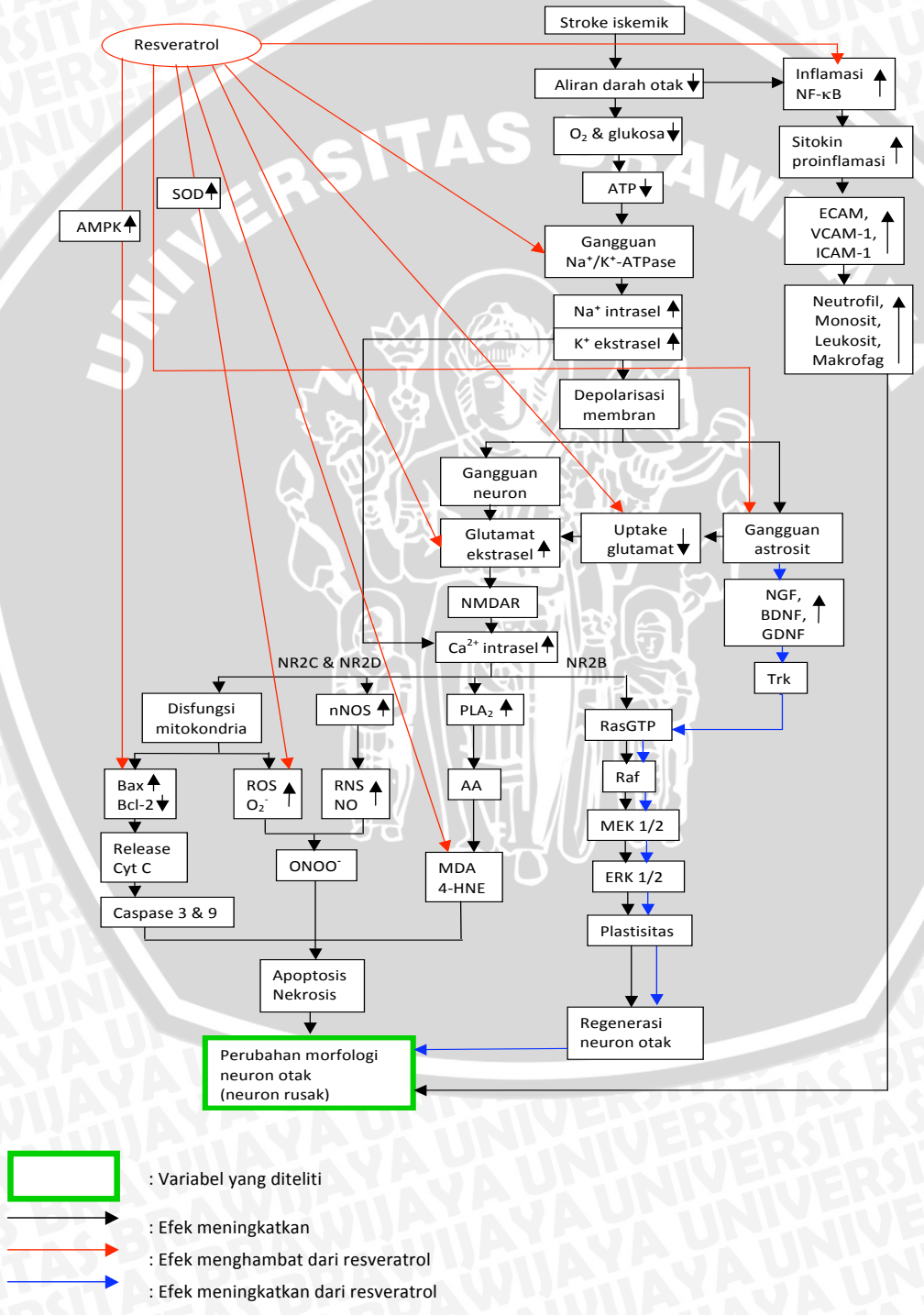
BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Dalam keadaan stroke iskemik, otak mengalami penurunan aliran darah. Dengan kurangnya aliran darah menuju otak, otak mengalami kekurangan glukosa dan oksigen yang merupakan komponen utama dalam metabolisme sel dalam otak. Dalam keadaan ini, mitokondria tidak mampu menjalankan fosforilasi oksidatif yang menghasilkan energi atau disebut juga ATP. Padahal, ATP memegang peranan penting dalam pompa Na^+/K^+-ATPase. Na^+/K^+-ATPase berfungsi untuk menjaga gradien ion pada membran sel neuron dan astrosit. Apabila Na^+/K^+-ATPase terganggu, maka Na^+ akan banyak masuk ke dalam sel, dan K^+ akan keluar dari sel. Keadaan ini menyebabkan depolarisasi membran sel neuron dan astrosit.

Depolarisasi membran sel neuron menyebabkan pelepasan glutamat menuju ekstrasel. Dalam keadaan normal, astrosit turut membantu dalam *uptake* glutamat, agar konsentrasinya di ekstrasel berkurang. Namun dalam periode stroke iskemik, astrositpun ikut mengalami gangguan, sehingga tidak mampu meng-*uptake* glutamat. Selanjutnya glutamat akan berikatan dengan reseptor NMDA. Hal ini akan menyebabkan masuknya Ca^{2+} ke dalam sel secara berlebihan. Konsentrasi K^+ yang melimpah di ekstraseluler juga turut meningkatkan masuknya Ca^{2+} ke dalam sel.

Ikatan antara glutamat dengan reseptor NMDA subunit NR2C dan NR2D, akan menyebabkan disfungsi mitokondria. Hal ini akan menyebabkan translokasi Bax dan menurunkan ekspresi Bcl-2 di membran mitokondria. Keadaan ini menyebabkan keluarnya sitokrom c dari mitokondria ke sitoplasma. Selanjutnya akan terjadi aktivasi dari caspase 3 dan 9. Kaskade caspase yang teraktivasi akan menyebabkan neuron mengalami apoptosis. Difungsi mitokondria juga akan menyebabkan pelepasan ROS (O_2^- dan H_2O_2) secar berlebihan dari

mitokondria. Keadaan Ca^{2+} yang berlebihan juga akan mengaktifkan nNOS yang kemudian akan menghasilkan RNS (NO). O_2^- dapat berikatan dengan NO^- dan membentuk $ONOO^-$. $ONOO^-$ memiliki sifat yang sangat toksik terhadap neuron.

PLA2 merupakan salah satu enzim yang teraktivasi dalam keadaan *overload* Ca^{2+} dalam sel. PLA2 akan memecah membran fosfolipid dan kemudian akan menghasilkan AA. Proses peroksidasi lipid ini akan menghasilkan senyawa aldehid (MDA dan 4-HNE). Seluruh mekanisme ini dapat menyebabkan kondensasi kromatin serta kerusakan organela dan sitoplasma. Hal ini akan menyebabkan proses nekrosis dan apoptosis dan merubah gambaran morfologi neuron dari gambaran neuron normal menjadi gambaran neuron rusak.

Keadaan iskemik juga akan membangkitkan kaskade inflamasi melalui traktivasinya NF-κB. NF-κB akan meningkatkan pelepasan sitokin-sitokin proinflamasi. Sitokin-sitokin ini kemudian akan meningkatkan ekspresi molekul adesi (ECAM, VCAM-1, dan ICAM-1). Dengan peristiwa ini, akan banyak sel-sel inflamasi yang terekrut dan akan memperparah kerusakan di otak.

Resveratrol memiliki begitu banyak manfaat dalam stroke iskemik, karena resveratrol memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi. Efek antioksidan resveratrol adalah meningkatkan kadar SOD, yang akan merubah bentuk ROS yang reaktif menjadi tidak reaktif. Sedangkan efek antiinflamasi resveratrol adalah adalah dengan menghambat peningkatan NF-κB. Dengan begitu mekanisme kematian sel akibat oksidatif stress dan inflamasi dapat diatasi oleh resveratrol. Resveratrol juga memiliki kemampuan mengaktifkan AMPK yang akan menurunkan translokasi Bax dan meningkatkan ekspresi Bcl-2 di membran mitokondria sehingga kaskade caspase tidak akan terjadi.

Resveratrol dapat mengembalikan Na^+/K^+-ATPase kembali ke keadaan normal, sehingga depolarisasi membran tidak akan terjadi. Dengan kembalinya fungsi Na^+/K^+-ATPase, fungsi astrositpun akan kembali normal, dan glutamat dapat ter *uptake.* Keadaan ini akan menurunkan konsentrasi glutamat yang berlebihan di ekstrasel.

Subunit reseptor NMDA yang lain, yaitu NR2B mampu berikatan dengan RasGRF1. RasGRF1 merupakan *Ras-specific GDP/GTP exchange factor* dan aktivator RAS. Ras-GTP menginduksi Raf isoform untuk memasuki membran plasma diikuti oleh fosforilasi dari MEK1/2 dan kemudian ERK1/2. ERK1/2 merupakan satu jalur untuk menginduksi plastisitas. Kemampuan plastisitas ini akan meregenerasi sel neuron yang mengalami kerusakan.

Dengan adanya pemberian resveratrol, juga akan merangsang kemampuan astrosit untuk mengeluarkan berbagai faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan ini akan berikatan dengan reseptor Trk dan akan turut mengaktifkan RasGTP. Jalur selanjutnya yang akan terjadi adalah jalur yang sama dengan jalur yang diaktifnya melalui reseptor NMDA subunit NR2B. Jalur ini akan meningkatkan plastisitas yang merupakan mekanisme regenerasi neuron otak.

Dengan adanya kemampuan resveratrol yang mampu memodulasi berbagai mekanisme kerusakan neuron otak, resveratrol mampu memperbaiki kerusakan-kerusakan pada neuron otak akibat stroke iskemik. Perubahan-perubahan seluler yang terjadi akibat proses apoptosis dan nekrosis, seperti pengkerutan perikarion, piknotik nukleus, eosinofilik sitoplasma, dan vakuolisasi, juga dapat diperbaiki oleh fungsi resveratrol. Hal ini akan menyebabkan kembalinya gambaran neuron rusak menjadi kembali normal.

Resveratrol merupakan komponen alami dari buah anggur (*Vitis vinifera*). yang melimpah di bagian kulit dan biji anggur, tetapi tidak di daging anggur dan terdapat juga di epidermis daun tanaman anggur, terutama anggur merah. Kadar resveratrol pada anggur cukup tinggi yaitu 0,24-1,5 gram dalam setiap 160 gram anggur merah. Hasil yang diharapkan sebagai bukti bahwa ekstrak kulit dan biji anggur (*Vitis vinifera*) dapat mengurangi jumlah neuron yang rusak yang terjadi akibat stroke iskemik.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan hasil tinjauan pustaka, hipotesis dari masalah penelitian ini adalah:

Pemberian ekstrak kulit dan biji anggur *(Vitis vinifera)* dapat meregenerasi sel saraf pusat dengan mengurangi jumlah neuron otak yang rusak pada hewan model yang diinduksi stroke iskemik.