BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sistem Saraf

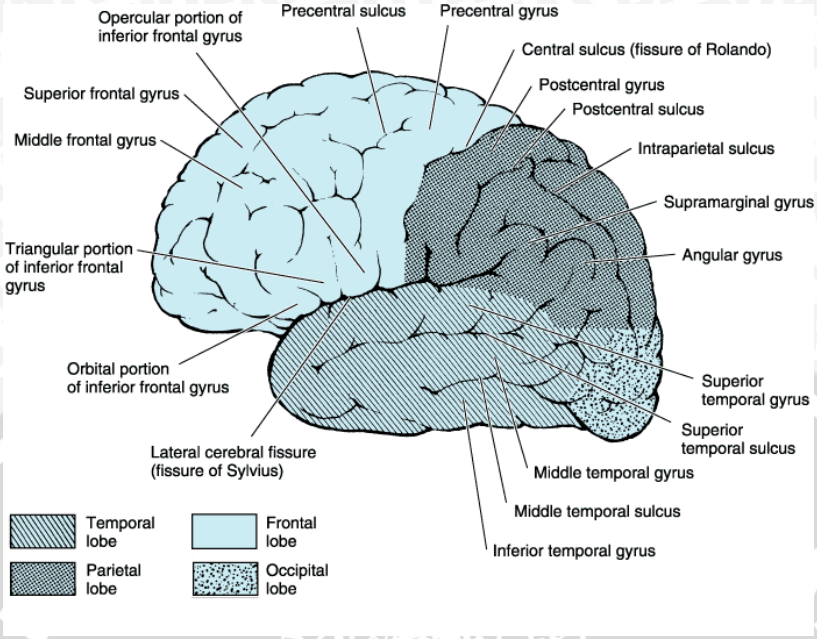
Sistem saraf manusia berperan dalam mengontrol seluruh aktivitas manusia. Sistem saraf terbagi menjadi sistem saraf pusat dan sistem saraf perifer. Sistem saraf pusatlah yang menerima dan memberikan perintah dari dan kepada sistem saraf perifer untuk menjalankan seluruh kegiatan yang hendak dilakukan. Sistem saraf pusat terdiri dari serebrum, serebelum, batang otak, dan korda spinalis. Sedangkan sistem saraf perifer tediri dari 12 pasang nervus kranialis 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).

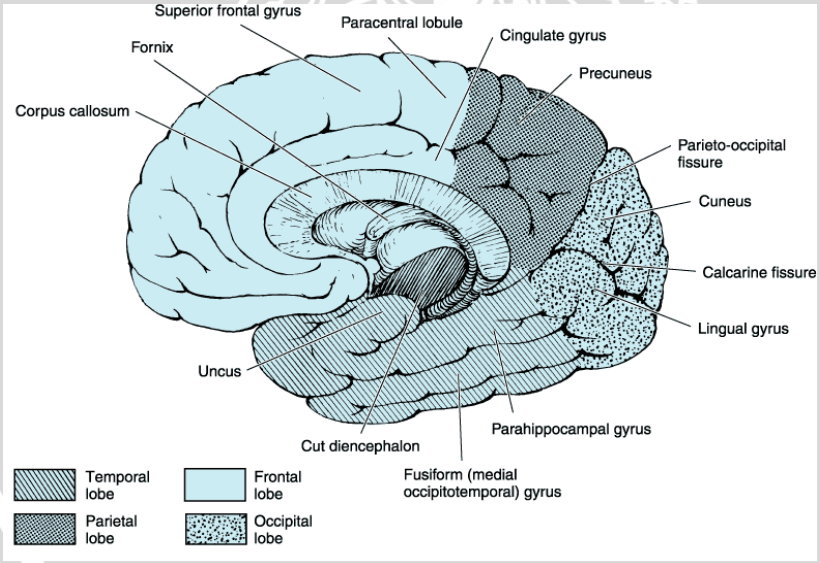
2.1.1 Anatomi Otak

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.



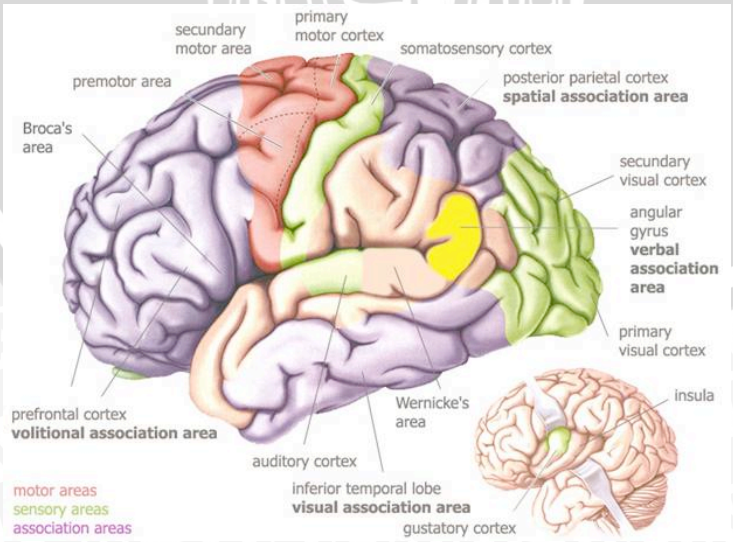
Gambar 2.1 Girus dan Sulkus Kortikal Serebrum (tampak lateral) (Ghimire, 2013)



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).



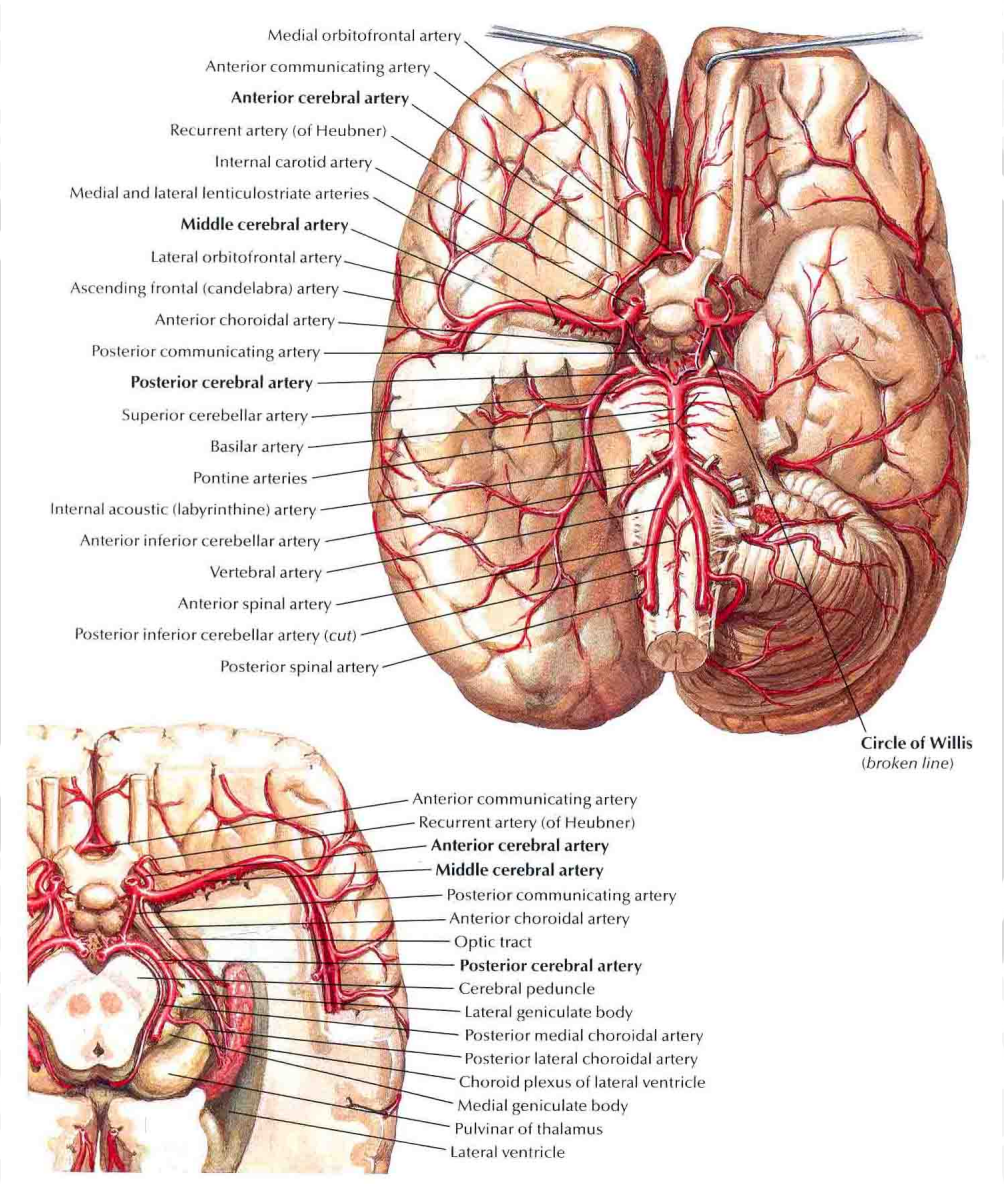
Gambar 2.3 Pembagian Korteks Otak Berdasarkan Fungsinya (Manuel, 2011)

2.1.1.2 Suplai Darah Arteri Otak

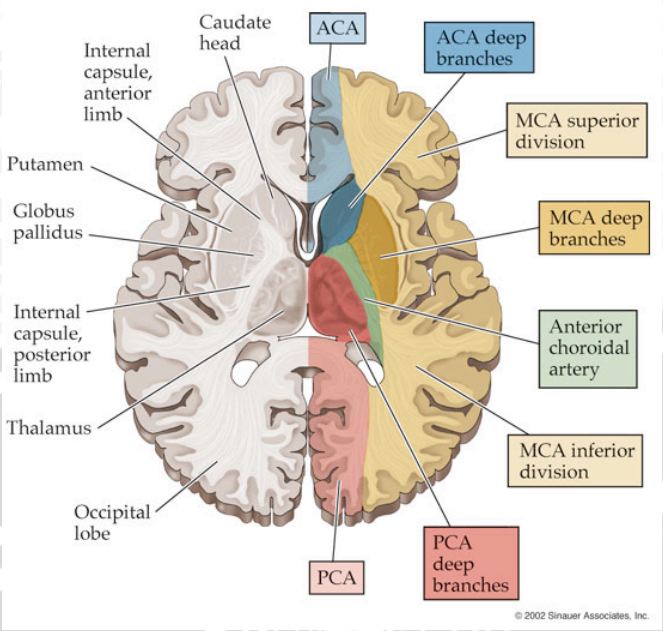
Otak besar atau serebrum, mendapatkan suplai darah dari arteri vertebralis dan arteri karotis interna. Cabang-cabang kedua arteri tersebut yang memberikan suplai darah ke otak seperti yang nampak pada gambar 2.4. A. vertebralis berasal dari a. subklavia yang merupakan cabang aorta. Cabang utama a. vetebralis 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 Arteri Otak (Netter, 2010)



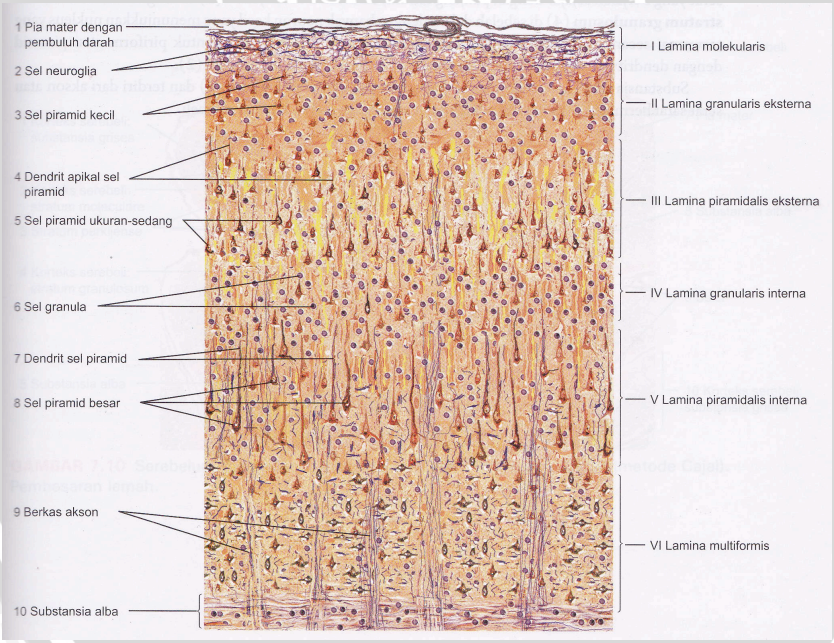
Gambar 2.5 Suplai Arteri pada Bagian Otak (Sinauer Associates, 2002)

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 Willisi, yang merupakan pertemuan antara arteri besar dan arteri komunikans yang terletak di dasar otak (Hoksbergen *et al*., 2000).

2.1.2 Histologi Otak

Korteks pada hemisfer otak memiliki 6 lapis yang secara mikroskopis dengan pengecatan Hematoxylin & Eosin (H&E) tidak dapat dibedakan (Robbins and Cotran, 2006). Akan tetapi dapat dibedakan dengan pengecatan impregnasi perak (metode Cajal). Gambaran 6 lapisan otak beserta komponennya dapat dilihat pada gambar 2.6. Lapisan yang pertama ialah lamina molekularis yang dilapisi oleh jaringan ikat otak yang halus, piamater. Bagian tepi lamina molekularis terdiri dari sel neuron yang tersusun horisontal. Lapisan kedua

adalah lamina granularis eksterna yang mengandung berbagai jenis sel neuroglia dan sel piramid kecil. Lapisan ketiga ialah lamina piramidalis eksterna di mana sel piramid yang berukuran sedang mendominasi di lapisan ini. Lapisan keempat ialah lamina granularis interna yang merupakan suatu lapisan tipis yang banyak mengandung sel granular kecil, beberapa sel piramid, dan berbagai neuroglia yang membentuk hubungan yang kompleks dengan sel piramid. Lapisan kelima ialah lamina piramidalis interna, lapisan ini banyak mengandul sel neuroglia dan sel piramid terbesar. Lapisan yang terdalam ialah lamina multiformis, lamina ini banyak mengandung campuran sel dalam berbagai bentuk dan ukuran seperti sel fusiforme, sel granula, sel stelata, sel matinotti (Eroschenko, 2008).



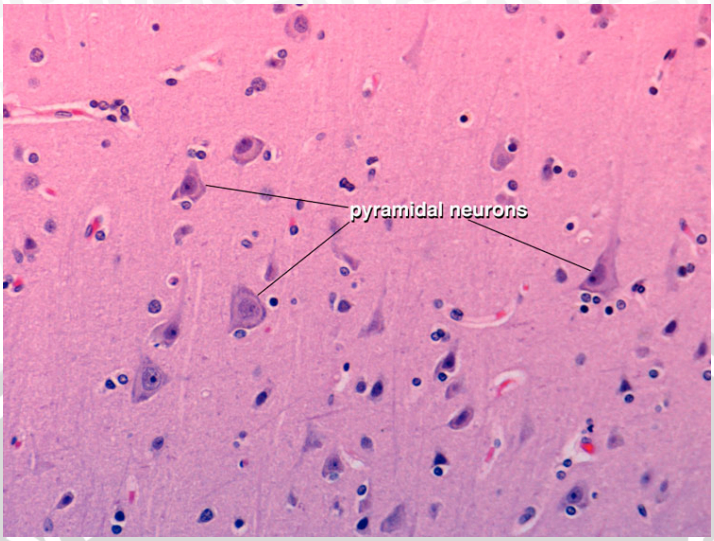
Gambar 2.6 Lapisan Korteks Serebri Substansia Grisea (Eroschenko, 2008)

Sistem saraf pusat terdiri dari sel saraf yaitu neuron dan sel penunjuang atau disebut juga sel glia. Neuron berfungsi untuk menjalankan impuls saraf sedangkan sel glia berfungsi untuk memberikan dukungan dan melindungi neuron. Neuron terdiri dari badan sel (perikarion) dan beberapa prosesus.

Prosesus pendek dan banyak yang berfungsi untuk menerima impuls saraf adalah dendrit. Sedangkan satu prosesus panjang yang berfungsi untuk melanjutkan impuls saraf ke neuron yang lain disebut akson (Brodal, 2010). Pada pengecatan dengan H&E akan tampak akson tipis yang muncul dari ruang kosong. Akson memiliki ukuran yang lebih panjang dan tipis dibandingkan dengan dendrit yang berukuran pendek dan tebal (Eroschenko, 2008).

Neuron memiliki kemampuan untuk merespon stimuli berupa impuls listrik. Signal tersebut dapat ditransmisikan hanya dalam beberapa milisekon saja dalam melewati jalur yang sangat panjang antara sistem saraf pusat dengan organ lain di tubuh. Apabila diamati secara makroskopis dan mikroskopis, saraf pusat terdiri dari substansia alba dan grisea. Substansia alba terdiri dari akson yang bermielin, sedangkan substansia grisea terdiri dari perikarion dan dendrit. Substansia grisea terletak di bagian luar lapisan serebrum, sedangkan substansia alba berada di bagian dalam lapisan serebrum (Brodal, 2010).

Secara mikroskopis dengan pengecatan H&E neuron motorik normal (sel piramid), seperti pada nampak gambar 2.7, memiliki perikarion yang merupakan bagian yang mengandung nukleus dan sitoplasma. Nukleus neuron berukuran besar di tengah, bulat atau lonjong, dan berwarna terang (eukromatik) (Junqueira dan Carneiro, 2007), serta di dalamnya terdapat nukleolus yang prominen (Bloom dan Fawcett, 2002). Warna terang pada nukleus karena persebaran kromatin yang merata (Eroschenko, 2008). Sitoplasmanya mengandung organela, badan *Nissl*, dan unsur filamen dari sitoskeleton (mikrotubul, neurofilamen, dan mikrofilamen) (Bloom dan Fawcett, 2002).



Gambar 2.7 Neuron Motorik atau Piramid Korteks Serebri (Seidman, 2011)

Aktifitas metabolisme yang tinggi dari neuron ditandai dengan banyaknya mitokondria pada sitoplasmanya. Selain itu, di dalam perikarion juga mengandung *free* ribosom, retikulum endoplasma kasar (rER) untuk sintesis protein, dan badan Golgi yang berfungsi untuk memodifikasi protein dan dikeluarkan ke membran sel. Protein permukaan ini memiliki peran yang esensial, yaitu sebagai kanal ion atau reseptor dari neurotransmiter. Selain itu badan Golgi juga berfungsi untuk membentuk lisosom dan membentuk membran dari vesikel sinaps. rER dan mitokondria dapat dijumpai pula dalam dendrit, namun rER tidak terdapat pada *axon hillock,* sedangkan mitokondria terbanyak terdapat pada *axon hillock*. Apabila dilihat dari mikrograf elektron, badan *Nissl* sebenarnya merupakan sisterna rER yang tersusun teratur secara pararel, yang tampak sebagai bentukan berwarna hitam di sitoplasma (Bloom dan Fawcett, 2002).

Untuk menyalurkan impuls saraf, satu neuron dengan neuron yang lainnya dihubungkan oleh area kontak khusus yang disebut sinaps (Brodal, 2010). Terdapat dua macam sinaps, yaitu sinaps listrik dan sinaps kimia. Sinaps

kimia lebih banyak dan lebih umum dibandingkan sinaps listrik. Neuron presinaptik yang terstimulasi akan mengeluarkan neurostransmiternya lalu akan berikatan dengan reseptor yang berada di membran neuron postsinaptik. Setelah itu akan terjadi reaksi pada neuron postsinaptik tergantung dari jenis neurotrasmiter dan reseptornya untuk menyalurkan impuls saraf tersebut, baik eksitasi maupun inhibisi (Bloom dan Fawcett, 2002).

Sel glia menempati lebih dari setengah bagian otak. Sel glia otak terdiri dari oligodendrosit, astrosit, sel ependim, dan mikroglia. Oligodendrosit memiliki peran dalam memproduksi selubung myelin untuk insulator listrik. Astrosit adalah sel glia terbanyak dan berbentuk bintang yang terdiri dari 2 tipe, yaitu fibrosa dan protoplasma. Astrosit berfungsi untuk menyangga struktur neuron, menjaga lingkungan ion dan kimia sekitar neuron, membantu proses pemulihan setelah kerusakan, membentuk *blood-brain barrier* (BBB), mengabsorbsi kelebihan neurotransmiter, dan membebaskan molekul metabolik dan neuroaktif. Sel ependim merupakan sel epitel pipih selapis yang melapisi ventrikel otak dan berfungsi untuk menghasilkan cairan serebrospinal. Mikroglia adalah sel kecil dengan cabang pendek yang bersifat fagositik, berperan dalam reaksi peradangan, dan perbaikan pada sistem saraf pusat orang dewasa (Junqueira dan Carneiro, 2007).

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 penurunan neurologis fokal maupun global. Penurunan fungsi neurologis merupakan gejala yang muncul akibat gangguan di daerah yang terlokalisir dan dapat diidentifikasi. Gejala neurologis fokal meliputi gangguan motorik, berbicara, sensorik, visual, vestibular, dan gangguan kognitif. Sedangkan gangguan neurologis global atau non fokal tidak selalu berkaitan dengan insiden stroke (Gofir, 2009). Macam-macam gejala ini akan dijelaskan pada tabel 2.1 di bawah ini.

Tabel 2.1 Gangguan Neurologis Fokal dan Global akibat Stroke

Gejala neurologis fokal	Gejala neurologis global
Gejala motorik • Kelemahan tubuh satu sisi (hemiparesis, monoparesis, atau mengenai tangan saja) • Kelumpuhan kedua sisi (simultan) • Gangguan menelan • Gangguan Keseimbangan Tubuh Gangguan berbicara dan bahasa • Kesulitan pemahaman atau ekspresi berbahasa • Kesulitan membaca (*dyslexia*) atau menulis • Kesulitan menghitung Gejala sensorik • Perubahan kemampuan sensorik tubuh satu sisi (keseluruhan atau sebagian) Gejala visual • Gangguan penglihatan • Pandangan ganda Gejala vestibular • Vertigo Gejala Kognitif • Gangguan memori • Gangguan aktivitas sehari-hari	• Kelumpuhan seluruh tubuh dan atau gangguan sensorik • *Light headedness* • Pingsan • *Blackouts* dengan gangguan kesadaran • Inkontinensia urin maupun feses • Bingung • Tinnitus

(Gofir, 2009, 20-21)

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 (Sjahrir, 2003). Etiologi dari stroke iskemik dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok besar, yaitu permasalahan pada pembuluh darah, darah, dan jantung (Dongoran, 2007). Macam-macam etiologi stroke iskemik disebutkan pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Etiologi Stroke Iskemik

Kelainan Pembuluh Darah	**Kelainan Jantung**	**Kelainan Darah**
Aterosklerosis	Trombus mural	Trombositosis
Displasia fibromuskuler	Penyakit jantung rematik	Polisitemia
Gangguan inflamasi - Arteritis sel giant - SLE - Polyarteritis nodosa - Granulomatous angiitis - Syphilitic arteritis - AIDS	Aritmia - Atrial fibrillation - Sinoatrial disorder	Penyakit sickle cell
Diseksi srteri karotis atau vertebralis	Endokarditis	Leukositosis
Infark lakuner	Mitral Valve Prolaps (MVP)	Status hiperkoagulasi
Drug abuse	Paradoxic embolus	
Migrain	Atrial myxoma	
Sidrom moyamoya	Prosthetic heart valves	
Trombosis sinus atau vena	Acute Myocard Infarct	

(Dongoran, 2007)

AMI dan *atrial fibrillation* (AF) dapat berkembang menjadi stroke karena adanya embolus dari jantung yang lepas ke peredarah 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 AF dan 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 genetik

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 perdarahan 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 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 peningkatan aliran darah kolateral (*luxury perfusion area*) (Sjahrir, 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 (Sjahrir, 2003):

Tahap 1 :

a. Penurunan aliran darah
b. Pengurangan O_2
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

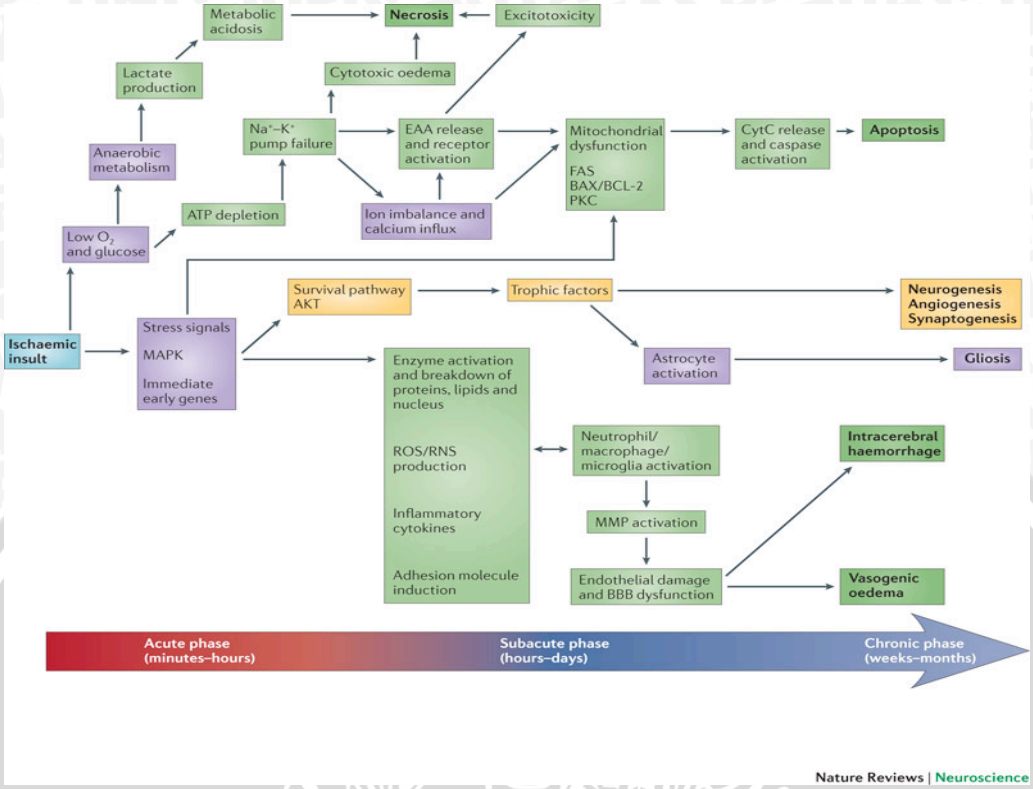
Setelah otak mengalami kekurangan oksigen dan glukosa, sel otak akan mengalami gangguan metabolisme seluler karena gangguan pada produksi energi. Pada percobaan dengan tikus, otak mengalami perubahan respon metabolik terhadap gangguan hemodinamik secara bertahap yang disebut *critical level* berdasarkan 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 supali darah hanya sebesar 30% dari normal, maka akan terjadi pengurangan produksi ATP, defisit energi, gangguan transport aktif ion, instabilitas membran sel, dan pelepasan neurotransmiter 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 Neuron Otak setelah Stroke Iskemik

Secara umum patofisiologi seluler yang terjadi setelah stroke iskemik diilustrasikan pada gambar 2.8. Penjelasan secara detail adalah sebagai berikut. 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. Ketika otak mengalami hipoksia, produksi *adenosine triphosphate* (ATP) dari glukosa oleh mitokondria berhenti dan cadangan ATP intraseluer habis dalam 2 menit setelah iskemik (Atri *et al.,* 2009).

Stroke iskemik akan menyebabkan gangguan gradien ion pada membran neuron, yang disebabkan oleh gangguan pada Na^+/K^+-ATPase. Peristiwa ini menyebabkan terjadinya *influx* Na^+, Cl^-, dan air serta *efflux* dari K^+ secara berlebihan, sehingga terjadi depolarisasi membran sel neuron (Bano, *et al.,* 2005). Otak juga dapat mengalami edema karena masuknya ion Na^+, Cl^-, dan air ke dalam sel secara berlebihan. Masuknya air dapat menyebabkan edema sitotoksik. Pada gambaran CT Scan, edema otak akan tampak sebagai daerah hipodensitas (Atri *et al.,* 2009).



Gambar 2.8 Patofisiologi Seluler Neuron Otak setelah Stroke Iskemik Secara Umum (Yenari dan Han, 2012)

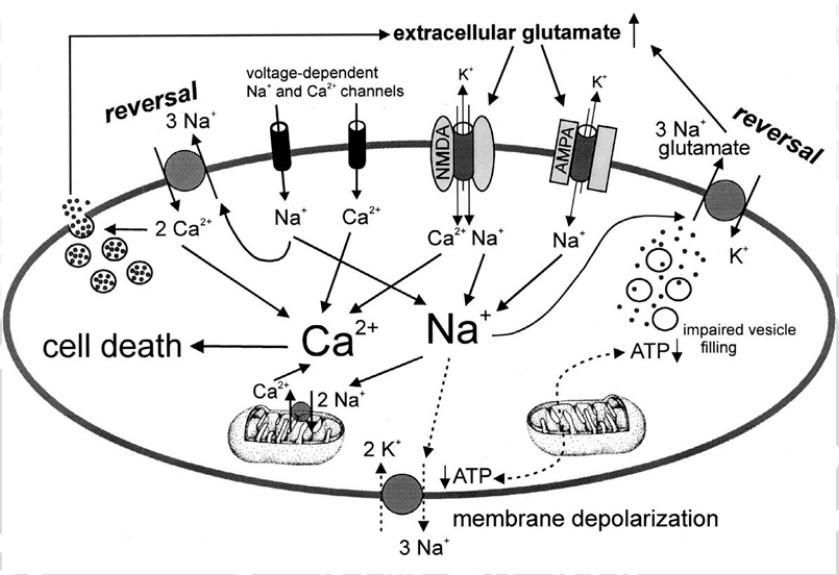
Setelah mengalami keadaan iskemik, sel neuron otak akan mengalami kerusakan seluler baik melalui mekanisme nekrosis maupun apoptosis. Peristiwa nekrosis terjadi ketika mitokondria kehilangan potensial membrannya. Keadaan ini akan menyebabkan terjadinya pembengkakan dan kolapsnya membran dalam dan luar mitokondria, sehingga fosforilasi oksidatif tidak terjadi (Bornstein, 2009). Membran mitokondria juga akan mengalami peningkatan permeabilitas sehingga sitokrom c akan keluar ke sitoplasma. Sitokrom c akan mengaktifkan kaskade *cysteine-dependent aspartate-directed proteases* (caspase) yang akan menyebabkan sel mengalami apoptosis dan nekrosis (Karch *et al.,* 2013).

2.2.5.1 Mekanisme Nekrosis Neuron

Salah satu proses patologi nekrosis adalah eksitotoksisitas, di mana kerusakan neuron terjadi akibat reaksi berlebihan dari reseptor neurotransmitter eksitatorik glutamat (Lo *et al.*, 2005). Pada awalnya, kegagalan energi akibat proses iskemik akan menyebabkan depolarisasi membran. Hal ini akan menyebabkan konsentrasi glutamat di celah sinaps meningkat 20 kali lipat. Dalam keadaan normal, glutamat akan cepat dibersihkan dari celah sinaps dan konsentrasinya akan kembali normal. Namun dalam keadaan iskemik, glutamat tidak bisa segera dibersihkan dari sinaps (Atri *et al.,* 2009). Selanjutnya glutamat dapat berikatan dengan reseptornya, yaitu *N-Methyl-D-aspartate* (NMDA), *α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid* (AMPA), dan *kainate acid* (KA) (Szydlowska dan Tymianski, 2010).

Kelebihan K^+ di ekstraseluler, akibat kegagalan energi, akan mengaktifkan kanal Ca^{2+}, sehingga akan meningkatkan kadar *free cytosolic* Ca^{2+} (Bano, *et al.,* 2005). Keberadaan ion Ca^{2+} yang berlebihan dalam sel akan menyebabkan kematian dari sel tersebut. Tingginya konsentrasi glutamat juga memiliki efek serupa. Sehingga glutamat juga berperan dalam kematian neuron setelah stroke iskemik, yang diilustrasikan pada gambar 2.9. Glutamat akan berikatan reseptor NMDA dan akan membuka *voltage-gated calcium-channel.* Hal ini akan menyebabkan *influx* ion Ca^{2+}. Reseptor NMDA yang berperan dalam proses ini adalah reseptor subunit NR2C dan NR2D (Lynch dan Guttmann, 2002). Pada keadaan iskemik, terjadi depolarisasi yang akan menyebabkan terbukanya saluran tersebut dan ion Ca^{2+} masuk secara berlebihan ke dalam sel. Selain mekanisme ini, kerusakan akibat iskemik yang terjadi pada mitokondria dan retikulum endoplasma, juga berperan dalam meningkatkan konsentasi Ca^{2+}

dalam sitoplasma (Szydlowska dan Tymianski, 2010).

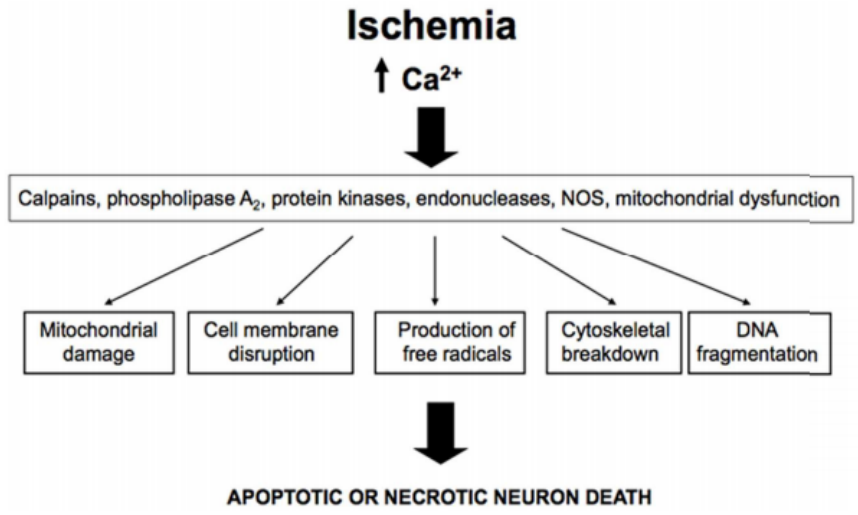


Gambar 2.9 Peran Glutamat dalam Kematian Neuron setelah Stroke Iskemik (Lee *et al.,* 2012)

Transportasi glutamat juga diperankan oleh astrosit. Pada keadaan stroke iskemik, tidak hanya neuron, integritas astrosit juga turut terganggu. Hal ini dikarenakan astrosit juga mengekspresikan reseptor glutamat. Depolarisasi pada membran 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, di mana 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).

Tingginya kadar Ca^{2+} dalam sitoplasma akan menyebabkan *overload* Ca^{2+} dalam mitokondria. Keadaan ini menyebabkan penghambatan produksi ATP, rusaknya membran fosfolipid, protein, dan asam nukleat melalui Ca^{2+}

dependent phospholipase, protease, dan *endonuclease* (Nakka *et al.,* 2008). Sehingga Ca^{2+} memegang peranan penting dalam kematian neuron yang diilustrasikan pada gambar 2.10.



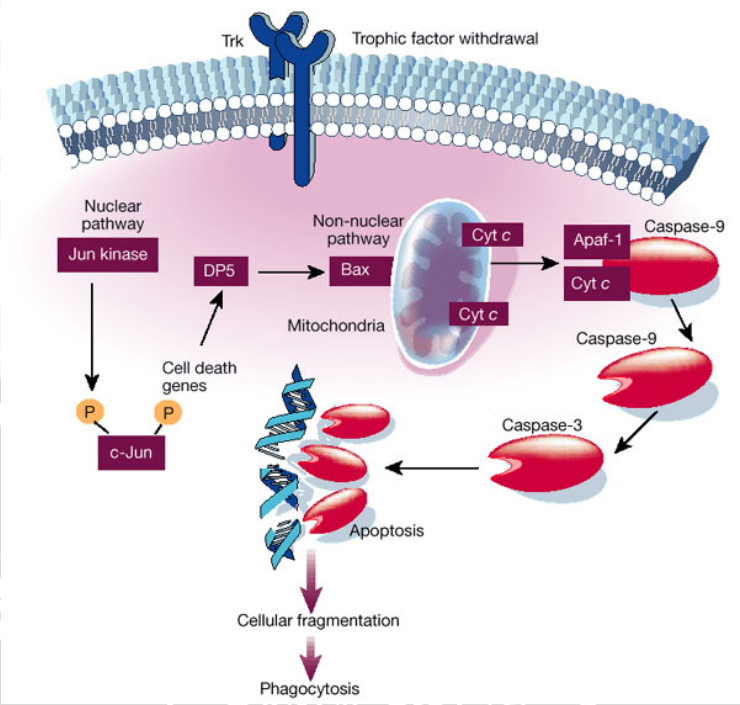
Gambar 2.10 Efek Tingginya Akumulasi Ion Ca^{2+} di Neuron setelah Stroke Iskemik (Breton dan Rodriguez, 2012)

Dalam keadaan hipoksia, kadar oksigen akan sangat berkurang. Hal ini akan berujung pada metabolisme anaerob yang akan menghasilkan ATP dan asam laktat. ATP yang dibentuk pada metabolisme anaerob hanya sedikit. Selain itu juga terjadi penumpukan asam laktat yang akan mengakibatkan asidosis laktat (Dongoran, 2007). Aktivasi dari Ca^{2+} *permeable acid-sensing ion channels* (ASICS) juga turut bertanggung jawab terhadap asidosis dalam sel. Keadaan asidosis bersama dengan eksitotoksisitas akan menyebabkan neuron mengalami nekrosis (Xiong, 2006).

2.2.5.2 Mekanisme Apoptosis Neuron

Peristiwa apoptosis ditandai dengan mengkerutnya sel, hancurnya DNA dalam nukleus, dan kondensasi kromatin dalam nukelus (Mohr, 2004). Proses

apoptosis mamalia tergantung pada aktivitas caspase (Bornstein, 2009). Apoptosis secara lebih rinci dapat dijelaskan melalui mekanisme *mitochondria-mediated apoptosis, endoplasmic reticulum-mediated apoptosis,* dan *caspase-independent apoptosis.* Mekanisme *mitochondria-mediated apoptosis*, seperti tampak pada gambar 2.11, melibatkan aktivitas protein *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2). Kelompok protein Bcl-2 dapat dibagi menjadi protein anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-xl, dan Bcl-w) dan pro-apoptotik (Bax, Bak, dan Bad). Ca^{2+} akan memicu translokasi Bax ke membran mitokondria. Bax akan menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran mitokondria dan terbukanya *mitochondrial permeability transition pore* (MPTP). Terbukanya MPTP akan meningkatkan pelepasan sitokrom c, procaspase-9, dan *apoptotic protease activating factor-1* (Apaf-1) dari ruang antar membran mitokondria (Nakka, 2008). Selanjutnya sitokrom c akan mengaktifkan kaskade caspase-3 dan caspase-9 (Lo *et al.,* 2003) yang akan menyebabkan sel mengalami kematian (Bornstein, 2009). Selain mekanisme tersbut, tidak aktifnya kanal K^+ pada membran mitokondria akan menyebabkan penurunan ekspresi Bcl-2 pada mitokondria dan sekaligus meningkatkan translokasi Bax (Dongoran, 2007).



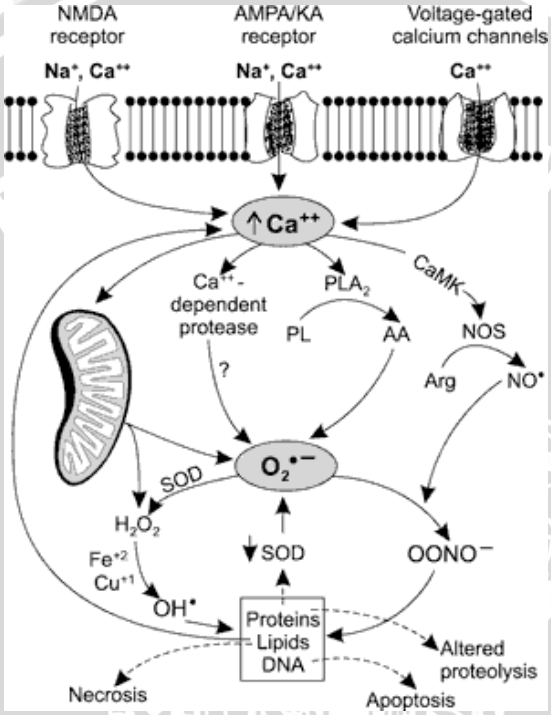
Gambar 2.11 *Mitochondria-mediated Apoptosis* (Yuan dan Yankner, 2000)

Endoplasmic reticulum-mediated apoptosis terjadi karena kurangnya glukosa akibat proses iskemik otak. *Endoplasmic reticulum* (ER) akan memulai *unfolded protein response* (UPR). Selama UPR, protein transmembran efektor ER akan teraktivasi dan selanjutnya akan diikuti dengan aktivasi caspase 12 yang akan mengakibatkan apoptosis (Nakka, 2008). Mekanisme ketiga dinamakan *caspase-independent apoptosis,* karena mekanisme apoptosis ini disebabkan oleh pelepasan *apoptosis-inducing factor* (AIF) dari membran dalam mitokondria. Selanjutnya AIF akan menyebabkan kondensasi kromatin dan fragmentasi DNA (Bornstein, 2009).

2.2.5.3 Stres Oksidatif

Stress oksidatif juga turut menyebabkan kematian sel. Mekanisme ini diperantarai oleh ion Ca^{2+} yang memiliki kemampuan untuk mengaktifkan berbagai enzim degradatif, yaitu *calpain protease*, *phospholipase*, dan enzim

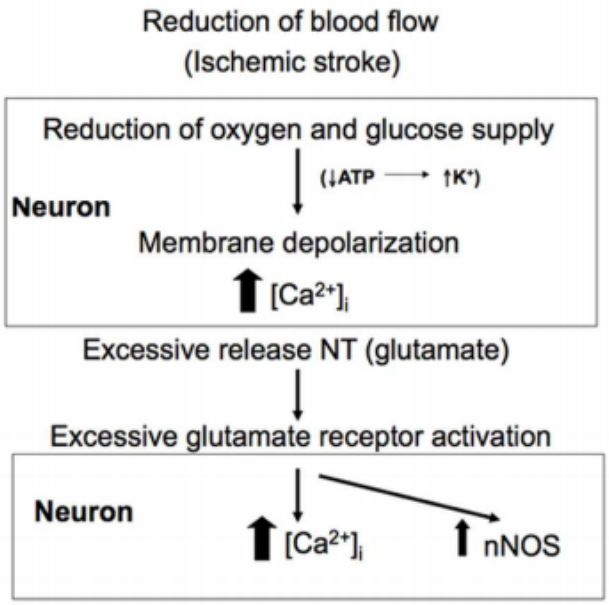
pembentuk *reactive oxygen species* (ROS), seperti tampak pada gambar 2.12. ROS dapat menyebabkan kerusakan membran melalui peroksidasi *unsaturated fatty acid* (UFA) pada lapisan fosfolipid yang menyusun membran sel (Starkov *et al.,* 2004).



Gambar 2.12 Pengaruh Ca^{2+} terhadap Radikal Bebas (Hayashi *et al.,* 2005)

Radikal bebas yang penting dalam proses kerusakan neuron adalah *nitric oxyde* (NO^-), *superoxide* (O_2^-), *hydrogen peroxide* (H_2O_2) dan *hydroxyl* (-OH) (Nakka, 2008). Peningkatan Ca^{2+} dalam sel disebabkan oleh adanya depolarisasi membran. Keadaan ini akan menstimulasi enzim *neuronal nitric oxide syntase* (nNOS), seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.13, dan yang kemudian akan menghasilkan NO^-. Apabila NO^- berikatan dengan O_2^- akan terbentuk peroksinitrit ($ONOO^-$) yang merupakan oksidan yang poten. $ONOO^-$ ditengarai dapat merusak struktur lipid, protein, DNA sel, dan menyebabkan apoptosis. Di sisi lain, NO^- yang dihasilkan oleh *endothelial nitric oxide syntase* (eNOS) memiliki sifat

protektif dengan cara menurunkan agregasi trombosit, mencegah adesi leukosit, dan meningkatkan vasodilatasi (Dongoran, 2007).



Gambar 2.13 Aktivasi nNOS Akibat Peningkatan Glutamat Ekstraseluler (Breton dan Rodriguez, 2012)

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan neuron apabila terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan endogen (*superoxide dismutase*, *glutathione peroxidase, catalase,* dan vitamin antioksidan) dalam tubuh. Keadaan ini diperparah dengan adanya reperfusi jaringan yang akan juga menimbulkan efek membahayakan dari keberadaan ROS. Selain itu, keadaan stres oksidatif juga akan dapat merusak mitokondria (Yamamoto *et al.,* 2002) dan retikulum endoplasma (Hayashi *et al.*, 2005).

Phospolipase A2 (PLA2), yang turut teraktivasi oleh keberadaan Ca^{2+}, akan menyebabkan hidrolisis membran fosfolipid dan menyebabkan pelepasan asam arakidonat (AA), yang selanjutnya akan menghasilkan prostaglandin dan leukotrien. Gabungan antara peristiwa ini dengan pembentukan ROS turut

berkontribusi dalam pembentukan *lipid peroxide* yang akan didegradasi menjadi produk aldehid (*malondialdehyde*, *4-hydroxynonenal*, dan *acrolein*). Produk aldehide ini akan berikatan kovalen dengan asam nukleat dan menyebabkan kerusakan seluler (Muralikrishna dan Hatcher, 2006).

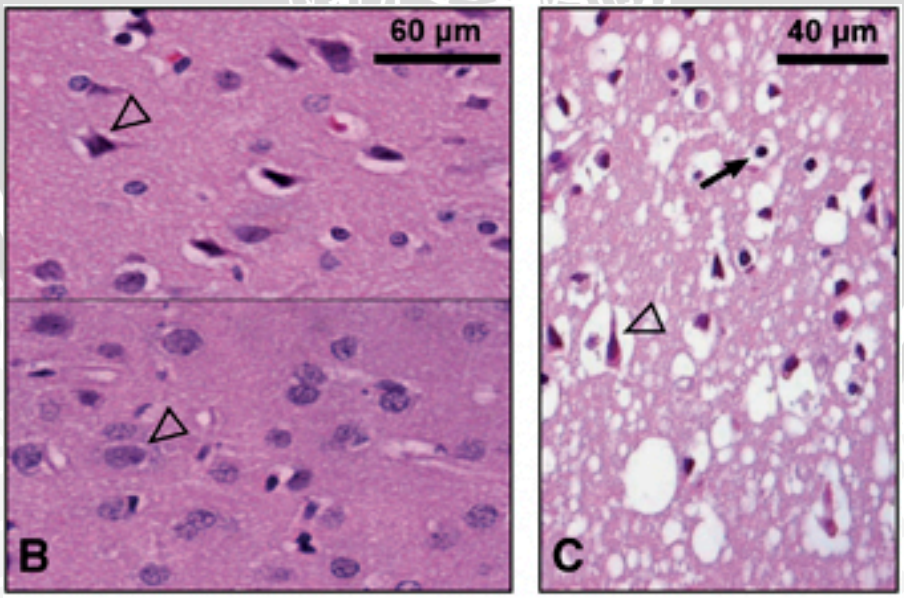
2.2.5.4 Inflamasi

Mekanisme terakhir yang turut berperan dalam kerusakan sel setelah iskemik adalah inflamasi. Sel neuron yang mengalami iskemik akan mengaktifkan gen proinflamasi, seperti NF-κB dan IL-1β. Gen ini akan meningkatkan produksi *platelet activating factor* (PAF) dan *tumor necrosis factor* (TNF) yang akan menginisiasi kaskade yang meningkatkan ekspresi molekul adesi di pembuluh darah. Akibatnya, leukosit, neutrofil, makrofag, dan monosit akan banyak terkumpul di mikrosirkulasi dan membentuk sumbatan. Selain itu, proses inflamasi ini juga akan meningkatkan enzim toksik seperti NOS (Alzheimer, 2002). Sel-sel radang yang tiba ke daerah iskemik juga akan mengaktifkan *inducible nitric oxide syntase* (iNOS) yang pada akhirnya juga akan menghasilkan $ONOO^-$ bila berikatan dengan O_2^- (Dongoran, 2007).

2.2.6 Morfologi Neuron Rusak

Seluruh perubahan pada tingkat seluler yang terjadi setelah stroke iskemik merupakan suatu mekanisme, di mana nantinya mekanisme itu akan menuju kepada kematian neuron. Neuron yang mengalami kerusakan setelah stroke iskemik, apabila dilihat di bawah mikroskop akan sangat berbeda morfologinya dibandingkan dengan neuron yang sehat. Neuron motorik yang sehat memperlihatkan gambaran sel saraf yang berbentuk bintang atau piramid dengan nukleus yang besar dan eukromatin (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Sel saraf yang mengalami kerusakan akibat stroke iskemik memiliki berbagai perbedaan dengan sel saraf yang normal, sehingga dapat dibedakan apabila diamati di bawah mikroskop. Sel saraf yang mengalami degenerasi akut setelah dilakukan *middle cerebral artery occlution* (MCAO) lalu dilakukan dengan metode pengecatan H&E, seperti yang nampak pada gambar 2.14, memperlihatkan gambaran klasik berupa *eosinophilic neurons* atau *red dead neurons*. Karakteristik dari gambaran klasik ditandai dengan perikarion yang mengalami pengkerutan, nukleus mengalami piknosis dan tampak berwarna gelap, dan *eosinophilic cytoplasm* yaitu sitoplasma menjadi berwarna merah dengan pengecatan (Gambar 2.14 B panah atas). Sedangkan pada gambar 2.14 B (panah bawah) adalah gambaran sel neuron yang normal. Perubahan-perubahan tersebut seringkali disertai dengan adanya vakuolisasi di jaringan sekitar akibat rusaknya neuron (Gambar 2.14 C panah segitiga) (Zille *et al.,* 2012).



Gambar 2.14 Morfologi Sel Neuron yang Rusak setelah MCAO (Zille *et al.,* 2012)

Apoptosis yang disebabkan oleh seluruh mekanisme yang terlibat dalam patofisiologi seluler dapat menimbulkan berbagai perubahan morfologi sel saraf. Selama proses awal apoptosis, sel akan mengalami pengkerutan sehingga ukurannya akan tampak lebih kecil dari ukuran sel neuron normal. Mengecilnya ukuran neuron tersebut akan menyebabkan adanya jarak antara neuron yang mengalami apoptosis dengan jaringan ikat di sekitarnya, yang pada pengamatan di mikroskop akan tampak adanya daerah berwarna putih yang disebut vakuolisasi. Sitoplasma dan organela-organela dalam neuron akan mengalami pemadatan. Sehingga pada gambaran mikroskopis dengan metode pengecatan H&E akan tampak gambaran *eosinophilic cytoplasm,* di mana sitoplasma tampak berwarna merah gelap. Sedangkan nukleus yang pada keadaan normal tampak berwarna jernih, akan mengalami piknosis yang merupakan hasil dari kondensasi kromatin akibat berbagai kerusakan dalam sel. Bila diamati morfologinya, neuron yang rusak akan menunjukkan mengecilnya ukuran neuron, adanya daerah berwarna putih di sekitar neuron, sitoplasma akan tampak berwarna gelap, dan nukleus akan berwarna keunguan serta sangat padat (Elmore, 2007).

2.3 Mekanisme Pertahanan terhadap Stroke Iskemik

Selain faktor-faktor yang dapat menyebabkan kematian sel, ada pula faktor lain yang dapat melindungi dan mempertahankan sel serta mencegah kematian sel selama periode iskemik. Misalnya aktivasi reseptor glutamat, yaitu NMDA. Aktivasi reseptor NMDA (NMDAR) tidak hanya memiliki efek yang merugikan terhadap neuron, tetapi NMDAR memiliki peran penting dalam plastisitas sinaptik. Ikatan antara glutamat dan NMDAR meningkatkan Ca^{2+} *postsynaptic* dan mengaktifkan beberapa sinyal transduksi termasuk jalur ERK 1/2. Dalam sistem saraf, jalur ERK1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*)

berperan dalam mengendalikan neuroplastisitas, perkembangan saraf, dan perbaikan koneksi sinaptik. Aktivasi NMDAR pada jalur ERK1/2 tergantung pada Ca^{2+} dan membutuhkan *small GTP binding protein Ras.* Salah satu subunit dari NMDAR yaitu NR2B, baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dapat berikatan dengan RasGRF1. RasGRF1 merupakan *Ras-specific GDP/GTP exchange factor* dan aktivator Ras. RasGRF1 diekspresikan di dalam sistem saraf pusat secara selektif dan banyak terdapat pada sinaps *(*Krapivinsky *et al*., 2003*)*.

2.3.1 Regenerasi Saraf Otak

Secara umum, regenerasi diartikan sebagai penggantian dan perbaikan terhadap jaringan atau organ pada organisme yang telah rusak atau mengalami kerusakan yang parah. Regenerasi pada manusia merupakan pembentukan struktur baru untuk menggantikan struktur yang hilang atau rusak karena *injury* (*reparative regeneration*) atau hilangnya aktivitas normal (*physiological regeneration*) (Carlson, 2007). Regenerasi pada otak meliputi diferensiasi sel, kemampuan bertahan hidup (*survive*), integrasi jaringan neuronal yang sudah ada dan regenerasi akson. Regenerasi saraf otak dapat dianggap sebagai plastisitas dari sistem saraf pusat (Johansson, 2007). Pengertian plastisitas sendiri adalah kemampuan untuk beradaptasi seumur hidup terhadap perubahan, mengatasi cedera, dan mengkompensasi hilangnya fungsi dalam satu bagian otak dengan bekerja lebih keras di daerah lain (Caplan, 2007). Regenerasi otak berhubungan dengan pembentukan neuron yang disebut neurogenesis. *Neural stem cell* atau *progenitor stem cell* (NSPCs) merupakan cikal bakal terbentuknya neuron. NSPCs dapat diisolasi di berbagai area pada sistem saraf pusat (Barkho *et al*, 2006).

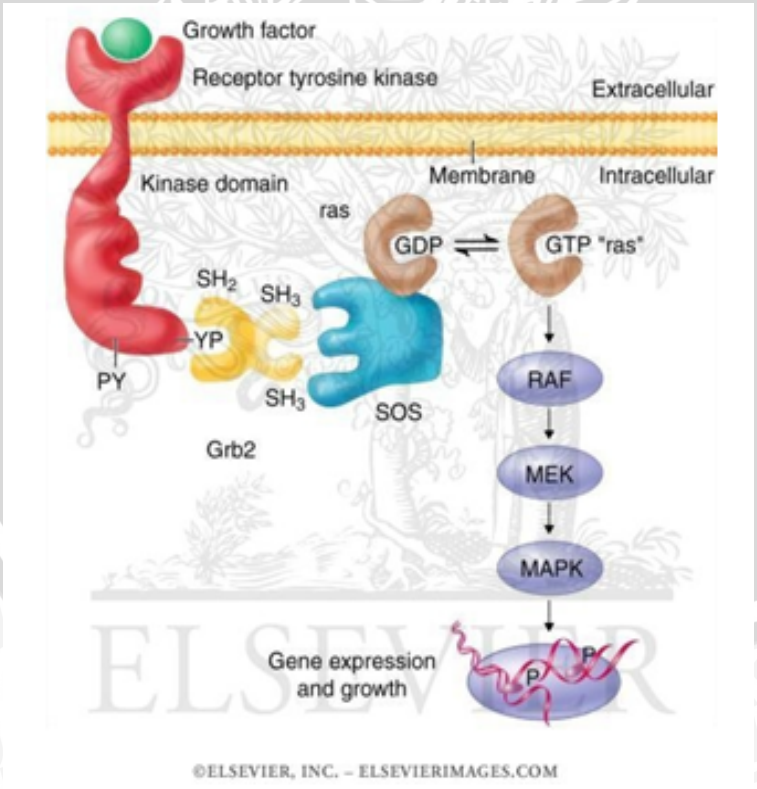
Astroglia dapat berfungsi sebagai *progenitor stem cell* (NSPCs) di daerah tertentu dari otak postnatal dan dewasa, seperti *ventricular subependymal zone* dan *subgranular zone* dari hipokampus. Hal ini menimbulkan kemungkinan bahwa astroglia yang berasal dari daerah non-neurogenik seperti korteks serebral dapat menyebabkan neurogenesis ketika diberikan isyarat transkripsi yang tepat (Heinrich *et al*., 2010).

2.3.2 Mekanisme Regenerasi pada Kerusakan Neuron

Dengan adanya keadaan *injury* setelah stroke, neuron korteks otak mengupayakan pemulihan fungsi otak melalui plastisitas (Carmichael, 2003). Secara anatomis, pada lesi otak iskemik akan terjadi *axonal sprouting* yang diinduksi oleh aktifitas neuron (Carmichael, 2003). Aktifitas neuron tersebut sangat dipengaruhi oleh aktifitas astrosit. Astrosit merupakan sel glia yang menempati 25-50% volume otak dan tidak memiliki akson, potensial aksi, dan potensial sinaptik. Astrosit memiliki peran penting dalam mendukung struktur, metabolisme neuron, aktifitas sinaptik, *neuronal antioxidant defense,* dan mengeluarkan *growth factor* yang turut membantu proses neurogenesis dan regenerasi saraf setelah stroke. Astrosit mempengaruhi kehidupan sel saraf setelah iskemik dengan ekspresi 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 neurothropic factor)*, yang memiliki peran esensial dalam mempertahankan fungsi dan keberlangsungan hidup neuron (Xue *et al.*, 2007). Proses ini diperantarai oleh induksi jalur ERK 1/2 yang dijelaskan pada gambar 2.15. NGF akan berikatan dengan reseptornya yaitu

TrkA, BDNF berikatan dengan reseptor TrkB, dan GDNF berikatan dengan reseptor GFRα (Hughes, 2012). Trk merupakan reseptor famili dari *tyrosine kinase*. Ketika faktor neutropik berikatan dengan Trk, Trk menjadi aktif (Zhang *et al*., 2012). Reseptor segera mengalami proses autofosforilasi kemudian menghasilkan fosforilasi dari subtrat 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 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 (Cavanaugh *et al.*, 2008).



Gambar 2.15 Induksi Jalur ERK1/2 (Goldman dan Ausiello, 2008)

2.4 Mekanisme Stroke pada Hewan Coba

2.4.1 Metode Induksi Stroke

Metode induksi stroke yang digunakan dalam penelitian ini adalah modifikasi dari metode *bilateral carotid artery occlusion* (BCAO). Metode induksi BCAO adalah sebuah metode induksi stroke yang melakukan ligasi pada arteri karotis komunis hewan coba secara bilateral (Ishikawa *et al*, 2003). Metode induksi tersebut dimodifikasi menjadi oklusi arteri karotis komunis secara unilateral, yang telah membuktikan bahwa secara pengikatan arteri karotis komunis unilateral saja sudah dapat menjadikan hewan coba menjadi stroke iskemik (Kitagawa, 1998). Modifikasi lainnya adalah pengikatan arteri karotis interna dan eksterna yang merupakan cabang dari arteri karotis komunis. Pengikatan pada daerah ini dilakukan karena posisinya yang lebih mendekati otak sehingga memudahkan terjadinya stroke iskemik. Waktu yang digunakan untuk meligasi arteri karotis interna dan eksterna adalah selama 45 menit (Kuraoka *et al,* 2009).

2.4.2 Mekanisme Terjadinya Stroke setelah Induksi

Metode *Unilateral Carotid Artery Occlusion* menginduksi stroke pada hewan coba dengan menghambat aliran ke darah dalam otak yang melalui arteri karotis. Pembuluh darah yang teroklusi dalam metode ini adalah arteri karotis eksterna dan interna. Arteri karotis interna memberi suplai darah kepada sebagian besar korteks otak. Arteri serebri media merupakan cabang utama dari arteri karotis komunis. Pembuluh darah ini memberi suplai darah ke bagian korteks motorik primer yang berfungsi untuk gerakan volunter pada manusia (Bradac, 2011).

2.4.3 Konfirmasi Terjadinya Stroke pada Hewan Coba

Stroke memiliki beberapa biomarker yang bisa dijadikan sebagai petanda awal dan dapat dideteksi dalam sirkulasi. Ada 5 marker yang spesifik untuk mendeteksi terjadinya stroke pada hewan coba, yaitu S-100β, *neuron growth factor-β* (NGF-β), *von Willebrand Factor* (vWF), *matriks metalloproteinase-9* (MMP-9), dan *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1). Beberapa marker ini dapat dideteksi menggunakan metode ELISA (Reynolds *et al*, 2003). Marker ini mendeteksi dengan cepat perubahan awal yang terjadi pada permulaan periode stroke.

MMP-9 adalah marker awal stroke yang dapat dideteksi menggunakan ELISA melalui serum darah hewan coba. MMP-9 muncul bersamaan dengan infiltrasi neutrofil dalam neuron otak yang mengalami iskemik. Ekspresi MMP-9 juga meningkat seiring dengan proses iskemik yang semakin meningkat 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 mengalami iskemik (Gheeyoung *et al,* 2008).

2.5 Resveratrol

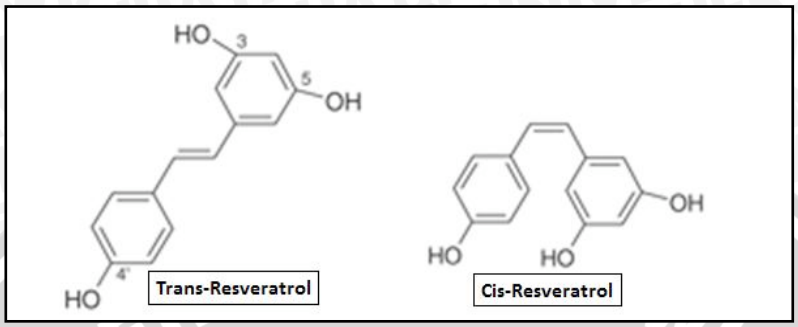
Polifenol adalah senyawa antioksidan yang banyak terdapat dalam makanan, berbagai jenis buah, sayuran, sereal, zaitun, kacang-kacangan, cokelat, dan minuman, seperti teh, kopi, dan anggur. Sebagai antioksidan, polifenol dapat melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif dan membatasi resiko berbagai penyakit 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 fenolnya. 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 pada berbagai sumber, yaitu tanaman, produk aromaterapi, dan suplemen diet. Stilbenes yang ditemukan di alam adalah sebagai stereoisomer E (cis) dan Z (trans), tergantung di mana gugus fungsionalnya melekat. Isomer E dan Z masing-masing memiliki efek farmakologis yang berbeda, di mana 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 wine. Resveratrol memiliki berbagai fungsi sebagai anti-inflamasi, anti-kanker dan agen kemoprotektif (Roupe *et al*., 2006). Resveratrol dihasilkan oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi karena patogen atau berbagai kondisi stres. Bentuk dari senyawa ini dapat berupa isomer trans atau cis, di mana sebagian besar berada dalam bentuk glikosilasi (D' Archivio *et al*., 2007). Kedua struktur isomer resveratrol dapat dilihat pada gambar 2.16. Trans-resveratrol merupakan bentuk aktif, di mana 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 (Orallo, 2006).



Gambar 2.16 Struktur Molekul Trans dan Cis Resveratrol (Cottart *et al*., 2010)

2.5.1 Bioavailabilitas dan Metabolisme Resveratrol

Bioavailabilitas resveratrol tergantung pada penyerapan dan metabolismenya. 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).

Suatu 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 intragastrik selama 15 hari. Dosis yang diberikan

sebanding dengan konsentarsi resveratrol sekitar 86 µg/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. Terdapat lima metabolit yang berbeda yang nampak dalam urin manusia, yaitu resveratrol monosulfat, dua bentuk isomer resveratrol monoglukoronida, dihidroresveratrol monosulfat dan dihidroresveratrol monoglukoronida. 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 Resveratrol terhadap Na^+/K^+-ATPase

Keadaan iskemik menyebabkan neuron otak kekurangan asupan oksigen dan glukosa. Oksigen dan glukosa tersebut berfungsi untuk pembentukan ATP dalam mitokondria. ATP yang dihasilkan memiliki banyak fungsi, salah satunya adalah pada pompa Na^+/K^+-ATPase. Apabila kekurangan asupan oksigen dan glukosa, maka ATP tidak akan terbentuk dan pompa Na^+/K^+-ATPase akan mengalami gangguan. Gangguan pada pompa ini akan menyebabkan rusaknya gradien ion pada membran sel neuron dan menyebabkan depolarisasi membran. Hal ini akan menyebabkan sel neuron menjadi edema dan rusak (Atri *et al.,* 2009).

Simao dan kawan-kawan melalukan penelitian dengan menggunakan model tikus TIA. Setelah itu dilakukan pemberian resveratrol selama 7 hari secara injeksi intraperitoneal dengan dosis 30mg/kgBB. Hasilnya, resveratrol terbukti memiliki pengaruh terhadap pompa Na^+/K^+-ATPase pada korteks otak dan hipokampus. Resveratrol mampu mengembalikan aktivitas pompa Na^+/K^+-ATPase kembali normal, sehingga fungsinya dapat kembali seperti semula (Simao *et al.,* 2011).

2.5.3 Efek Resveratrol terhadap Stres Oksidatif

Sistem saraf pusat 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 antioksidan endogen (SOD). Stress oksidatif mampu menimbulkan berbagai penyakit pada manusia termasuk penyakit neurodegeneratif. Sel-sel neuron otak memiliki kapasitas untuk memproduksi

hidrogen peroksida (H_2O_2) dalam jumlah yang besar (Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011).

Metabolisme otak yang tinggi mengakibatkan sel neuron otak juga membutuhkan ATP yang tinggi 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 yang 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 glutation 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 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).

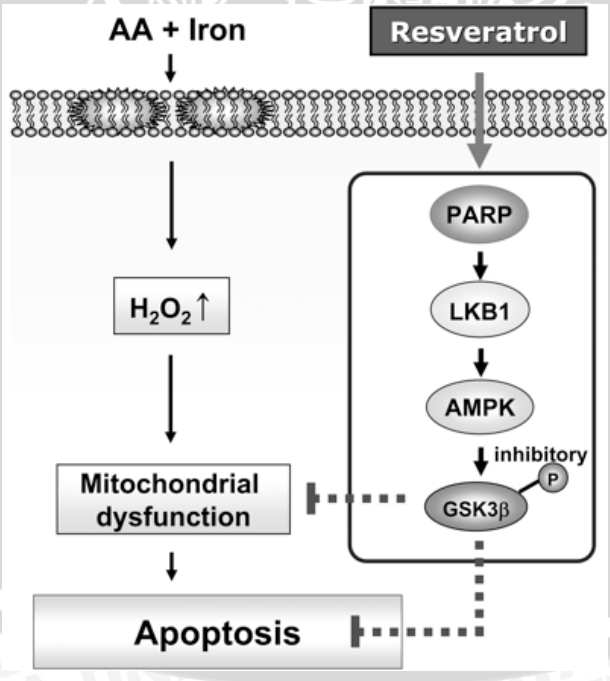
Resveratrol mampu bertindak sebagai redoks potensial dalam menurunkan stress oksidatif. Dalam sebuah studi dilakukan dua model penginduksian stress oksidatif eksogen secara in vitro: (I) konsentrasi hidrogen peroksida yang tinggi (1 nM) tetapi waktu pemaparannya pendek (30 menit/ akut), (II) konsentrasi hidrogen peroksida yang lebih rendah (0,1 mM) tetapi waktu pemaparannya panjang (6 jam). Setelah penginduksian stress oksidatif, diberikan 100 μM 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).

Liu dan kawan-kawan, melakukan penelitian dengan menggunakan hewan coba yang dibuat mengalami *spinal cord injury* (SCI). Pada keadaan setelah SCI, dilakukan pengukuran kadar SOD dan MDA. Kadar SOD mengalami penurunan, sedangkan MDA akan mengalami peningkatan akibat SCI. Selanjutnya hewan coba diberi terapi menggunakan resveratrol. Setelah pemberian resveratrol, dilakukan pengukuran ulang kadar SOD dan MDA. Ternyata resveratrol terbukti dapat meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA pada hewan model SCI (Liu *et al.,* 2011).

Resveratrol tidak hanya memiliki efek pada produk aldehid, MDA. Pada percobaan secara *in vitro* menggunakan fibroblas Swiss 3T3, resveratrol terbukti mampu menurunkan kadar 4-HNE. 4-HNE merupakan aldehid *second messenger* yang poten menyebabkan kerusakan sel. Selain itu resveratrol juga

dapat melindungi sel neuron terhadap peroksidasi lipid yang diinduksi oleh peroksinitrit dan TNFα (Kutuk *et al.,* 2004).

Resveratrol juga dikatakan mampu mengaktifkan *liver kinase B1* (LKB1), dan *AMP-activated protein kinase* (AMPK). Mekanisme ini diilustrasikan pada gambar 2.17. AMPK memiliki kemampuan untuk menjaga energi di dalam sel dan menjaga agar sel tetap bertahan hidup. Resveratrol mampu mengaktifkan enzim *poly (ADP-ribose) polymerase* (PARP) yang berakibat pada *up regulation* dari LKB1 lalu AMPK. AMPK akan menghambat *glycogen synthase kinase 3*β (GSK3β) *serine phosphorylation*. Mekanisme ini akan menggagalkan ikatan antara AA dan besi (katalis auto-oksidasi) yang dapat menyebabkan disfungsi mitokondria dan apoptosis (Shin *et al.,* 2009).



Gambar 2.17 Mekanisme Resveratrol Menghambat Disfungsi Mitokondria dan Kematian Sel Melawan Stres Oksidatif Resveratrol (Shin *et al.,* 2009)

Kemampuan resveratrol dalam melindungi sel terhadap stress oksidatif jauh melebihi kemampuan yang dimiliki vitamin C dan vitamin E. Resveratrol mampu menghambat aktivitas *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) oksidase dan menurunkan NK-κB. Penurunan NF-κB sangat berguna karena NF-κB dapat meningkatkan iNOS dan *cyclooxygenase-2* (COX-2) yang akan memperberat kerusakan sel saraf (Sun *et al.,* 2011).

2.5.4 Efek Resveratrol terhadap Astrosit dan Eksitotoksisitas Otak

Astrosit yang merupakan salah satu jenis dari sel glia memiliki peran untuk menjaga homeostasis dari sistem saraf pusat, menyediakan faktor 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 *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 antara10–250 μM terhadap astrosit pada korteks primer otak. Kultur astrosit diambil dari korteks serebral neonatus tikus Wistar. *Uptake* glutamate diukur dengan menggunakan L-[2,3-^{3}H]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).

Penelitian oleh Lee dan kawan-kawan, meneliti tentang efek resveratrol dari segi yang berbeda, terkait dengan glutamat. Glutamat memiliki banyak efek negatif terhadap sel neuron. Glutamat menyebabkan penurunan kadar *cytoplasmic glutathione peroxidase, copper/zinc* dan *manganese superoxide dismutase,* overekspresi dari Bcl-x, peningkatan kadar IL-1β dan TNFα. Penelitian ini menggunakan sel neuron korteks otak fetus tikus ICR yang dipapar dengan glutamat selama 15 menit. Pada hari ke 15-16 perkembangan embrio, diberikan resveratrol selama 24 jam. Hasilnya adalah, resveratrol terbukti mampu memberikan efek yang berlawanan dari efek negatif glutamat terhadap sel neuron. Oleh karena itu Lee dan kawan-kawan juga mengatakan bahwa resveratrol sangat dianjurkan untuk pengobatan penyakit neurodegeneratif (Lee *et al.,* 2012). Resveratrol disebutkan juga memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar Ca^{2+} intraseluler pada neuron baik presinaptik maupun postsnaptik neuron, dan menghambat faktor pro-apoptotik pada eksitotoksisitas (Moldzio *et al.,* 2013).

2.5.5 Efek Resveratrol terhadap Ca^{2+} Intrasel Neuron

Pada penelitian tikus yang diberi infus morfin, akan terjadi peningkatan ekspresi respetor NMDA, yang berperan dalam eksitotoksisitas, serta inisiasi neuroinflamasi. Setelah 5 hari pemberian infus morfin melalui kateter intratekal, pada hari ke 5 tikus diberi injeksi resveratrol dengan berbagai dosis. Sebagai hasilnya, resveratrol dapat menghambat neuroinflamasi pada tikus dan memodulasi ekspresi reseptor NMDA (Tsai *et al.,* 2012). Reseptor NMDA, apabila berikatan dengan glutamat, akan menyebabkan *influx* Ca^{2+} secara belebihan (Szydlowska dan Tymianski, 2010). Dengan adanya efek resveratrol dalam memodulasi NMDA, maka *influx* Ca^{2+} yang tidak menguntungkan ini bisa diturunkan.

Terlalu banyaknya Ca^{2+} di dalam intrasel akibat *influx* yang berlebihan dapat menyebabkan aktivasi berbagi proses seluler yang mengakibatkan kerusakan dan kematian sel neuron. Gong dan kawan-kawan melakukan penelitian secara *in vitro* dengan menggunakan kultur sel neuron korteks otak tikus. Sel neuron dibuat mengalami *oxygen glucose deprivation/reperfusion* (OGD/RP). Keadaan OGD/RP dapat menyebabkan peningkatan Ca^{2+} intraseluler. Resveratrol kemudian diberikan untuk mengetahui efeknya terhadap Ca^{2+} intrasel. Hasilnya membuktikan bahwa resveratrol secara jelas menghambat peningkatan Ca^{2+} intrasel. Keadaan ini juga tergantung pada dosis resveratrolnya. Dosis resveratrol 10.0μmol/L dapat menurunkan kadar Ca^{2+} secara signifikan apabila dibandingkan dengan resveratrol dosis 0.1 atau 1.0 μmol/L. Semua itu dapat terjadi oleh karena resveratrol dapat menghambat *influx* Ca^{2+} dengan menghambat *L-type* Ca^{2+} *channel* (Gong *et al.,* 2007).

2.5.6 Efek Resveratrol terhadap Mitokondria dan Inflamasi

Sebuah penelitian meneliti tentang penyakit Parkinson yang diinduksi dengan menggunakan *1-methyl-4-phenylpyridinium* (MPP+). Penelitian ini menggunakan terapi polifenol alam yaitu resveratrol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mebuktikan apakah resveratrol mampu menghambat kaskade apoptosis neuron yang diinduksi MPP+. Hasilnya adalah, resveratrol mampu memodulasi ekspresi protein Bax dan Bcl-2 di membran mitokondria yang berperan penting dalam mekanisme apoptosis. Evaluasi lain juga dilakukan pada pelepasan sitokrom c oleh mitokondria ke sitoplasma dan translokasi nukleus dari AIF, yang juga dapat diturunkan oleh pemberian resveratrol. Dengan menurunnya pelepasan sitokrom c, maka jalur caspase tidak akan teraktivasi. Selain itu, penghambatan pada translokasi AIF dari mitokondria juga akan turut menjaga viabilitas sel neuron terhadap apoptosis (Bournival *et al.,* 2009).

Resveratrol memiliki dikatakan efek anti-apoptotik dengan menghambat aktivasi caspase-3 dan fragmentasi DNA (Kanthasamy, 2011). Penelitian oleh Liu dan kawan-kawan juga membuktikan bahwa pengobatan dengan menggunakan resveratrol, pada tikus dengan SCI, dapat menurunkan level ekspresi dari *apoptisis-related gene*. Gen-gen yang dimaksud adalah gen-gen yang mengkode Bax, Bcl-2, dan capsase-3. Dengan menurunnya ekspresi gen yang mengkode Bax dan caspase-3, serta meningkatnya gen yang mengkode Bcl-2, resveratrol terbukti dapat memulihkan fungsi neuron dorsal tikus setelah SCI. Pada penelitian yang sama, Liu dan kawan-kawan juga menyebutkan bahwa resveratrol memiliki efek antiinflamasi. Hal ini dibuktikan dengan pemberian resveratrol mampu menekan *immunoreactivity* dan ekspresi sitokin inflamasi. Mekanisme tersebut akan menimbulkan inflamasi pada daerah

kerusakan dan mempercepat apoptosis. Ekspresi sitokin seperti IL-1β, IL-10, TNFα, dan *myeloperoxidase* (MPO) setelah SCI terbukti dapat diturunkan oleh pemberian resveratrol. (Liu *et al.,* 2011).

Pengaktifan proses inflamasi dapat meningkatkan ekspresi molekul adesi. Selanjutnya, sel-sel inflamasi akan banyak yang menempel pada molekul adesi tersebut dan menyebabkan kerusakan neuron akibat inflamasi. Resveratrol yang terkandung dalam minuman wine dapat menurunkan molekul adesi yang berada dalam sirkulasi. Molekul adesi yang dapat diturunkan kadarnya oleh resveratrol adalah *endothelial cell adhesion molecules* (ECAM)*, intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1)*,* dan *vascular adhesion molecule-1* (VCAM-1). Hal ini akan mencegah penempelan leukosit, neutrofil, makrofag, dan monosit yang turut berkontribusi dalam rusaknya sel neuron (Vidavalur *et al.,* 2006).

2.5.7 Efek Resveratrol terhadap Regenerasi Otak

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 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). Resveratrol dapat meningkatkan pelepasan faktor neurotropik (NGF, GDNF, dan BDNF) dan meningkatkan ekspresi reseptor tirosin kinase, Trk A dan TrkB

(Valderrama *et al*., 2009). Selain itu, resveratrol memiliki efek yang kuat sebagai neuroprotektif pada hewan coba yang sehat maupun hewan model stroke.

Sebuah penelitian menunjukkan bahwa pemberian resveratrol menghasilkan efek neurotropik pada neuron DA (dopamine) pada kultur primer neuron-glia otak tengah. Selanjutnya, astroglia mengeluarkan faktor neurotropik melalui stimulasi dari resveratrol. Hasil observasi yang didapatkan dalam penelitian ini adalah (1) resveratrol gagal menginduksi pengeluaran faktor neurotropik pada neuron DA dalam media kultur tanpa kehadiran astroglia, (2) kultur yang banyak mengandung astroglia menghasilkan efek neurotropik dengan pemberian resveratrol, (3) efek neurotropik dari resveratrol meningkat tergantung pada konsentrasi dan waktu, (4) efek neurotropik resveratrol menurun dengan pemberian anti-BDNF dan anti-GDNF. Temuan ini menunjukkan bahwa resveratrol dapat menghasilkan efek neurotropik melalui peginduksian pengeluaran BDNF dan GDNF oleh astroglia (Zhang *et al.,* 2012). Lebih lanjut pengeluaran faktor neutropik ini akan menginduksi jalur ERK1/2 seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

2.6 Resveratrol terhadap Morfologi Neuron

Seluruh mekanisme iskemik seluler di atas, berujung pada kematian sel secara apoptosis dan nekrosis. Sel neuron yang mengalami stroke iskemik akan mengalami perubahan morfologi sel. Karakteristik dari gambaran klasik neuron rusak ditandai dengan perikarion mengkerut, nucleus piknosis, *eosinophilic cytoplasm,* dan vakuolisasi di jaringan sekitar akibat rusaknya neuron (Zille *et al.,* 2012).

Apabila mekanisme kematian neuron dapat teratasi, maka akan terjadi perbaikan gambaran neuron otak yang rusak menjadi kembali ke gambaran

morfologi neuron yang normal. Resveratrol memiliki kemampuan meregulasi dan mengembalikan mekanisme kematian sel tersebut ke keadaan semula atau normal. Dengan begitu resveratrol mampu memperbaiki gambaran morfologi sel neuron yang rusak menjadi morfologi sel neuron yang sehat (Liu *et al.,* 2011). Kembalinya gambaran morfologi neuron ke keadaan normal, akan mengurangi jumlah neuron yang rusak di dalam otak. Apabila dilakukan pengamatan slide jaringan otak di mikroskop, maka neuron, yang memiliki gambaran morfologi neuron rusak, akan berkurang jumlahnya.

2.7 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 (Mulllins *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, Banyuwangi (Jawa Timur), Buleleng (Bali), dan Lombok (Nusa Tenggara Barat) (Balai Penelitian Tanah, 2008; Rukmana, 1999).

2.7.1 Taksonomi Anggur (*Vitis vinifera)*

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)

Ordo : Vitales

Famili : Vitaceae

Genus : Vitis L.

Spesies : *Vitis vinifera*

(ITIS, 2013)

2.7.2 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 ketinggi 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).

2.7.3 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 Lavalle, Golden Champion, dan Fragola (IPTEK, 2005). Gambar anggur (*Vitis vinifera*) jenis Fragola dapat dilihat pada gambar 2.17.

Gambar 2.17 Anggur (*Vitis vinifera*) jenis Fragola

2.7.4 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 niasin, serta bahan-bahan fenol seperti flavonoid dan resveratrol (Wiryanta, 2004). Kandungan bahan fenol seperti flavonoid (tannin dan antosianin) serta resveratrol hampir tidak ada dalam buah anggur akan tetapi terdeposisi dalam biji dan kulit anggur. Bahan fenol yang ada antara lain asam fenolat (*gentisic*, *salicyclic*, dan *gallac cyclic*) 40 μg/kg anggur (Geros *et al*., 2012), stilbenes (resveratrol) 24,06 μg/ml (Pe´rez, *et al*., 2001) dan pada ekstrak biji anggur 0,9850 μg/ml (Xiang *et al*., 2003), serta flavonoid

(*catechins*, *quecertin*, dan *anthocyanin*) 16,0 mg/kg anggur (Bunea, *et al*., 2012; Geros *et al*.,2012).