terdapat 30,7 juta orang menderita stroke (WHO, 2011). Setiap tahunnya, 134.000 kematian di dunia disebabkan karena stroke (Lloyd-Jones *et al.*, 2010). Menurut ASA (*American Stroke Association*), 1 dari tiap 18 kematian di dunia disebabkan oleh karena stroke. Selan itu, ASA juga menyebutkan bahwa terdapat 1 orang meninggal akibat stroke setiap 4 menit (American Stroke Association, 2012). Di Indonesia, penyakit stroke merupakan penyebab kematian pertama, dengan prosentase sebesar 15,4% dari seluruh kematian (Riskesdas, 2007). Dari 15 juta penderita stroke setiap tahunnya, 5 juta diantaranya akan kembali sehat, sedangkan 5 juta diantaranya akan hidup dengan kecacatan permanen, dan 5 juta diantaranya akan meninggal dunia (Yastroki, 2011).

Terdapat 2 macam stroke, yaitu stroke penyumbatan (iskemik) dan perdarahan (hemoragik). Stroke iskemik terjadi sebagai akibat dari adanya obstruksi di dalam pembuluh darah yang menyuplai darah ke otak. Kondisi yang mendasari adalah adanya deposit lemak di dinding pembuluh darah yang dapat berupa trombus ataupun embolus. Sedangkan stroke hemoragik terjadi akibat adanya dinding pembuluh darah yang lemah lalu pecah dan terjadi perdarahan di sekitar otak. Darah terkumpul dan menekan jaringan otak. Terdapat 2 tipe stroke hemoragik, yaitu *intracerebral hemorrhage* dan *subarachnoid hemorrhage*. Penyebab stroke hemoragik tersering adalah pecahnya aneurisma dan adanya *arteriovenous malformation* (AVM) (American Stroke Association, 2012).

2.2.1 Perubahan Fungsi setelah Stroke

Stroke mengakibatkan terjadinya gejala-gejala neurologis fokal maupun global. Gejala neurologis merupakan gejala yang muncul akibat gangguan di daerah yang terlokalisir dan dapat diidentifikasi. Gejala neurologis fokal meliputi gejala motorik, gangguan berbicara, gangguan sensorik, gangguan visula, gangguan vestibular, dan gejala kognitif. Sedangkan gangguan neurologis global atau non fokal tidak selalu berkaitan dengan insiden stroke. Macam-macam gejala ini akan dijelaskan pada tabel di bawah ini.

Tabel 2.1 Gejala Pada Penyakit Stroke

Gejala neurologis fokal	Gejala neurologis global
<p>Gejala motorik</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kelemahan tubuh satu sisi (hemiparesis, monoparesis, atau mengenai tangan saja) • Kelumpuhan kedua sisi (simultan) • Gangguan menelan • Gangguan Keseimbangan Tubuh 	<ul style="list-style-type: none"> • Kelumpuhan seluruh tubuh dan atau gangguan sensorik • <i>Light headedness</i> • Pingsan • <i>Blackouts</i> dengan gangguan kesadaran • Inkontinensia urin maupun feses • Bingung • Tinnitus
<p>Gangguan berbicara dan bahasa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kesulitan pemahaman atau ekspresi berbahasa • Kesulitan membaca (<i>dyslexia</i>) atau menulis • Kesulitan menghitung 	
<p>Gejala sensorik</p> <ul style="list-style-type: none"> • Perubahan kemampuan sensorik tubuh satu sisi (keseluruhan atau sebagian) 	
<p>Gejala visual</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gangguan penglihatan • Pandangan ganda 	
<p>Gejala vestibular</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vertigo 	
<p>Gejala Kognitif</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gangguan memori 	

- Gangguan aktivitas sehari-hari (Gofir, 2009)

2.2.2 Stroke Iskemik

Dari seluruh kejadian stroke, 87% disebabkan oleh karena stroke iskemik, dan hanya 13% saja yang disebabkan karena stroke hemoragik (Roger, *et al.*, 2012). Stroke iskemik adalah tanda klinis disfungsi atau kerusakan jaringan otak yang disebabkan kurangnya aliran darah ke otak sehingga mengganggu kebutuhan darah dan oksigen di jaringan otak (Sjahir, 2003). Etiologi dari stroke iskemik dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok besar, yaitu permasalahan pada pembuluh darah, darah, dan jantung (Dongoran, 2007).

Tabel 2.2 Macam-Macam Kelainan Anatomis pada Penyakit Stroke

Kelainan Pembuluh Darah	Kelainan Jantung	Kelainan Darah
Aterosklerosis	Trombus mural	Trombositosis
Displasia fibromuskuler	Penyakit jantung rematik	Polisitemia
Gangguan inflamasi <ul style="list-style-type: none"> - Arteritis sel giant - SLE - Polyarteritis nodosa - Granulomatous angiitis - Syphilitic arteritis - AIDS 	Aritmia <ul style="list-style-type: none"> - Atrial fibrillation - Sinoatrial disorder 	Penyakit sickle cell
Diseksi srteri karotis atau vertebralis	Endokarditis	Leukositosis
Infark lakuner	Mitral Valve Prolaps	Status hiperkoagulasi
Drug abuse	Paradoxic embolus	

Migrain	Atrial myxoma
Sidrom moyamoya	Prosthetic heart valves
Trombosis sinus atau vena	Acute Myocard Infarct

AMI dan *atrial fibrillation* dapat berkembang menjadi stroke karena adanya embolus dari jantung yang lepas ke peredaran darah menuju ke pembuluh darah otak. Penyakit jantung rematik yang menyebabkan stenosis katup mitral juga berhubungan erat dengan kejadian tromboembolisme. Pasien dengan MVP, apabila dilakukan otopsi memiliki deposit fibrinous pada katup jantung atau dapat pula ditemukan *annular thrombus*. Pemakai katup jantung buatan juga memiliki insiden tinggi untuk berkembang menjadi atrial fibrillation dan kejadian tromboembolisme (Mohr *et al.*, 1997).

Kejadian aterosklerosis terbanyak mengenai a. karotis pada bagian bifurkasio dan segmen pertama a. serebri media. Selain itu aterosklerosis juga sering ditemukan pada segmen pertama dan keempat dari a. vertebralis dan a. basilaris. Vaskulitis pada pembuluh darah otak yang disebabkan karena berbagai penyakit dasar, dapat pula menyebabkan stroke melalui beberapa mekanisme. Vaskulitis dapat menimbulkan *necrotizing vasculitis*, *hypercoagulable state*, *artery-to-artery* atau *cardiac embolism*. Kelainan homeostasis juga dapat menyebabkan stroke iskemik. Adanya *prothrombic states* yang disebabkan karena abnormalitas beberapa protein regulator, termasuk antitrombin, heparin kofaktor II, protein C, protein S, dan gangguan sistem fibrinolitik, dapat meningkatkan episode trombotik pada dekade 2 dan 3 kehidupan dan berhubungan erat dengan kejadian stroke iskemik di kemudian hari (Mohr *et al.*,

1997).

Faktor resiko dari stroke iskemik dapat diklasifikasikan menjadi *non-modifiable risk factor* dan *modifiable risk factor* (Goldstein et al., 2011).

1. Non Modifiable Risk factor

- a. Usia
- b. Jenis kelamin
- c. *Low Birth Weight*
- d. Ras atau etnik
- e. Faktor genetic

2. Well documented modifiable risk factor

- a. Hipertensi
- b. Merokok
- c. Diabetes
- d. Dislipidemia
- e. Terapi hormonal pasca menopause
- f. Penggunaan kontrasepsi oral
- g. Diet tinggi natrium dan rendah kalium
- h. Inaktivitas
- i. Obesitas

3. Less well-documented modifiable risk factor

- a. Sindroma metabolic
- b. Konsumsi alkohol ≥ 5 gelas perhari
- c. Migrain dengan aura
- d. *Sleep-disorder breathing*

- e. Hiperhomosisteinemia
- f. Peningkatan Lp(a)
- g. Peningkatan *lipoprotein-associated phospholipase*
- h. Inflamasi
- i. Infeksi

2.2.3 Terapi Stroke Iskemik

Obat-obatan yang selama ini digunakan untuk mengobati stroke iskemik adalah antiplatelet, trombolitik, dan antikoagulan. Obat antiplatelet yang sering digunakan adalah aspirin. Aspirin dalam dosis rendah dapat membantu memulihkan pasien dari *Transient Ischemic Attack* (TIA), namun tidak dapat menurunkan keseluruhan insiden stroke atau memperbaiki proses penyembuhan karena stroke. Selain itu tidak ada perbedaan signifikansi terhadap keseluruhan insiden stroke antara sampel dengan aspirin 100mg setiap hari dengan sampel yang diberi plasebo (Rist, 2013).

Ada pula penelitian yang melihat perkembangan 23 sampel pasien stroke yang diberikan terapi alteplase secara i.v. Hasilnya, didapatkan 6 pasien (26.09%) mengalami berbagai komplikasi. 4 orang (17.39%) diantaranya mengalami perdarahan otak, 1 orang (4.35%) mengalami orolingual angioedema, dan 1 (4.35%) orang lagi mengalami hematoma di lengan kanan. Setelah selesai pengobatan, 3 pasien akhirnya meninggal terutama karena perdarahan otak (Yayan, 2012).

Terapi lain berupa antikoagulan secara i.v. yang sering diberikan dokter

kepada pasien stroke iskemik untuk mencegah stroke rekuren. Namun obat ini tidak dapat memperbaiki proses penyembuhan stroke. Selain itu, fungsi obat ini dalam pencegahan stroke rekuren tidak seimbang dengan peningkatan resiko perdarahan otak yang ditimbulkannya (Moonish dan Fisher, 2002).

Stroke iskemik disebabkan oleh karena adanya sumbatan pada pembuluh darah. Obat-obatan yang selama ini digunakan memang bertujuan untuk menghancurkan sumbatan tersebut, mencegah supaya sumbatan tersebut tidak semakin besar dan semakin menyumbat, dan mencegah timbulnya sumbatan baru. Namun tidak bisa dipungkiri kalau efek samping yang ditimbulkanpun juga sangat mengkhawatirkan. Di mana efek samping tersebut malah dapat menyebabkan kematian pada pasien, sebagai contoh pperdarahan otak yang timbul setelah pemberian heparin i.v. Dengan kata lain, masih belum ada pengobatan stroke iskemik yang ideal. Belum ada obat yang dapat meregenerasi neuron yang rusak akibat iskemik tersebut dan tanpa efek samping.

2.2.4 Patofisiologi Stroke Iskemik

Berkurangnya aliran darah ke otak menyebabkan hipoksemia di sebagian otak yang selanjutnya akan menimbulkan reaksi berantai dan selanjutnya dapat menyebabkan kematian neuron. Secara umum daerah iskemik otak terdiri dari bagian *core* dan penumbra. *Core* merupakan daerah pusat iskemik yang berada di tengah dengan tingkat iskemik terberat. Di sekeliling *core* terdapat daerah penumbra iskemik dengan tingkat iskemik yang lebih rendah. Semakin ke perifer, tingkat iskemiknya akan semakin ringan. Di luar daerah penumbra terdapat daerah hiperemik sebagai akibat dari aliran darah kontralateral (*luxury perfusion*

area) (Sjahir, 2003). Reversibilitas neuron otak yang mengalami iskemik ini tergantung pada penatalaksanaan dan waktu penanganannya.

Iskemik otak menyebabkan berbagai perubahan sel neuron yang terjadi dalam 4 tahapan, yaitu (Sjahir, 2003):

Tahap 1 :

- a. Penurunan aliran darah
- b. Pengurangan O₂
- c. Kegagalan energi
- d. Terminal depolarisasi dan kegagalan homeostasis ion

Tahap 2 :

- a. Eksitotoksisitas dan kegagalan homeostasis ion
- b. *Spreading depression*

Tahap 3 : Inflamasi

Tahap 4 : Apoptosis

Setelah otak mengalami kekurangan oksigen dan glukosa, sel otak akan mengalami gangguan metabolisme seluler karena gangguan pada produksi energi. Pada percobaan dengan tikus, otak mengalami perubahan respon metabolik terhadap gangguan hemodinamik otak secara bertahap yang disebut *critical level* berdasarkan beratnya oklusi. Pada tahap kritikal pertama, suplai darah menurun hingga 70-80% dan mengakibatkan terganggunya sintesa protein akibat degenerasi ribosom. Tahap kritikal kedua apabila suplai darah menurun 50%, maka akan terjadi metabolisme anaerob dan peningkatan kadar laktat

dalam darah. Tahap kritikal ketiga terjadi bila suplai darah hanya sebesar 30% dari normal, maka akan terjadi pengurangan produksi ATP, defisit energi, gangguan transport aktif ion, instabilitas membran sel, dan pelepasan neurotransmitter eksitasi yang berlebihan. Saat otak hanya menerima 20% suplai darah, otak akan kehilangan gradien ion dan mengalami depolarisasi anoksik. Tahap akhir adalah apabila otak menerima suplai darah kurang dari 10 ml/ 100 gram jaringan otak, akan terjadi terbentuk *core* iskemik (Dongoran, 2007).

2.2.5 Patofisiologi Seluler Stroke Iskemik

Mekanisme perubahan pada stroke sangat kompleks dan melibatkan berbagai proses, termasuk kegagalan energi, hilangnya homeostasis dari ion-ion sel, asidosis, peningkatan kalsium intraseluler, eksitotoksisitas, toksisitas yang dimediasi oleh radikal bebas, pembentukan asam arakidonat, sitotoksisitas yang dimediasi oleh sitokin, aktivasi komplemen, gangguan sawar darah otak (BBB), aktivasi sel glial, dan infiltrasi leukosit. Semua faktor ini saling terkait dan terkoordinasi yang mengakibatkan terjadinya nekrosis iskemik, terutama di daerah iskemik-core. Dalam beberapa menit setelah terjadinya stroke iskemik, inti dari jaringan otak (iskemik-core) mengalami penurunan aliran darah yang paling besar dan kemudian mengakibatkan sel-sel di daerah tersebut mengalami kematian secara nekrotik. Inti dari jaringan nekrotik ini dikelilingi oleh zona yang terdiri dari jaringan yang mengalami kerusakan lebih sedikit dibandingkan inti nekrotik. Jaringan sekitar ini juga mengalami penurunan aliran darah namun proses metabolisme tetap aktif. Nekrosis awal ditandai dengan pembengkakan seluler dan organela, gangguan dari nukleus sel, organela, dan membran plasma, disintegrasi dari nukleus dan sitoplasma, diikuti pengeluaran isi dari

dalam sel ke ekstraseluler. Jaringan di sekitar inti iskemik atau yang disebut daerah iskemik penumbra mengalami kematian secara apoptosis. Berbeda dengan nekrosis, apoptosis membutuhkan energi dan merupakan kematian sel terprogram yang bertujuan untuk meminimalkan kerusakan atau gangguan terhadap sel-sel di sekitarnya (Woodruff *et al*, 2011).

Mitokondria memainkan peran utama dalam jalur sinyal baik nekrotik dan apoptosis selama iskemia (Sugawara *et al.*, 2004). Otak memiliki tingkat metabolisme yang tinggi namun memiliki kapasitas kecil untuk penyimpanan energi (Gilman, 2007). Otak akan kehabisan ATP dalam waktu kurang lebih 3 menit setelah terjadinya stroke iskemik (Beauchamp dan Bryan, 1998). Selama kejadian iskemik, otak tidak dapat menghasilkan ATP yang cukup karena berkurangnya oksigen yang masuk (Lo *et al*, 2005).

2.2.5.1 Eksitotoksisitas

Pada keadaan normal, otak hanya memiliki berat 2% dari berat badan manusia. Namun otak menerima darah sebesar 20% dari seluruh sirkulasi darah dalam tubuh. 70% dari metabolisme di otak diperankan oleh pompa Na^+/K^+ -ATPase, yang menjaga gradien ion yang bertanggungjawab terhadap potensial membran sel saraf (Atri *et al.*, 2009). Setelah terjadi stroke iskemik, otak mengalami kekurangan oksigen dan hal ini mengakibatkan terjadinya fosforilasi oksidatif oleh mitokondria dan menurunnya produksi ATP secara cepat. Dalam keadaan ATP yang rendah Na^+/K^+ -ATPase tidak dapat bekerja. Keadaan ini mengakibatkan masuknya ion Na^+ , Cl^- , dan air dan keluarnya ion K^+ ke ekstraseluler secara berlebihan sehingga terjadi membran depolarisasi neuron dan astroglia (Bano, *et al.*, 2005). Dampak dari depolarisasi ini adalah terjadi

pembengkakan seluler atau edema sitotoksik dan terjadi pengeluaran glutamat ke ekstraseluler dalam jumlah banyak (Breton dan Rodriguez, 2012).

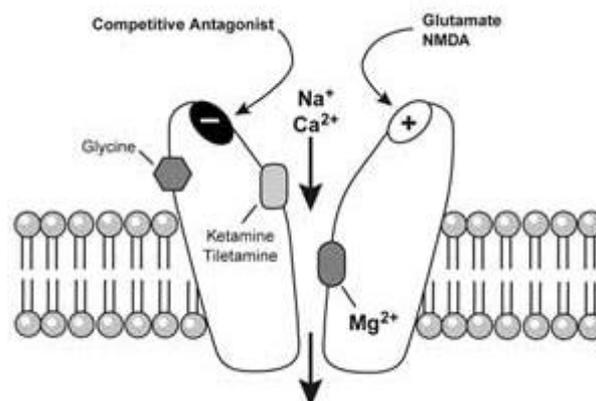
Glutamat merupakan neurotransmitter rangsang utama di seluruh sistem saraf pusat. Glutamat adalah asam amino dikarboksilat yang membutuhkan ATP untuk transpor aktif dan re-uptake setelah dibebaskan dari sel. Selama kondisi iskemik, glutamat dilepaskan dari sel dengan penurunan re-uptake (Lee *et al.*, 2000). Di zona inti nekrotik, kadar glutamat dapat meningkat 80 kali dibandingkan keadaan basal. Di daerah penumbra, peningkatan glutamat lebih rendah namun masih menghasilkan efek neurotoksik yang dapat menyebabkan kematian sel (Castillo *et al.*, 1996).

Transportasi glutamat diperankan oleh astrosit. Depolarisasi dari astrosit mengakibatkan pembengkakan astrosit sehingga astrosit yang seharusnya berperan dalam pengambilan glutamat pada akhirnya akan mengakibatkan pelepasan glutamat (*reversed uptake*). Selain itu, gangguan metabolisme energi dimana terjadi penurunan ATP juga akan mempengaruhi transportasi glutamat normal dalam astrosit. Pada akhirnya terjadi penurunan penyerapan atau uptake glutamate oleh astrosit. Bersama-sama, proses ini menyebabkan peningkatan kadar glutamat ekstraseluler (Hazell, 2007).

Selain mengakibatkan peningkatan kadar glutamat ekstraseluler, depolarisasi membran dan perubahan gradien ion Na^+ dan K^+ melalui membran plasma mengakibatkan aktivasi kanal kalsium sehingga semakin meningkatnya masuknya Ca^{2+} ke dalam neuron dengan bantuan transporter glutamat (Breton dan Rodriguez, 2012). Seperti yang terlihat pada gambar 2.6, glutamat bekerja pada reseptor glutamat yaitu NMDA (*N*-methyl-D-aspartate) yang pada keadaan

fisiologis memiliki peran dalam memasukkan ion Ca^{2+} dan dapat diblok oleh ion Mg^{2+} pada saat hiperpolarisasi (Zito dan Scheuss, 2009).

Peningkatan ikatan antara glutamat dan reseptor NMDA (*N*-methyl-D-aspartate) akan membuka *voltage-gated calcium-channel* dan mengakibatkan influk Ca^{2+} yang berlebihan ke dalam sel. Reseptor NMDA yang berperan dalam proses ini adalah subunit NR2C dan NR2D (Lynch dan Guttman, 2002). Influk Ca^{2+} memicu masuknya berbagai fosfolipase dan protease ke dalam sel yang mendegradasi membran dan protein, yang pada akhirnya akan membahayakan integritas seluler. Selain itu, peningkatan kadar Ca^{2+} intraseluler menyebabkan *mitochondrial Ca^{2+} overload*, penghambatan produksi ATP, dan kerusakan fosfolipid, protein, dan asam nukleat. Akhirnya, reseptor glutamat juga mengakibatkan masuknya Na^+ ke dalam sel secara berlebihan sehingga terjadi pembengkakan sel dan edema (Nakka *et al.*, 2008). Masuknya ion Na^+ Cl^- , dan air ke dalam sel secara berlebihan akan menyebabkan edema sitotoksik. Pada gambaran CT Scan, edema otak akan tampak sebagai daerah hipodensitas (Atri *et al.*, 2009).



Gambar 2.6 Reseptor NMDA (Nakka *et al.*, 2008).

2.2.5.2 Stress Oksidatif

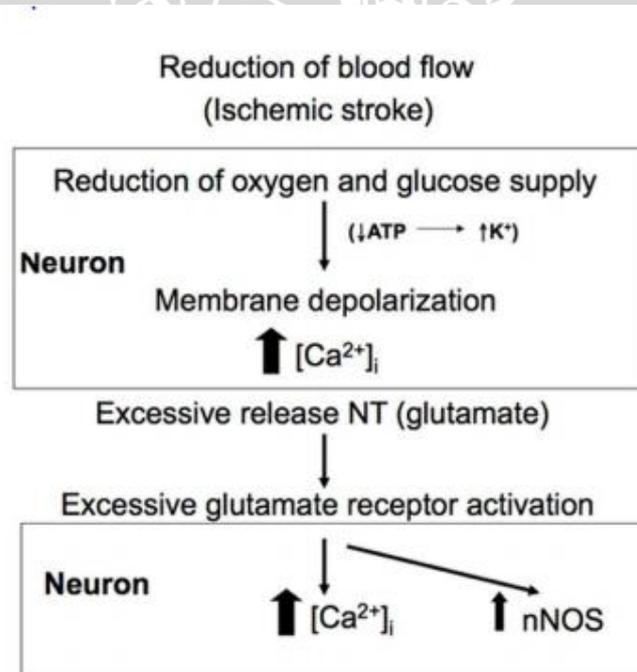
Mitokondria memiliki peran penting dalam regulasi konsentrasi kalsium intraseluler. Peningkatan masuknya Ca^{2+} ke dalam mitokondria dapat menyebabkan peningkatan transpor elektron mitokondria, peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) seperti O_2^- (radikal superoksida) yang mengarah pada disfungsi mitokondrial. Meskipun mitokondria sumber utama ROS dalam proses eksitotoksik, ada banyak sistem enzim yang secara primer atau sekunder meningkatkan kehadiran ROS dalam sistem saraf pusat. Enzim-enzim yang tergantung pada kalsium mengkonversi xanthine dehidrogenase menjadi xanthine oksidase, yang mengakibatkan peningkatan produksi O_2^- dan H_2O_2 . Influx kalsium ke dalam sel dapat mengaktifkan enzim fosfolipase A2 (PLA2), yang mengarah ke produksi asam arakidonat dan pada gilirannya akan ditransformasi oleh cyclooxygenase dan meningkatkan pembentukan O_2^- (Sureda, 2000).

Aktivasi reseptor NMDA oleh glutamat menstimulasi produksi nitrogen oksida (NO) dengan bantuan enzim nNOS (Woodruff *et al*, 2011) seperti yang terlihat pada gambar 2.7. NO dihasilkan dari L-arginine melalui salah satu dari beberapa isoform *NO synthase* (NOS). Ada tiga bentuk NOS yaitu constitutive NOS (cNOS; type III) atau endothelial NOS (eNOS), inducible NOS (iNOS; type II), dan neural NOS (nNOS; type I) (Klabunde, 2008). nNOS, yang diekspresikan pada subpopulasi sel neuron otak, membutuhkan kalsium / kalmodulin untuk aktivasi. iNOS diekspresikan oleh sel inflamasi seperti mikroglia dan monosit. Kedua isoform ini sebagian besar akan menyebabkan kerusakan pada otak dalam kondisi iskemik. Sementara itu, eNOS memiliki efek vasodilatasi dan

memainkan peran yang menguntungkan dengan meningkatkan aliran darah lokal (Woodruff et al el al., 2011).

Nitrogen Oksida yang dihasilkan dapat dengan mudah berdifusi bebas melintasi membran dan bereaksi dengan radikal superoksida (O_2^-) membentuk peroksinitrit ($ONOO^-$) yang merupakan oksidan yang poten (Woodruff et al el al., 2011). $ONOO^-$ ditengarai dapat merusak struktur lipid, protein, DNA sel, dan menyebabkan apoptosis sel (Dongoran, 2007).

Pembentukan ROS (*reactive oxygen species*) akan bersifat neurotoxin, merusak DNA sel dan menyebabkan kerusakan endotel sawar darah otak sehingga permeabilitasnya akan meningkat (Khatri et al., 2012). ROS dapat menyebabkan kerusakan membran melalui peroksidasi *unsaturated fatty acid* (UFA) pada lapisan fosfolipid yang menyusun membran sel (Starkov et al., 2004).

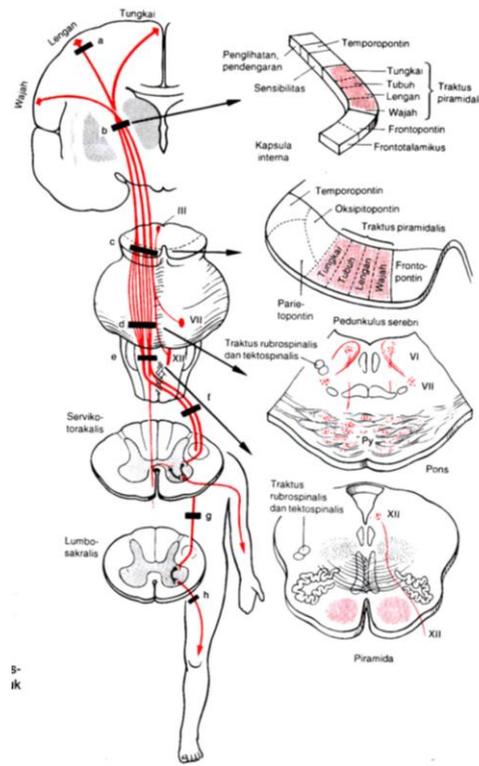


Gambar 2.7 Aktivasi nNOS Akibat Peningkatan Glutamat Ekstraseluler (Breton dan Rodriguez, 2012)

2.2.6 Mekanisme Perubahan Fungsi Motorik Setelah Stroke

Pada keadaan fisiologis, impuls motorik untuk gerakan volunter dicetuskan terutama di girus presentralis lobus frontalis (korteks motorik primer, yaitu area 4 broadmann) dan area kortikal di sekitarnya (neuron motorik pertama). Impuls ini berjalan di dalam jaras serabut yang panjang (traktus kortikunuklearis dan traktus kortikospinalis/jaras piramidal), melewati batang otak, dan turun ke medula spinalis ke kornu anterior tempat membentuk neuron motorik kedua. Kemudian impuls ini akan berjalan melewati radiks anterior, pleksus saraf (di servikal dan lumbal), kemudian ke saraf perifer dan kemudian ke otot-otot rangka. Serabut saraf yang muncul di area 4 di otak akan membentuk traktus piramidalis yang merupakan hubungan langsung dan tercepat antara area motorik primer (di otak) dan neuron motorik kedua (di kornu anterior). Area-area inilah yang akan mengatur modulasi gerakan dan tonus otot (Baehr and Frotscher, 2007).





Gambar 2.8 Lokasi-lokasi lesi akibat stroke iskemik (Baehr and Frotscher, 2007).

Area yang bertanggung jawab untuk mengatur fungsi motorik ini dialiri oleh pembuluh darah arteri serebri anterior dan arteri serebri media yang merupakan percabangan dari arteri carotis interna. Apabila terjadi stroke iskemik yang mengakibatkan infark pada daerah teritori arteri serebri anterior, akan terjadi kelemahan pada kaki kontralateral. Hal ini terjadi karena kerusakan pada traktus kortikospinalis pada lobus parasentral (Chamorro et al, 1997). Lobus parasentralis merupakan kelanjutan ke arah superomedial pada area presentralis dan merupakan area prominens sel piramidalis (Snell, 2009). Kelemahan yang terjadi dapat saja tidak terbatas pada kaki saja, dapat juga mengenai ke lengan distal, wajah (Chamorro et al, 1997). Hemiparesis pada wajah dan tangan (kelemahan brakhiofasial) sering terjadi karena daerah tersebut memiliki representasi kortikal yang luas (Baehr and Frotscher, 2007). Kelemahan pada

lengan dapat merupakan hasil dari infark pada sepertiga anterior pada posterior kapsula interna yang terjadi bersamaan yang merupakan hasil dari oklusi arteri kecil yang timbul dari segmen proksimal arteri cerebri anterior atau arteri karotis interna bagian anterior (Chamorro et al, 1997). Proses iskemik seringkali melibatkan kapsula interna. Hal ini mengakibatkan hemiplegia spastik kontralateral karena mengenai serabut piramidal dan non piramidal serta traktus kortikonuklearis sehingga dapat menyebabkan paresis nervus fasialis kontralateral dan hipoglossus sentral (Baehr and Frotscher, 2007). Pada gambar di atas menjelaskan bahwa lesi pada otak akibat iskemik dapat mempengaruhi kelemahan pada ekstremitas (kaki dan lengan) serta wajah.

2.3 Mekanisme Stroke pada Hewan Coba

2.3.1 Metode Induksi Stroke

Metode induksi stroke yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Unilateral Occlusion Carotid Artery Internal dan External* yang merupakan modifikasi dari metode BCAA. Metode induksi BCAA adalah sebuah metode induksi stroke yang menggunakan ligasi arteri karotis komunis hewan coba secara bilateral (Ishikawa et al, 2003). Metode induksi tersebut dimodifikasi menjadi oklusi arteri karotis secara unilateral berdasarkan Kitagawa et al pada tahun 1998 yang telah membuktikan bahwa secara unilateral saja sudah dapat menginduksi stroke iskemik. Modifikasi lainnya adalah pengikatan arteri karotis interna dan eksterna yang merupakan cabang utama dari arteri karotis komunis yang memiliki posisi lebih mendekati otak sehingga memudahkan proses stroke terjadi. Waktu yang digunakan saat oklusi adalah 45 menit (Kuraoka et al, 2009).

2.3.2 Mekanisme Stroke oleh Metode Induksi Stroke

Metode *Unilateral Occlusion Carotid Artery* menginduksi stroke pada hewan coba dengan menghambat aliran ke darah dalam otak. Pembuluh darah yang teroklusi dalam metode ini adalah arteri karotis eksterna dan interna. Arteri karotis interna memperdarahi sebagian besar korteks otak. Arteri karotis interna memiliki cabang besar yaitu arteri serebri media. Pembuluh darah ini memperdarahi bagian korteks yang memiliki salah satu fungsi berupa fungsi motorik primer untuk gerakan volunter manusia (Bradac, 2011).

2.3.3 Hal-hal yang Membuktikan Terjadinya Stroke pada Hewan Coba

Stroke memiliki beberapa biomarker yang bisa menjadi tanda-tanda awal dan dapat terdeteksi dalam sirkulasi. Ada 5 marker yang spesifik untuk mendeteksi terjadinya stroke pada hewan coba yaitu s-100 β , NGF- β , *von Willebrand Factor*, MMP-9, MCP-1. Beberapa marker ini dideteksi menggunakan metode ELISA. Marker ini mendeteksi dengan cepat tanda-tanda awal yang terjadi pada tahap awal stroke (Reynolds *et al*, 2003). Salah satu marker yang digunakan dalam penelitian ini adalah MMP-9.

MMP-9 atau matriks metalloproteinase-9 adalah marker awal stroke yang dapat dideteksi menggunakan ELISA melalui serum darah hewan coba. MMP-9 muncul bersamaan dengan infiltrasi neutrophil dalam neuron otak yang mengalami iskemik. Ekspresi MMP-9 juga meningkat seiring dengan proses iskemia yang semakin bertambah pada sel neuron (Justicia *et al*, 2003). Mekanisme transkripsi MMP-9 dalam sel neuron masih belum diketahui secara pasti (Ganguly *et al*, 2013) namun keberadaan MMP-9 selalu terdeteksi pada otak

yang iskemik dan tidak pernah ditemukan pada sel otak yang normal(Gheeyoung *et al*, 2008).

2.4 Regenerasi Fungsi Motorik

Kerusakan fungsi motorik selalu dikaitkan dengan kerusakan akson dan dendrit pada neuron. Namun akson sendiri memiliki kemampuan alami untuk mengalami regenerasi yang disebut sebagai proses *axonal sprouting*. *Axonal sprouting* memiliki 2 mekanisme utama untuk melakukan regenerasi. Jalur pertama adalah jalur yang melakukan restrukturisasi terhadap sitoskeleton neuronal. Jalur kedua adalah jalur yang melakukan respon pertahanan sel yang diatur oleh gen-gen yang memberi perlindungan terhadap proses inflamasi, stress oksidatif, dan ketidakseimbangan ion seluler(Ng *et al*, 2012).

Jalur restrukturisasi terhadap sitoskeleton neuronal memiliki peran yang besar dalam memperbaiki akson yang rusak. Akson memiliki peran sebagai pembawa impuls saraf terhadap badan sel yang akan memproses pesan impuls listrik untuk fungsi motoris(Ng *et al*, 2012). Perbaikan pada jalur ini memiliki 2 komponen utama yang harus terpenuhi yaitu mikrotubul dan filament aktin. Filament aktin yang terkumpul di ujung-ujung saraf akan membentuk akson-akson baru. Mikrotubul juga membantu pada strukturisasi akson sehingga akson dapat tumbuh dan berfungsi kembali seperti sediakala. Jika akson dapat tumbuh kembali, fungsi motoris pun dapat berangsur-angsur pulih(Schaefer *et al*, 2008).

Kedua komponen utama dalam proses ini juga dapat mengarahkan akson-akson untuk mengarah pada ujung saraf yang benar. Proses ini disebut juga *axonal guidance*. *Axonal guidance* memulai jalur untuk melokalisir aktin

yang akan membentuk struktur untuk meregulasi protein adhesi. Protein adhesi juga akan membantu proses pertumbuhan akson yang baru (Schaefer *et al*, 2008).

Jalur *cell survival response* adalah jalur yang menginisiasi dan membantu pertumbuhan secara aksonal. Pertumbuhan akson tersebut dipicu oleh sinyal dari factor-factor intraseluler termasuk Ca^{2+} , faktor transkripsi, factor pertumbuhan dan beberapa *second messenger* lainnya. Salah satu factor yang berperan penting dalam pertumbuhan aksonal adalah factor transkripsi bcl-2 yang juga memulai plastisitas dan regenerasi (Horner dan Gage, 2000).

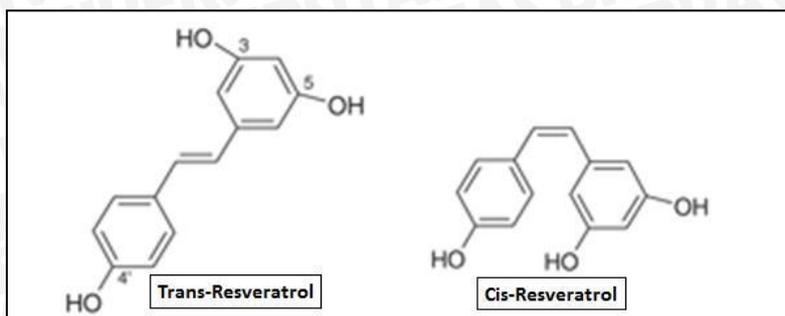
2.5 Resveratrol

Polifenol adalah senyawa antioksidan melimpah yang terdapat dalam makanan, berbagai jenis buah, sayuran, sereal, zaitun, kacang-kacangan, coklat dan minuman, seperti teh, kopi dan anggur. Sebagai antioksidan, polifenol dapat melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif dan membatasi risiko berbagai penyakit degeneratif yang berhubungan dengan stres oksidatif. Polifenol memiliki beberapa kelompok hidroksil pada cincin aromatik dan juga cincin fenol. Polifenol dibagi menjadi beberapa kelas sesuai dengan jumlah cincin fenol. Kelompok utama polifenol adalah: flavonoid, asam fenolat, fenolik alkohol, stilbenes dan lignan (D'Archivio *et al.*, 2007).

Stilbenes berukuran kecil (MW 210-270 g / mol) dan secara alami ditemukan dalam berbagai sumber tanaman, produk aromaterapi, dan suplemen diet. Stilbenes terdapat di alam sebagai stereoisomer E (cis) dan Z (trans), tergantung di mana gugus fungsionalnya melekat. Isomer E dan Z masing-

masing memiliki efek farmakologis yang berbeda dimana isomer Z memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan isomer E. Salah satu anggota stilbenes yang terdapat dalam diet manusia adalah resveratrol (Roupe *et al.*, 2006).

Resveratrol terutama ditemukan pada kacang tanah, anggur merah, dan anggur. Resveratrol memiliki berbagai fungsi sebagai anti-inflamasi, anti-kanker dan agen kemoprotektif (Roupe *et al.*, 2006). Resveratrol dihasilkan oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi oleh patogen atau berbagai kondisi stress. Bentuk dari senyawa ini dapat berupa isomer trans atau cis, dimana sebagian besar berada dalam bentuk glikosilasi (D'Archivio *et al.*, 2007). Trans-resveratrol merupakan bentuk aktif dimana trans-resveratrol dapat mengalami perubahan menjadi cis-resveratrol ketika dipanaskan atau terkena radiasi UV. Trans-resveratrol lebih banyak ditemukan dan memiliki aktivitas biologi yang lebih besar dibandingkan cis-resveratrol. Trans-resveratrol merupakan komponen alami dari *Vitis vinifera* L. yang melimpah di bagian kulit anggur (tetapi tidak di daging anggur) dan di epidermis daun tanaman anggur, terutama anggur merah. Sementara itu dalam kebanyakan studi, cis-resveratrol belum terdeteksi dalam anggur namun terdeteksi dalam *wine* dengan konsentrasi yang bervariasi. Kedua struktur isomer resveratrol dapat dilihat pada gambar 2.9 (Orallo, 2006).



Gambar 2.9 Struktur Resveratrol (Cottart *et al.*, 2010)

2.5.1 Bioavailabilitas dan Metabolisme Resveratrol

Bioavailabilitas resveratrol tergantung pada penyerapan dan metabolisemenya. Dalam studi *in vivo*, penyerapan resveratrol mencapai 70 % setelah pemberian secara oral pada manusia. Resveratrol bersifat lipofilik namun penyerapannya tidak dipengaruhi oleh jenis makanan dan jumlah lemak yang terkandung dalam makanan (King *et al.*, 2006). Pada tikus, resveratrol terdeteksi dalam tinja, urin, empedu, dan plasma serta pada ginjal, lambung, usus, dan hepar setelah pemberian secara oral. Resveratrol dapat diserap dengan baik oleh tikus dan manusia dan dimetabolisme oleh enzim hepar fase II yang mengarah pada pembentukan metabolit glukoronida dan sulfat. Sebagian resveratrol tetap berada dalam bentuk utuh dan berikutnya resveratrol beserta konjugatnya dikeluarkan lewat feses dan urine (Udenigwe *et al.*, 2008).

Satu studi membahas mengenai konsentrasi resveratrol pada jaringan tikus setelah pemberian anggur merah. Pada kelompok tikus pertama, 42 ekor tikus masing-masing diberi 4mL anggur merah yang mengandung 6,5mg/L resveratrol via intubasi intragastric selama 15 hari. Dosis yang diberikan sebanding dengan konsentrasi resveratrol sekitar 86 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mewakili jumlah rata-rata resveratrol pada subjek manusia yang meminum satu gelas anggur merah.

Hasilnya konsentrasi maksimum resveratrol dalam darah adalah 20.2ng/mL dan dicapai 1 jam setelah pemberian. Pada ekstraksi hepar menunjukkan konsentrasi rata-rata 20.7 ng/g, pada jantung terkandung 2.2 ng/g, dan pada ginjal menunjukkan rata-rata konsentrasi resveratrol sebesar 20 ng/g. Pada kelompok tikus kedua, masing-masing tikus diberi 2mL anggur merah yang mengandung 43 µg/kg resveratrol. Hasil menunjukkan konsentrasi resveratrol dalam hepar menjadi 53.5ng/g, jantung menjadi 3.1ng/g, dan ginjal menjadi 44.1ng/g. Kesimpulan dari penelitian ini adalah konsentrasi resveratrol dalam darah, jantung, hati dan ginjal dapat dicapai melalui konsumsi moderat dari anggur merah dalam studi in vitro (Roupe *et al.*, 2006).

Pada tahun 2004, Walle dan kawan-kawan menunjukkan bahwa pemberian resveratrol secara intravena mengakibatkan konversi resveratrol ke dalam bentuk konjugat sulfat dalam waktu 30 menit pada manusia. Ada lima metabolit yang berbeda yang hadir dalam urin manusia, yaitu resveratrol monosulphate, dua bentuk isomer resveratrol monoglucuronide, dihydroresveratrol monosulphate dan dihydroresveratrol monoglucuronide. Jumlah metabolit sulfat adalah 37% di dalam urin dan total konjugat glukuronida adalah 19%, sisanya adalah sebagian besar metabolit yang tidak diketahui dan sedikit resveratrol yang berada dalam bentuk bebas. Selain itu, Walle dan kawan-kawan menemukan bahwa waktu paruh resveratrol dalam serum adalah 9,2 jam (Baur dan Sinclair, 2006).

2.5.2 Efek Antioksidan Resveratrol terhadap Neuron Otak

Sistem saraf pusat (SSP) menjadi salah satu target dari resveratrol karena polifenol ini dapat melewati sawar darah otak. Resveratrol mampu

melindungi sel-sel saraf otak dari kerusakan akibat *reactive oxygen species* (ROS) dengan cara menstimulasi sistem pertahanan endogen. Stress oksidatif mampu menimbulkan berbagai penyakit pada manusia termasuk penyakit neurodegeneratif. Sel-sel neuron otak memiliki kapasitas untuk memproduksi peroksida, terutama hidrogen peroksida (H_2O_2) dalam jumlah yang besar (Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011).

Metabolisme otak yang tinggi mengakibatkan sel neuron otak membutuhkan ATP yang tinggi juga untuk menjalankan fungsinya. Peningkatan permintaan ATP yang sangat tinggi atau penurunan produksi ATP dapat mempengaruhi fungsi saraf yang normal serta menurunkan respon dari neuron terhadap stress oksidatif tinggi. Beberapa sel neuron dapat bertahan dalam keadaan stress oksidatif yang tinggi dan sisanya ada populasi neuron yang sangat rentan terhadap stress oksidatif sehingga dapat terjadi penurunan fungsional dan kematian sel. Neuron yang rentan terhadap stress oksidatif akan memiliki permintaan ATP yang tinggi untuk melawan keberadaan stress oksidatif intrinsik yang tinggi. ATP ini digunakan oleh sel neuron untuk memproduksi antioksidan, memperbaiki dan menghambat makromolekul yang teroksidasi (protein, lipid, dan asam nukleat). Untuk memenuhi kebutuhan ATP yang tinggi, otak mengkonsumsi oksigen (O_2) dengan cepat. Hal ini membuat otak rentan terhadap gangguan fungsi mitokondria dan akan mengakibatkan peningkatan radikal superoksida (O_2^-). Meskipun demikian, otak memiliki pertahanan antioksidan sendiri dimana mitokondria mengandung superoksida dismutase (SOD) dan glutathion tereduksi. Antioksidan superoksida dismutase (SOD) membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) dari radikal superoksida (O_2^-) (Wang dan Michaelis, 2010).

Jadi selain sebagai sumber ATP, mitokondria juga dapat memproduksi radikal bebas dan mengakibatkan inisiasi dari stress oksidatif. Radikal superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dihasilkan oleh mitokondria dapat bereaksi lebih lanjut untuk menghasilkan ROS (*reactive oxygen species*) lainnya, seperti radikal hidroksil dan peroksinitrit sehingga akan lebih meningkatkan stress oksidatif. Mitokondria sendiri juga dapat mengalami kerusakan akibat radikal bebas yang mereka hasilkan (Halliwell, 2001).

Resveratrol mampu bertindak sebagai redoks potensial dalam menurunkan stress oksidatif. Dalam sebuah studi dilakukan dua model penginduksian stress oksidatif eksogen secara in vitro: (I) konsentrasi hidrogen peroksida yang tinggi (1 nM) tetapi waktu pemaparannya pendek (30 menit/akut), (II) konsentrasi hidrogen peroksida yang lebih rendah (0,1 mM) tetapi waktu pemaparannya panjang (6 jam). Setelah penginduksian stress oksidatif, diberikan 100 μ M resveratrol dan didapatkan hasil bahwa resveratrol dapat melindungi kerusakan sel akibat hidrogen peroksida pada model I dan memiliki efek potensiasi pada model II (Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011).

2.5.3 Efek Resveratrol terhadap Astrosit Otak

Astrosit yang merupakan salah satu jenis dari sel glia memiliki peran untuk menjaga homeostasis dari sistem saraf pusat, menyediakan factor tropik untuk sel-sel neuron, membersihkan neurotransmitter yang dilepaskan di celah sinaps, mengembalikan keseimbangan gradien ion di celah sinaps, memediasi respon imun otak, dan mengurangi stress oksidatif (Wang dan Michaelis, 2010).

Fungsi utama dari astrosit adalah meng-uptake glutamate pada celah sinaps. Glutamat adalah neurotransmitter utama dalam sistem saraf pusat dan memainkan peran penting dalam plastisitas saraf dan neurotoxicity. Modulasi glutamat ekstraseluler menentukan fungsi fisiologis dan eksitotoksiknya. Mekanisme utama yang bertanggung jawab untuk memelihara agar konsentrasi ekstraseluler glutamate tetap rendah dilakukan oleh protein transporter glutamat, yang menggunakan gradien elektrokimia melintasi membran plasma sebagai penggerak untuk uptake. Astrosit berperan untuk mengkonversi glutamat menjadi glutamin dengan bantuan enzim glutamin sintetase. Glutamin kemudian bisa dilepaskan kembali ke dalam ekstraseluler oleh astrosit dan diambil oleh neuron. Neuron akan mengkonversi glutamine menjadi glutamate kembali dan sistem ini disebut siklus glutamat-glutamin (Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011).

Pemberian resveratrol mampu meningkatkan uptake glutamate oleh astrosit. Sebuah studi menginvestigasi berbagai pengaruh konsentrasi resveratrol antara 10–250 μM terhadap astrosit pada korteks primer otak. Kultur astrosit diambil dari korteks serebral neonatus tikus Wistar. Uptake glutamate diukur dengan menggunakan L-[2,3- ^3H]glutamate dan aktivitas enzim glutamine sintetase diukur menggunakan *enzymatic colorimetric assays*. Hasilnya pada konsentrasi 25 μM , resveratrol mampu meningkatkan uptake glutamate dan sebaliknya pada 250 μM , resveratrol menurunkan uptake glutamate namun dapat meningkatkan aktivitas enzim glutamine sintetase (Almeida *et al.*, 2007).

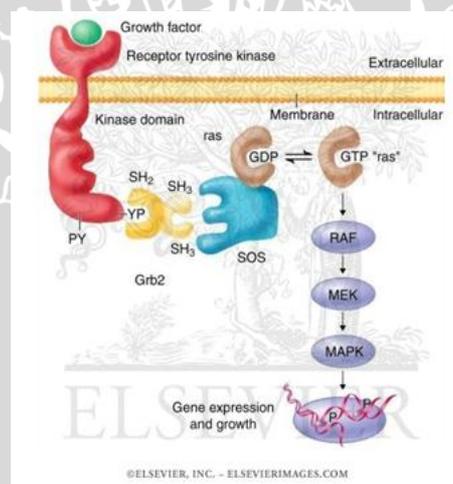
2.6 Resveratrol dengan Stroke Iskemik

Stroke Iskemik mengakibatkan kerusakan pada sel neuron otak namun neuron korteks otak mengupayakan pemulihan fungsi otak melalui plastisitas

(Carmichael, 2003). Plastisitas ialah kemampuan sel untuk beradaptasi seumur hidup terhadap perubahan, mengatasi cedera, dan mengkompensasi hilangnya fungsi dalam satu bagian sehingga fungsinya dapat kembali normal (Caplan, 2007). Dalam keadaan iskemik, astrosit memiliki peran penting dalam mendukung struktur, metabolisme, aktifitas sinaptik, *antioxidant defense*, dan mengeluarkan *growth factor* yang turut membantu proses neurogenesis dan regenerasi saraf setelah stroke. Astrosit mempengaruhi kehidupan sel saraf dengan mengekspresikan molekul permukaan dan mengeluarkan faktor tropik (Chen dan Swanson, 2003).

Secara lebih rinci, astrosit dapat memproduksi *neurotrophic factor* (NTFs) seperti NGF (*neuro growth factor*), BDNF (*brain derived neurotrophic factor*), GDNF (dan *glial cell line-derived neurotrophic factor*), yang memiliki peran esensial dalam mempertahankan fungsi dan keberlangsungan hidup neuron (Xue *et al.*, 2007). NTFs akan berikatan dengan reseptornya yaitu TrkA, BDNF berikatan dengan reseptor TrkB, dan GDNF berikatan dengan reseptor GFR α (Hughes, 2012). Trk merupakan reseptor famili dari *tyrosine kinase*. Ikatan dengan reseptor akan mengaktifkan Ras. Ras-GTP lalu memicu isoform Raf dan perekrutan Raf masuk ke membran plasma diikuti dengan fosforilasi MEK1/MEK2 lalu ERK1 dan ERK2 (Qi dan Elion, 2005). ERK1/2 ini merupakan salah satu dari 5 anggota MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) yang melimpah di sistem saraf pusat dan diaktifkan selama peristiwa fisiologis dan patologis seperti iskemia otak. ERK1/2 meregulasi proliferasi, diferensiasi, meiosis, dan pembelajaran serta memori di sel saraf. Pada akhirnya NTFs menginduksi jalur MAPK melalui ERK1 dan ERK2 kinase (Cavanaugh *et al.*, 2008).

Resveratrol dapat meningkatkan pelepasan faktor neurotropik (NGF, GDNF, dan BDNF) dan meningkatkan ekspresi reseptor tirosin kinase, Trk A dan TrkB (Valderrama *et al.*, 2009). Ketika faktor neurotropik berikatan dengan Trk, Trk menjadi aktif (Zhang *et al.*, 2012). Reseptor segera mengalami proses autofosforilasi dan, menghasilkan fosforilasi dari substrat dan Ras yang teraktivasi. Ras-GTP menginduksi Raf isoform untuk memasuki membran plasma diikuti oleh fosforilasi dari MEK1 / 2 dan kemudian ERK1 / 2 (Qi dan Elion, 2005). ERK1 / 2 adalah anggota MAPK yang mengatur proliferasi, diferensiasi, dan meiosis neuron (Zhang *et al.*, 2012). Proses induksi jalur ERK 1/2 dijelaskan pada gambar 2.10.



Gambar 2.10 Mekanisme ERK1/2 (Goldmann dan Ausiello, 2008)

Resveratrol memiliki efek yang kuat sebagai neuroprotektif pada hewan coba yang sehat maupun hewan model stroke. Sampel mikrodialisis dari tikus yang diinduksi stroke iskemik dengan menggunakan MCAO (*middle cerebral artery occlusion*) menunjukkan kadar resveratrol meningkat lebih dari enam kali lipat di daerah infark (Breuer *et al.*, 2006). Sejumlah penelitian juga mengungkapkan bahwa resveratrol berguna dalam melindungi kerusakan otak

akibat iskemia cerebri. Tikus yang diberikan resveratrol via injeksi intraperitoneal selama 21 hari menunjukkan kerusakan fungsi motorik dan luas daerah infark yang lebih kecil setelah penginduksian dengan MCAO (*middle cerebral artery occlusion*). Studi lain menggunakan Mongolian gerbils dimana hewan ini juga diberikan resveratrol via injeksi intraperitoneal, diikuti pemberian dosis kedua resveratrol setelah 24 jam, menyebabkan penurunan kematian sel tipe lambat. Resveratrol yang diberikan secara intravena juga secara signifikan dapat menurunkan volume iskemik dan kadar air dalam otak pada dosis yang rendah yaitu 100 ng dan 1 µg per kg berat badan setelah MCAO (*middle cerebral artery occlusion*) (Baur dan Sinclair, 2006).

Pemberian resveratrol selama fase akut stroke iskemik dapat mengurangi cedera otak pada tikus. Volume infark menurun secara bermakna pada kedua jenis kelamin mencit dengan dosis resveratrol yang berbeda (5mg/kg untuk pria dan 1mg/kg untuk perempuan) dimana resveratrol diberikan 3 jam setelah stroke iskemik. Administrasi resveratrol 6 jam setelah stroke iskemik juga efektif untuk mengurangi volume infark. Resveratrol mampu menekan ekspresi IL-1β dan TNF-α, aktivasi mikroglia, dan produksi ROS di korteks yang mengalami iskemik (Shin *et al.*, 2010).

2.7 Resveratrol dengan Fungsi Motorik

Resveratrol merupakan senyawa yang bersifat neuroprotektif dan mencegah kerusakan neuron secara seluler. Fungsi motorik pada manusia juga selalu diperantarai oleh fungsi neuron yang bekerja sebagai perantara pengantar sinyal dari sistem saraf pusat pada sistem saraf perifer. Resveratrol memiliki efek yang baik terhadap saraf-saraf pada medulla spinalis yang mengalami

inflamasi(Kaplan *et al* , 2005). Injuri pada medulla spinalis memutus pergerakan fungsi motorik yang menyebabkan pasien mengalami kecacatan baik permanen maupun sementara.

Resveratrol juga membantu perbaikan disfungsi endothelial. Resveratrol mencegah kakunya dinding pembuluh darah sehingga mencegah terjadinya vasokonstriksi yang berlebihan. Proses terjaganya lumen pembuluh darah membantu proses reperfusi terhadap injuri di medula spinalis sehingga memungkinkan pemulihan fungsi sinyal pada system saraf perifer. Proses ini juga memperbaiki fungsi motorik pada pasien tersebut(Zhang *et al* , 2009).

Resveratrol, seperti yang disebutkan di subbab sebelumnya, memiliki efek antioksidan. Resveratrol juga bisa menangkal ROS agar tidak bereaksi dengan sel neuron(Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011). ROS merupakan stress oksidatif yang juga bisa ditangkal oleh mekanisme *axonal sprouting* jalur respon pertahanan sel terhadap stress oksidatif.(Ng *et al*, 2012) Dengan adanya proses *axonal sprouting*, akson dapat mengalami regenerasi sehingga neuron dapat menerima impuls dengan lebih baik yang menyebabkan fungsi motoris pun dapat dilakukan dengan lebih baik pula. Selain itu resveratrol juga meningkatkan Bcl-2 yang dapat meningkatkan neurogenesis dan menurunkan apoptosis neuron (Caroni, 1997; Zhang *et al.*, 2006).

2.8 Anggur (*Vitis vinifera*)

Anggur (*Vitis vinifera*) merupakan bagian dari famili vitaceae. Famili vitacea memiliki 17 genus yang sebagian besar berupa tanaman semak. Hanya satu genus yang memproduksi buah beri yang dapat dimakan yaitu *Vitis*. *Vitis*

vinifera memiliki 60 spesies yang tersebar di Amerika dan Asia (Mullins *et al.*, 1992). Tanaman anggur dapat ditemukan di semua benua di dunia (Rukmana, 1999). Di Indonesia terdapat sentral-sentral penghasil anggur antara lain Pulau Pisang (Sumatera Barat), Ternate, Halmahera, Kupang, Makassar, Probolinggo, Pasuruan, Panarukan, Besuki dan Banyuwangi (Jawa Timur), Buleleng (Bali), dan Lombok (Nusa Tenggara Barat) (Balai Pertanian, 2008; Rukmana, 1999)

2.8.1 Taksonomi *Vitis vinifera*

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Ordo	: Vitales
Famili	: Vitaceae
Genus	: <i>Vitis</i> L.
Spesies	: <i>Vitis vinifera</i>

(IT IS, 2013)

2.8.2 Morfologi Anggur (*Vitis vinifera*)

Tanaman anggur berbentuk perdu dan menjalar. Tubuh tanaman anggur terdiri dari akar, batang, daun, salur, bunga, dan buah. Batang tanaman anggur beruas-ruas, berbuku-buku serta berkayu. Daun tanaman anggur merupakan daun tunggal yang berarti hanya ada satu helai daun (Rukmana, 1999). Buahnya memiliki kulit yang tipis, rasa manis, dan segar. Anggur jenis ini mampu hidup di dataran rendah dengan ketinggian 300 m dari permukaan laut, beriklim kering. Curah hujan yang dibutuhkan rata-rata 800 mm pertahun. Suhu rata-rata pada

siang hari maksimal 31 derajat Celcius dan suhu rata-rata minimal pada malam hari 23 derajat Celcius dengan kelembaban udara 75-80% (IPTEK, 2005).

2.8.3 Jenis Anggur (*Vitis vinifera*)

Anggur (*Vitis vinifera*) memiliki beberapa jenis yang dapat tumbuh di Indonesia antara lain Gros Colman, Probolinggo Biru dan Putih, Situbondo Kuning, Alphonso Laval, Golden Champion, dan Fragola (IPTEK, 2005).

Gambar anggur (*Vitis vinifera*) jenis Fragola dapat dilihat pada gambar 2.11.



Gambar 2.11 Anggur (*Vitis vinifera*) jenis Fragola

2.8.4 Kandungan Biji dan Kulit Anggur (*Vitis vinifera*)

Buah anggur secara keseluruhan mengandung berbagai macam vitamin dan zat antioksidan yang berguna bagi kesehatan. Buah anggur mengandung 0,4 gram protein, 0,36 gram lemak, 19,7 gram karbohidrat, 6 mg kalsium, 24,4 mg fosfor, 1,7 gram serat, 0,4 mg besi, 66 SI vitamin A, 0,05 mg vitamin B1, 0,02 mg vitamin B2, 3 mg vitamin C, 0,2 gram niacin, serta bahan-bahan phenol seperti flavonoid dan resveratrol (Wiryanta, 2004). Kandungan bahan phenol

seperti flavonoid (tannin dan antosianin) serta resveratrol hampir tidak ada dalam buah anggur akan tetapi terdeposisi dalam biji dan kulit anggur. Bahan phenol yang ada antara lain asam phenolat (genticic, salicyclic, dan gallac cyclic) 40 mikrogram/kg anggur (Geros *et al.*, 2012), stilbenes (resveratrol) 24,06 $\mu\text{g/ml}$ (Pe´rez, *et al.*, 2001) dan pada ekstrak biji anggur 0,9850 $\mu\text{g/ml}$ (Xiang *et al.*, 2003), serta flavonoid (catechins, quecetin, dan anthocyanin) 16,0 mg/kg anggur (Bunea, *et al.*, 2012; Geros *et al.*, 2012).

