

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Stroke

Stroke merupakan salah satu penyakit kardiovaskuler yang tidak menular yang mengenai pembuluh darah dan dapat mengganggu fungsi saraf fokal dan atau difus, terjadinya bersifat progresif, munculnya dapat mendadak dan cepat (Kemenkes, 2013). Menurut WHO 2014 stroke merupakan terjadinya sumbatan pembuluh darah. Hal ini dapat mengakibatkan terpecahnya pembuluh darah ke otak dan penghentian aliran darah ke otak. Sehingga pada akhirnya pasokan nutrisi dan oksigen ke otak menjadi berkurang dan mengalami kematian sel.

Kumar *et al.*, (2015) mengatakan bahwa stroke merupakan keadaan klinis ketika pembuluh darah mengalami oklusi atau perdarahan sehingga terjadi defisiensi oksigen dan glukosa yang dibutuhkan untuk metabolisme otak. Menurut WHO keadaan klinis yang dapat ditimbulkan akibat defisit neurologis secara fokal maupun global yang berkembang secara cepat dan berlangsung selama 24 jam atau dapat menyebabkan kematian yang disebabkan oleh masalah pembuluh darah. Stroke perdarahan salah satu jenis stroke yang disebabkan oleh perdarahan spontan pada otak selain itu terdapat stroke yang disebabkan karena suplai darah yang mengangkut oksigen yang inadkuat pada bagian otak disebut stroke iskemia (AHA, 2013).

Secara umum stroke diklasifikasikan ke dalam dua tipe, yang pertama stroke iskemia yang di sebabkan oleh thrombosis, embolisme, atau hipoperfusi sistemik dan yang selanjutnya stroke hemoragik dikarenakan *Intracerebral Hemorrhage* (ICH) atau *Subarachnoid Hemorrhage* (SAH). Trombosis pada stroke iskemik secara umum didefinisikan sebagai sumbatan lokal yang ada di dalam pembuluh darah arteri yang disebabkan karena penyakit-penyakit seperti arteriosklerosis. Stroke iskemia yang disebabkan karena embolisme diakibatkan adanya partikel debris yang dihasilkan oleh organ-organ yang mengalami metabolisme dan menyebabkan sumbatan pembuluh darah yang mengakses ke bagian tertentu pada

otak. Kedua hal tersebut bisa menyebabkan hipoperfusi sistemik dimana dapat bermanifestasi terhadap otak dan beberapa organ lainnya (Silvya, 2015).

Stroke hemoragik yang disebabkan *Intracerebral Hemorrhage* (ICH) biasanya diakibatkan oleh hipertensi, trauma, amyloid angiopati, dan karena obat-obatan khususnya amphetamine dan kokain. *Intracerebral Hemorrhage* (ICH) terjadi ketika adanya kelainan pada pembuluh darah didalam otak, yang menyebabkan darah masuk kedalam sel-sel cerebelum dan akan membeku didalam otak. Adanya peningkatan tekanan yang terjadi secara tiba-tiba di dalam otak dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel otak yang mengelilingi pembuluh darah yang bisa mengakibatkan ketidaksadaran dan bahkan kematian mendadak. Perdarahan intracerebral biasanya terjadi pada bagian ganglia basal, *cerebelum*, batang otak, atau korteks pada otak.

Penyebab terbanyak stroke adalah adanya penyumbatan yang terjadi di bagian pembuluh darah otak. Kejadian paling sering adalah stroke iskemik dibandingkan dengan stroke hemoragik. Prevalensi dari stroke iskemik mencapai 80% sampai 85% dari seluruh kejadian stroke, sedangkan stroke yang disebabkan karena perdarahan hanya mencapai 20% dari keseluruhan kejadian stroke. (Silvya, 2015). Tempat tersering yang terkena sumbatan tersebut berada pada arteri karotis interna khususnya pada bagian pangkalnya dimana pembuluh darah tersebut merupakan arteri pensuplai oksigen kedalam otak. Jika terdapat sumbatan pada pembuluh darah arteri carotis interna akan menyebabkan kurangnya asupan oksigen dan akan mengakibatkan penurunan aliran darah ke otak. Hal ini yang akan berefek pada kematian sel-sel di otak.

Secara normal otak membutuhkan 500 cc oksigen dan 75-100 mg glukosa tiap menitnya dan terdapat aliran darah sebanyak 50 mL/ menit untuk setiap 100 gram otak agar dapat memenuhi kebutuhan otak akan oksigen dan glukosa. Iskemik terjadi apabila aliran darah menurun hingga 20 mL/ menit dan jika dibiarkan terus aliran darah akan mengalami penurunan hingga 10 mL/menit mengakibatkan terjadinya infark atau kematian permanen dari sel-sel otak. Pada keadaan tersumbat otak akan mengalami keadaan kekurangan oksigen atau yang biasa disebut hipoksia

dimana hal tersebut akan mengakibatkan produksi molekul oksigen tanpa pasangan elektron (disebut *oxygen free radicals*). Radikal bebas ini bersifat toksik dikarenakan dapat mengoksidasi asam lemak dalam organel sel dan plasma sel yang mengakibatkan disfungsi sel. Pada keadaan hipoksia terdapat proses yang menghasilkan laktat yang berperan toksik bagi tubuh yang disebut glikolisis anaerob sehingga terjadi penumpukan laktat. Hal ini dapat berefek terganggunya fungsi metabolisme saraf (Dongoran, 2017).

Stroke dan Kerusakan Sel

Reperfusi pada jaringan iskemia juga akan menghasilkan pembentukan ROS, termasuk *superoxide anions* (O_2^-), *hydroxyl radicals* (OH^- , $HOCl$ (*hypochlorous acid*), H_2O_2) dan *nitric oxide-derived peroxynitrite*. Pada keadaan hipoksia akan mengakibatkan berkurangnya enzim yang disebut xanthine oxidase. Enzim ini berperan dalam katalisator konversi hipoxanthine menjadi xanthine. Oleh karena itu dalam keadaan iskemik terjadi penumpukan hipoxanthine dalam jaringan. Jika oksigen disediakan kembali selama keadaan reperfusi, mengakibatkan tumpukan hipoxanthine yang berlebihan akan dikonversi menjadi xanthine oleh xanthine oxidase yang akan menghasilkan ROS (Charles *et al.*, 2011)

ROS dapat menyebabkan kerusakan membran sel melalui peroksidase lipid. Selain itu, ROS juga akan menstimulasi aktivasi leukosit dan kemotaksis melalui aktivasi fosfolipase A_2 membran plasma untuk membentuk asam arakhidonat (merupakan prekursor sintesis tromboksan A_2 dan leukotrien B_4). Peningkatan aktivasi leukosit dan kemotaksis setelah iskemia-reperfusi akan menyebabkan kerusakan sel (Charles *et al.*, 2001)

Stroke dan Defisit Neurologis

Serangan stroke dapat menimbulkan defisit neurologis. Beberapa diantaranya tanda dan gejala yang timbul antara lain, hemidefisit motorik, hemidefisit sensorik, penurunan kesadaran, kelumpuhan nervus kranialis yang bersifat sentral (terutama nervus VII dan XII). Gejala lain yang dapat timbul antara lain adalah gangguan

fungsi intelektual, hemianopsia atau buta pada separuh lapang pandang, dan defisit batang otak (De Freitas *et al.*, 2009).

Gejala motorik yang paling banyak muncul pada stroke adalah kelemahan pada salah satu sisi tubuh, baik seluruhnya maupun sebagian (Hemiparesis atau monoparesis), kelemahan bilateral, kesulitan menelan dan ketidakseimbangan. Gangguan lain seperti gangguan bicara /bahasa dapat berupa kesulitan mengekspresikan ataupun memahami bahasa lisan, kesulitan dalam menulis dan membaca (diseleksia), dan kesulitan menghitung. Terdapatnya perubahan rasa pada salah satu tubuh maupun keseluruhan merupakan gejala sensorik yang sering ditimbulkan pada stroke. Jika terdapat kelumuhan pada nervus facialis (VII) dan hipoglossus (XII) yang bersifat sentral. Hal ini dapat menyebabkan gangguan dalam mengekspresikan wajah dan gangguan pada lidah (Setyopranoto, 2011)

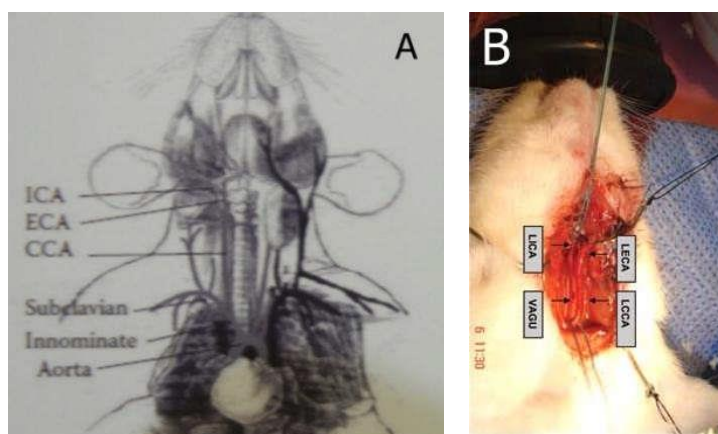
2.1.2 Bilateral Carotis Communis Artery Occlusion (BCCAO)

Otak pada tubuh manusia termasuk organ yang vital sehingga apabila ada kerusakan akan terjadi mekanisme kompensasi. Pada tubuh manusia akan terjadinya pengalihan aliran darah melalui sirkulasi kolateral atau mekanisme autoregulasi. Pada teknik BCCAO terjadi perubahan diameter pada pembuluh darah atau *vascular remodelling* yang diakibatkan dari gagalnya kompensasi tubuh secara kolateral atau terjadi hipoperfusi. Oleh karena itu pembuluh darah tersebut terpicu untuk beradaptasi dengan membentuk pembuluh darah baru yang disebut arteriogenesis (Choy, 2006)

Teknik *Bilateral Carotis Communis Artery Occlusion* (BCCAO) termasuk ke dalam *complete global cerebral ischemic*. *Complete global cerebral ischemic* adalah salah satu model stroke yang dilakukan dengan cara melakukan ligasi arteri carotis comunis bilateral. Teknik oklusi arteri carotis comunis dilakukan untuk menginduksi oklusi pada pembuluh darah yang menuju ke otak menyebabkan penurunan aliran darah ke sel-sel otak sehingga mengakibatkan kerusakan pada otak. Periode reperfusi bertujuan untu memperbaiki kerusakan otak. Selama reperfusi akan terjadi ketidakmampuan mitokondria untuk menggunakan oksigen

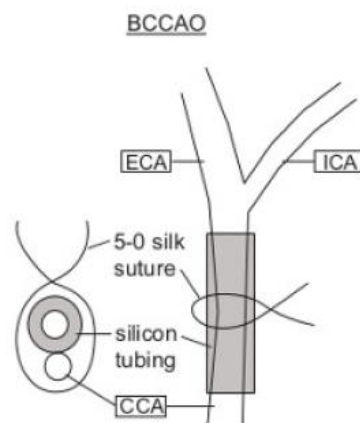
dalam transport elektron sehingga menyebabkan penurunan jumlah ATP sel, produksi *reactive oxygen species* (ROS), ekspresi dan aktivasi dari protein proapoptosi dan inisiasi proses inflamasi. Kejadian *Bilateral Carotis Communis Arteri Oklusi* (BCCAO) pada manusia memunculkan manifestasi klinis berupa stroke tetapi peristiwa ini jarang terjadi dibandingkan dengan kejadian *unilateral CCA occlusion* (CCAO) dan *bilateral ICA occlusion* (BICAO) dimana BCCAO hanya didapatkan 7 kasus dari total keseluruhan 321 kasus. Akan tetapi 5 dari 7 kasus tersebut menunjukkan gejala-gejala simptomatik dari stroke, dimana kejadian lain menunjukkan gejala *transient ishchemic attack* dan gangguan penglihatan (Lai, 2005).

Oklusi pada *bilateral carotid artery* ini sering kali digunakan pada banyak percobaan untuk menginduksi tikus menjadi model stroke. Iskemia global pada hewan percobaan atau pembuatan model stroke dapat dicapai melalui beberapa cara yaitu dengan metode oklusi 4 pembuluh darah (4VO) dan metode oklusi 2 pembuluh darah (2VO). Metode 4 VO terdiri dari oklusi reversibel arteri carotis comunis yang dikombinasikan dengan interupsi permanen dari arteri vertebralis melalui katerisasi elektro, yang menghasilkan iskemia batang otak dan kedua hemisfer otak. Metode 2VO dilakukan dengan cara oklusi kedua arteri carotis comunis secara transien. Kerusakan yang ditimbulkan dipengaruhi oleh durasi hipoperfusi (Bacigaluppi *et al.*, 2010).



Gambar 1. Anatomi leher tikus (A) Vaskularisasi daerah leher tikus *Internal Carotid Artery* : ICA , *external carotid artery* : ECA, *Common Carotid Artery* : CCA (B). left external carotid artery (LECA), left internal carotid artery (LICA), left common carotid artery (LCCA), nerves vagus VAGU (IBRC, 2013; Calloni *et al.*, 2010).

Salah satu teknik Induksi iskemia cerebral pada hewan model dengan menggunakan teknik modifikasi Koizumi. Pada pre-operation akan dilakukan adaptasi dahulu tikus terhadap lingkungan selama beberapa hari dan latihan pengukuran motorik tikus. Selama operasi tikus akan dianestesi menggunakan ketamin 0,2 ml atau eter. Tikus diletakkan di platform steril dan jaga suhu rektal tikus pada temperatur 37°C. Dimana teknik tersebut dapat kita lihat pada teknik *bilateral common carotid artery occlusion* BCCAO yang mana menyebabkan menurunnya aliran darah menuju korteks, hipokampus, thalamus dan regio striatum pada hewan coba (Van der Worp *et al.*, 2007)



Gambar 2. Ilustrasi Teknik BCCAO (Speetzen, L.J 2013)

Vander Wrop *et al* (2007) menyebutkan bahwa untuk melakukan teknik BCCAO dilakukan dengan beberapa tahapan. Pertama-tama hewan percobaan direkatkan tangan, kaki, serta ekornya dengan perekat. Permukaan leher bagian anterior dibersihkan menggunakan povidon iodine lalu diinjeksikan dengan ketamin (100mg/kg) pada area intraperitoneal pada tikus berusia 8-10 minggu. Kemudian pada area kiri dan kanan ventral regio leher di insisi secara vertikal dengan hati-hati tanpa mengganggu arteri dan saraf lainnya, begitu juga dilakukan insisi pada kelenjar ludah serta musculus sternocleidomastoideus kanan juga diinsisi dan kemudian apabila *carotid artery* telah tampak kemudian di *clamp*. Ligasi dilakukan selama 5, 10, dan 20 menit lalu dilepas. Setelah itu bekas insisi pada leher dijahit kembali dengan silk. Kemudian dilakukan reperfusi kembali setelah 15-20 menit.

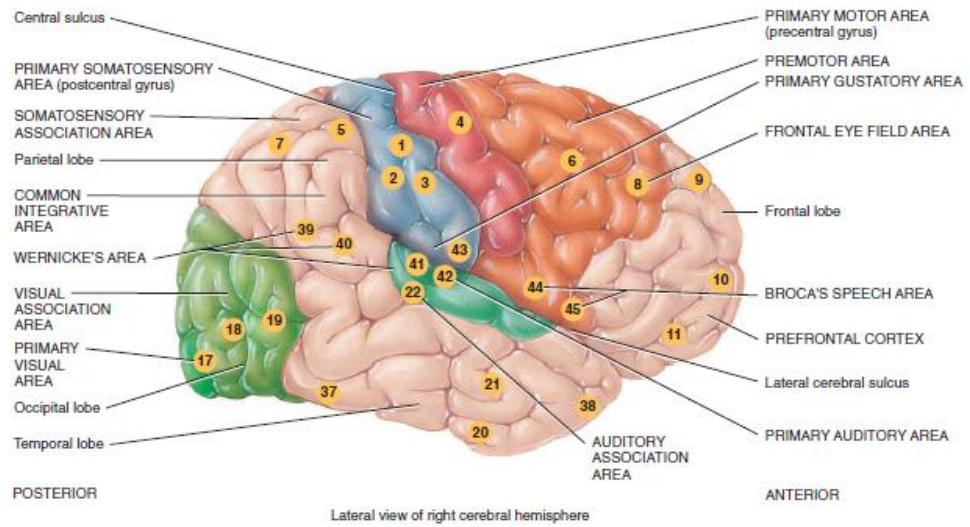
Setelah selesai operasi tikus diletakan di kandang transparan dengan suhu ruangan (25°C), kemudian diamati.

Dengan dilakukannya BCCAO ini akan menginduksi rusaknya jaringan dan sel pada morfologi neuron otak pada focus trauma atau inti iskemik. Dengan demikian rusaknya focus trauma akan menyebabkan fungsional system saraf pusat terganggu. Pada beberapa penelitian yang dilakukan pada didapatkan bahwa BCCAO mengakibatkan menurunnya sambungan sinaps-sinap pada area iskemik core. Selain itu dari morfologi neuron terjadinya perubahan yaitu memendeknya panjang dendritic yang semakin signifikan pada 24 jam dan hari hari berikutnya.

2.1.3 Otak

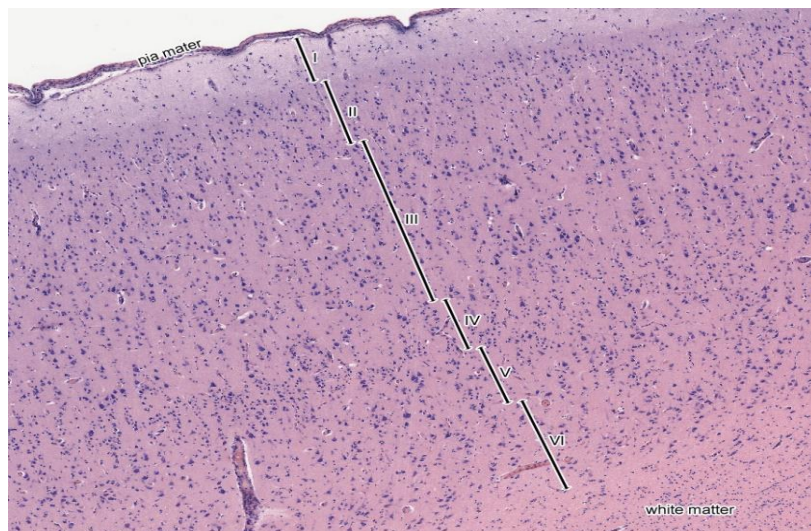
2.1.3.1 Korteks Serebral

Korteks serebral adalah salah satu bagian di otak dengan regio abu-abu yang membentuk lapisan terluar dari serebelum. Korteks terdiri atas lipatan-lipatan yaitu sulkus dan girus serta tebalnya hanya sekitar 2-4 mm akan tetapi didalamnya terdapat miliaran serabut neuron, neuron tersebut terdiri dari 3 macam, yakni granular/stelata, fusiformis, dan piramidal. Bagian serebri ini mempunyai enam lapisan horizontal, masing-masing lapisan mempunyai komposisi sel saraf dan koneksinya berbeda. Pada otak yang diawetkan, bagian korteks berwarna abu-abu karena dibentuk oleh banyak neuron yang berselubung mielin. Permukaan berlipat-lipat pada mamalia yang lebih tinggi, dan lebih dari dua pertiga otak manusia berada dalam cekungan atau sulkus (Duus, 2007). Serebral hemisfer dibagi menjadi 4 lobus yaitu frontal, temporal, parietal dan oksipital. Berdasarkan fungsinya, korteks serebral ini secara garis besar dibagi menjadi 4 yaitu sebagai area sensorik yang menerima informasi dan berkaitan dengan proses persepsi yaitu kesadaran dari adanya sebuah sensasi, kemudian sebagai area motorik yang dapat mengatur pergerakan secara volunteer, serta sebagai area asosiasi yang bersifat sangat kompleks diantaranya seperti memori, emosi, keinginan, personalitas, dan intelegensi. Secara detail masing-masing area memiliki fungsi berbeda berdasarkan area Brodman, yaitu peta dari fungsi serebral korteks dengan penomorannya masing-masing dan diciptakan oleh K. Brodmann's. (Tortora, 2013)



Gambar 3. Area Brodmann serta Fungsinya

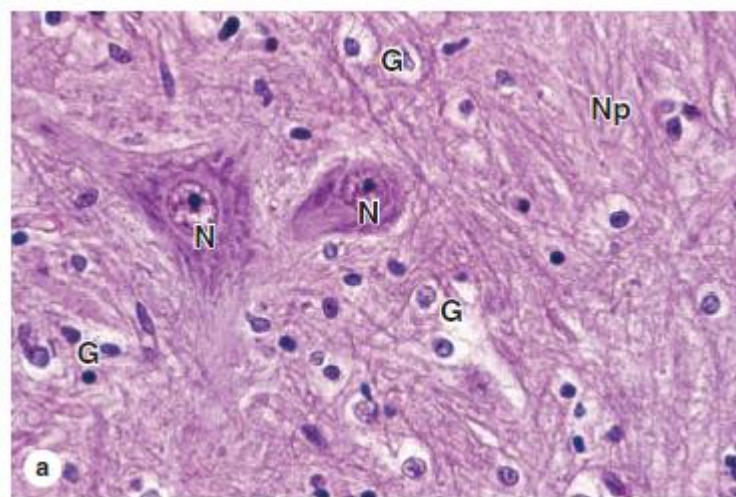
Struktur korteks serebri memiliki 6 lapisan yang dapat dilihat dengan jelas oleh mata telanjang pada area kortikal. Korteks serebri sebagai neokorteks normalnya memiliki karakteristik lapisan-lapisan tersebut. Jenis lapisan tersebut dari dalam yaitu lapisan molekularis, lapisan granularis eksterna, lapisan piramidalis eksterna, lapisan granularis interna, lapisan piramidalis interna dan lapisan multiformis.



Gambar 4. Lapisan Korteks serebri dengan pewarnaan Toluidin Blue (Michigan MultiMedia Health Information Technology & Services).
<http://histology.medicine.umich.edu/sites/default/files/cerebrumTB%26E.jpg>

2.1.3.2 Neuron dan Neuroglia

Pada dasarnya sistem saraf pada manusia secara fisiologis dan histologis dibentuk oleh suatu jaringan yang tersusun dari sel saraf (Neuron) dan sel penunjang (Sel glia/Neuroglia). Secara fungsional neuron merupakan unit yang mengatur sistem saraf pusat dan sistem saraf tepi. Sebagian besar neuron memiliki banyak cabang yang panjang dan terdiri dari 3 bagian penting yaitu badan sel atau perikarion, dendrit dan akson. Ketiga bagian neuron tersebut memiliki fungsi yang berbeda. Badan sel berfungsi sebagai pusat trofik untuk keseluruhan sel saraf dan menerima stimulus, dendrit adalah prosesus panjang yang digunakan untuk menerima stimulus dari lingkungan, sel epitel ataupun dari neuron lain, sedangkan akson merupakan prosesus tunggal yang berfungsi sebagai penghantar impuls saraf ke sel-sel lain (Mescher., 2013).

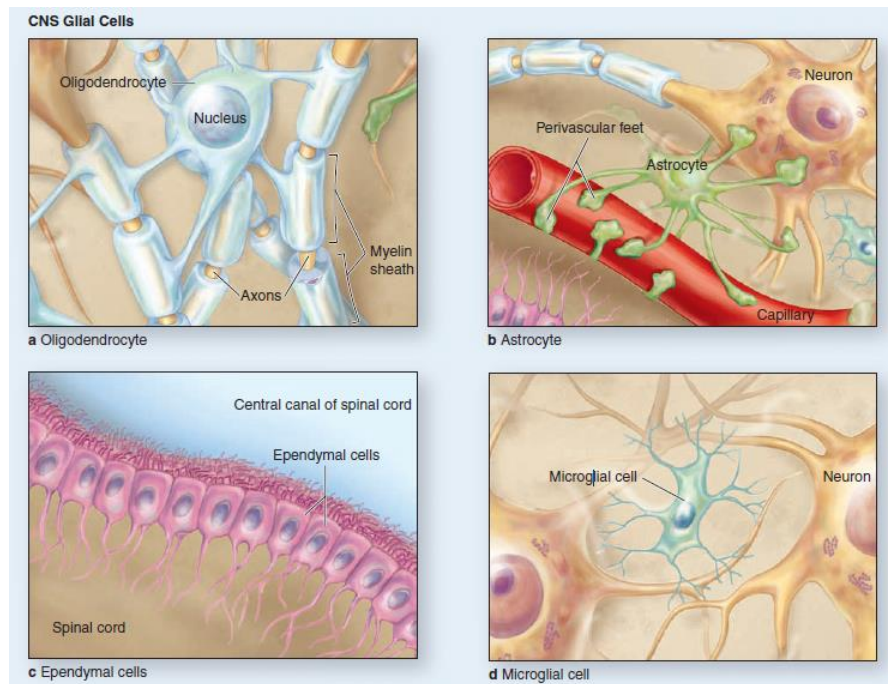


Gambar 5. Neuron, Neutropil dan Neuroglia pada sistem saraf pusat. Sebagian besar badan seel (N) di sistem saraf pusat lebih besar dari pada neuroglia (G) yang berjumlah lebh banyak dan mengelilinginya. Sedangkan neuropil (Np) tidak jelas pada pulasan hematoksilin dan eosin (H&E) (Mescher, 2013).

Neuroglia adalah sel penunjang yang memiliki cabang pendek dan berfungsi sebagai penyangga dan melindungi serta ikut serta dalam aktivitas saraf, nutrisi saraf dan proses pertahanan sel di sistem saraf pusat. Pada umumnya sel neuroglia yang berrada dalam sistem saraf pusat manusia mengelilingi sebagian besar badan sel neuron, bagian bagian sel neuroglia sama dengan sel neuron tetapi pada sel neuroglia prosesus akson serta dendritnya menempati ruang antar neuron. Terdapat

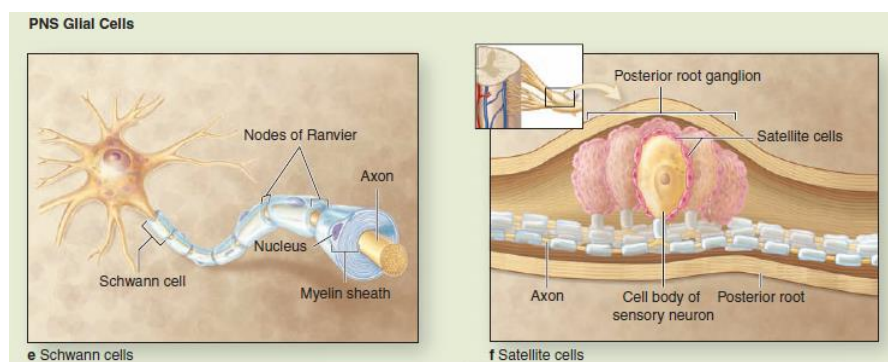
6 jenis Neuro glia yaitu oligodendrosit, astrosit, sel ependim, mikroglia, neurolemmosit (sel scwan) dan sel satelit ganglia (Mescher, 2010).

Neuroglia pada sistem saraf pusat terdiri dari oligodendrosit, astrosit, sel ependim dan sel mikroglia. Oligodendrosit merupakan jenis neuroglia yang dominan di substansia alba sistem saraf yang menjulurkan prosesus yang membungkus sebagian akson sehingga membentuk selubung myelin dan berfungsi sebagai insulator listrik neuron pada sistem saraf pusat. Pada pemulasan mikroskop cahaya rutin prosesus tersebut tidak terlihat karena oligodendrosit hanya tampak sebagai sel kecil (Mescher., 2013). Astrosit adalah sel berbentuk bintang dengan banyak prosesus yang menjalar dan berperan dalam support bagi neuron seperti pembentukan sistem saraf pusat selama perkembangan embrio dan janin, mengendalikan lingkungan ion dan kimiawi neuron serta penting untuk ketahanan hidup. Jenis neuroglia ini paling banyak terdapat pada substansia grisea dan memiliki banyak perbedaan morfologis serta fungsional. Di sistem saraf sel ependim memiliki silia yang memudahkan pergerakan cairan serebrospinal (CSS). Mikroglia merupakan sel kecil memanjang dengan prosesus pendek yang irregular dan berjumlah lebih sedikit dari pada oligodendrosit atau astrosit. Mikroglia tersebar merata di seluruh substansia alba dan grisea. Mikroglia berfungsi sebagai pertahanan imun pada jaringan sistem saraf pusat dan menyekresi sitokin imunoregulatorik. Pada sediaan hematoksilin dan eosin (H&E), mikroglia memiliki struktur memanjang dan padat (berbeda dengan inti sel glia lain yang sferis dan terpulas lebih pucat) (Mescher, 2013).



Gambar 6. Jenis neuroglia pada sistem saraf pusat. (a) Oligodendrosit, (b) Astrofit, (c) Sel Ependim dan (d) Sel Mikroglia (Mescher, 2013)

Jenis neuroglia yang terdiri dari neurolemmosit dan sel satelit hanya terdapat di sistem saraf perifer. Sel scwhan atau neurolemmosit memiliki interaksi trofik dengan akson dan dapat mielinisasi seperti oligodendrosit pada sistem saraf pusat. Sedangkan sel satelit ganglia berasal dari krista neuralis embrionik seperti neurolemmosit dan berperan dalam membentuk suatu lapisan penutup diatas badan sel neuron yang besar pada ganglia sistem saraf tepi serta berfungsi sebagai trofik atau penyangga (Mescher, 2013).



Gambar 7. Jenis neuroglia pada sistem saraf tepi. (e) Sel Schwann atau Neurolemmosit dan (f) Sel Satelit (Mescher, 2013).

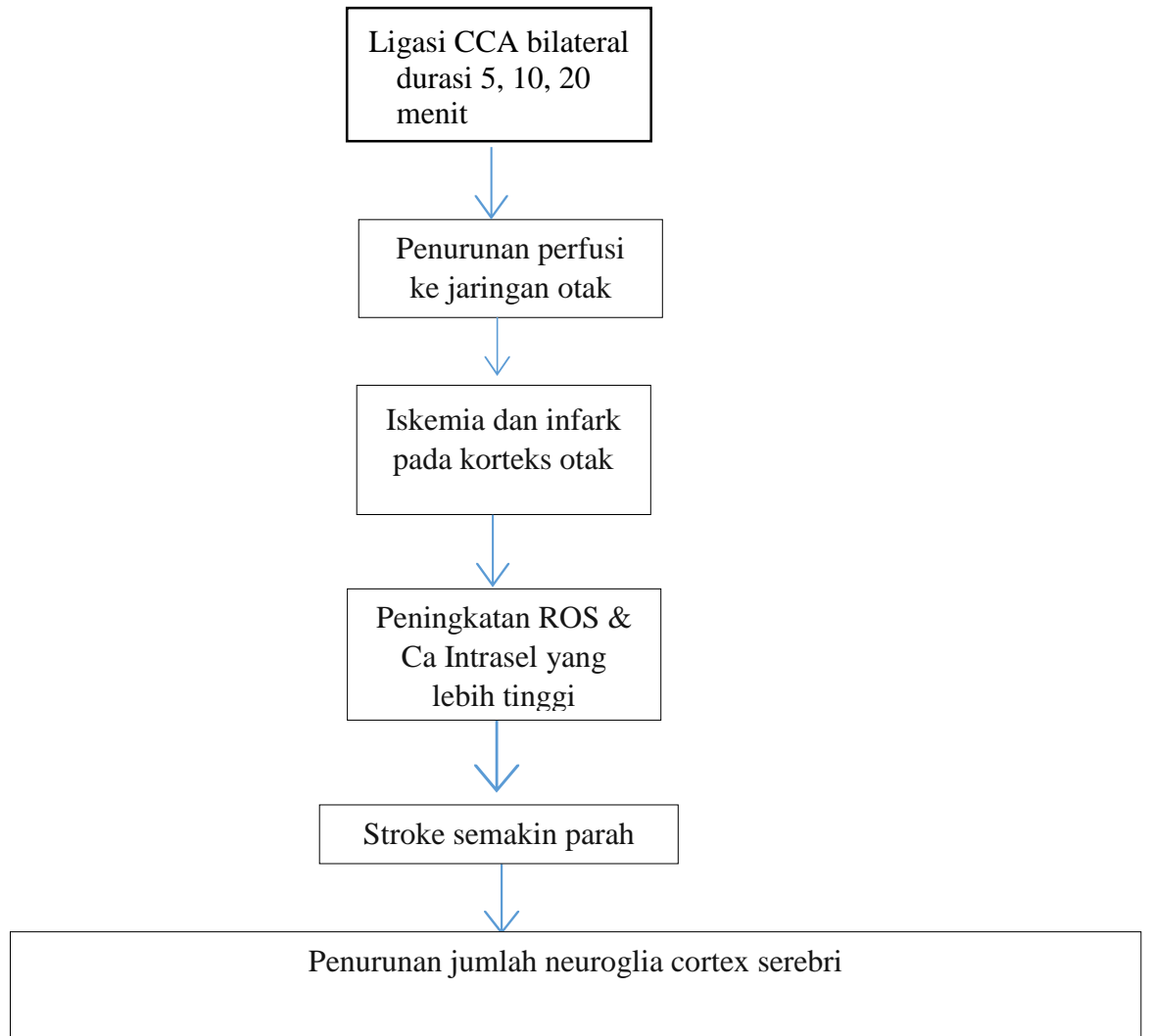
2.1.4 Hubungan antara durasi BCCAO, Reperfusi dan Kerusakan pada Otak

Penurunan aliran darah ke otak hingga 18 mL/100 mg akan mengakibatkan perubahan aktivitas neuron. Perubahan aktivitas tersebut bisa berupa iskemia dan kerusakan otak permanen (infark), sehingga pada keadaan penurunan aliran darah hingga sampai < 10m mL/100 gram jaringan otak per menit akan berdampak pada penurunan fungsi sel membran dan fungsi sel lainnya yang ada di otak dan korteks. Aliran darah yang menurun hingga <5mL/100 gram jaringan otak per menit mengakibatkan sel neuron tidak dapat bertahan hidup dan dapat menginduksi kematian sel. Hal ini akan mempengaruhi jumlah sel neuroglia dimana secara fisiologis jika sel neuron mati maka sel neuroglia akan menggantikan peran sel neuron untuk menjalankan fungsinya (Setyopranoto., 2011).

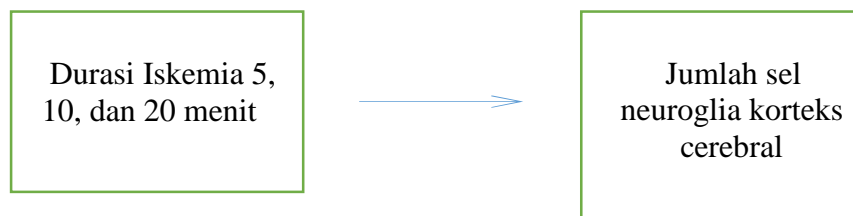
Keadaan oklusi / hipoksia dan reperfusi akan mempengaruhi kadar radikal bebas tergantung dari durasi oklusi dan reperfusi tersebut. Reperfusi pada jaringan iskemia dapat meningkatkan aktivitas leukosit dan kemotaksis melalui peningkatan jumlah ROS. Peningkatan jumlah ROS dapat menyebabkan kematian sel. Durasi oklusi yang singkat akan meningkatkan sedikit kadar ROS. Hal iinilah yang tampaknya akan mengakibatkan terbatasnya kerusakan (Charles, Collard and Simon, 2001).

Soares tahun 2013 menyatakan bahwa penelitian yang menggunakan hewan coba dan dilakukan dengan teknik BCCAO pada area hipokampus menunjukkan adanya neurodegenerasi setelah diberi perlakuan. Durasi oklusi 10-15 menit dengan dapat mengakibatkan kerusakan pada forebrain. Durasi oklusi 30 menit dan reperfusi 45 menit dmenunjukkan kerusakan di forebrain dan CA1 pada hipokampus semakin tinggi (Singh *et al.*, 2012). Dari penelitian tersebut maka, peneliti berhipotesa terdapat hubungan antara lama perlakuan BCCAO akan berpengaruh pada besarnya kerusakan sel pada otak dimana yang peneliti fokuskan disini yaitu pada bagian korteks serebri

2.2 KERANGKA TEORI



2.3 KERANGKA KONSEP PENELITIAN



2.4 HIPOTESIS

Terdapat pengaruh durasi BCCAO terhadap jumlah neuroglia korteks tikus (*Rattus norvergicus*) pasca reperfusi 24 jam.