

DISERTASI

**ANALISIS LUARAN KLINIS STROK ISKEMIK AKUT DENGAN
INTERVENSI PROBIOTIK: PERUBAHAN KADAR SCFA,
KADAR BDNF DAN EKSPRESI mRNA BDNF**

***ANALYSIS OF CLINICAL OUTCOMES IN ACUTE ISCHEMIC STROKE
WITH PROBIOTIC INTERVENTION: ALTERATIONS IN SCFA LEVELS,
BDNF LEVELS, AND EXPRESSION OF mRNA BDNF***



ANDI WERI SOMPA

C013201016



**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

DISERTASI
ANALISIS LUARAN KLINIS STROK ISKEMIK AKUT DENGAN
INTERVENSI PROBIOTIK: PERUBAHAN KADAR SCFA,
KADAR BDNF DAN EKSPRESI mRNA BDNF

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor
Program Studi Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh:

ANDI WERI SOMPA

Nomor Pokok: C013201016

Kepada

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2023



DISERTASI

**ANALISIS LUARAN KLINIS STROK ISKEMIK AKUT DENGAN INTERVENSI
PROBIOTIK: PERUBAHAN KADAR SCFA, KADAR BDNF DAN
EKSPRESI mRNA BDNF**

**ANALYSIS OF CLINICAL OUTCOME IN ACUTE ISCHEMIC STROKE WITH
PROBIOTIC INTERVENTION : ALTERATION OF SCFA LEVEL, BDNF, AND
mRNA BDNF EXPRESSION**

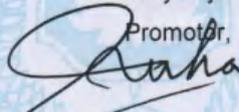
Disusun dan diajukan
Oleh

Andi Weri Sempa
C013201016

*Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 22 Desember 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

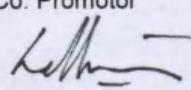
Menyetujui

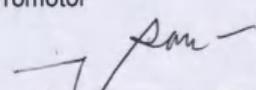
Promotor,


dr. Muhammad Akbar, Ph.D, Sp.S(K), DFM
Nip. 19620921 198811 1 001

Co. Promotor

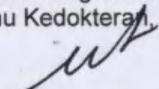
Co. Promotor

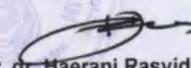

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
Nip. 19570416 198503 1 001


Prof. dr. Rosdjana Natzir, Ph.D, Sp.Biok
Nip. 19570326 198803 2 001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,


Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
Nip. 19671103 199802 1 001


Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM Sp.GK
Nip.19680530 199603 2 001





SURAT PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : ANDI WERI SOMPA
NIM : C013201016
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

**ANALISIS LUARAN STROK ISKEMIK AKUT DENGAN INTERVENSI PROBIOTIK :
PERUBAHAN KADAR SCFA, BDNF DAN MRNA BDNF**

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Januari 2024

Yang menyatakan,



ANDI WERI SOMPA



ANDI WERI SOMPA. *Analisis Hasil Klinis pada Stroke Iskemik Akut dengan Intervensi Probiotik: Perubahan Kadar SCFA, Kadar RDNF, dan Ekspresi mRNA BDNF* (dibimbing oleh Muhammad Akbar, Mochammad Hatta, dan Rosdiana Natsir).

Penelitian ini bertujuan mengetahui luaran klinis stroke iskemik akut dengan intervensi probiotik. Stroke merupakan penyakit serebrovaskular akut yang menempati urutan kedua penyebab kematian global setelah penyakit jantung iskemik. Keterlibatan sistem kekebalan tubuh dalam patogenesis stroke menjelaskan aktivasi imunitas adaptif yang mulai berlaku dalam waktu tiga jam sampai beberapa hari pascastroke merupakan bagian integral dalam proses ini. Sel-sel kekebalan ini dapat mengatur dan diatur oleh mikrobiota usus. Pemanfaatan probiotik menunjukkan efek serebroprotektif sehingga meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan memperbaiki hasil klinis. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental khususnya uji klinis dengan desain kelompok kontrol *pre* dan *posttest* untuk mengevaluasi dampak intervensi probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) selama 14 hari terhadap luaran klinis stroke iskemik akut. Sebanyak 35 sampel dikumpulkan dengan menggunakan metode konsektif *sampling*, dilanjutkan dengan pembagian menjadi dua kelompok: kelompok intervensi dan kelompok kontrol. Data dikumpulkan dari Rumah Sakit Pendidikan pada September 2022 hingga Januari 2023. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perubahan rerata kadar SCFA, BDNF, dan mRNA BDNF. Terdapat hubungan yang signifikan pada kedua kelompok ($p < 0,001$) untuk kadar SCFA, BDNF, dan mRNA BDNF. Terdapat hubungan antara masing-masing variabel pada kelompok intervensi dan perubahan skor NIHSS. Berdasarkan uji korelasi Spearman, korelasi yang lebih kuat terdapat pada ekspresi mRNA BDNF, kemudian kadar BDNF, dan kadar SCFA dengan nilai korelasi $r = - 0,92$. Penelitian ini menyimpulkan bahwa terdapat hubungan intervensi probiotik terhadap perubahan kadar SCFA, kadar BDNF, dan ekspresi mRNA BDNF pada NIHSS stroke iskemik akut pascaintervensi probiotik.

Kata kunci: stroke iskemik akut, probiotik, *Lactobacillus acidophilus*, SCFA, BDNF, mRNA BDNF, NIHSS



ANDI WERI SOMPA. *Analysis of Clinical Outcome in Acute Ischemic Stroke with Probiotic Intervention: Alterations in SCFA Level, BDNF Level, and BDNF mRNA Expression* (supervised by Muhammad Akbar, Mochammad Hatta, Rosdiana Natsir)

The research aims at investigating the clinical outcome of the acute ischemic stroke with the probiotic intervention. The stroke is an acute cerebrovascular disease, occupying the second leading cause of global mortality, following the ischemic heart disease. The immune system involvement in the pathogenesis of stroke elucidates the adaptive immunity activation, which comes into the effect within three hours to several days post-stroke, being integral in this process. These immune cells can both govern and be governed by the intestinal microbiota. The probiotic utilization exhibits cerebroprotective effects, thus it enhances the immune system and ameliorates the clinical outcome. This was the experimental research, specifically the clinical trial with the pre-test and post-test control group design to evaluate the probiotic impact (*Lactobacillus acidophilus*) intervention for 14 days on the clinical outcomes of the acute ischemic stroke. The total of 35 samples were selected using the consecutive sampling method. The samples were divided into two groups: the intervention group and the control group. The data were collected from the teaching hospital from September 2022 to January 2023. The research result indicates that there are changes in the mean levels of SCFA, BDNF and mRNA BDNF. there is the significant relationship in both groups ($p < 0.001$) for SCFA level, BDNF and mRNA BONF. There is the relationship between variables in the intervention group and the changes in NIHSS scores. Based on the Spearman correlation test, the strong correlation is found in mRNA BDNF expression, then BDNF level and SCFA level with the correlation value of 0.92. It can be concluded that there is the relationship between probiotic intervention on changes in SCFA level, BDNF level and mRNA BDNF expression on NIHSS of the acute ischemic stroke after the probiotic intervention.

Key words: acute ischemic stroke, probiotic, *lactobacillus acidophilus*, SCFA, BDNF, mRNA BDNF, NIHSS



LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI

**ANALISIS LUARAN KLINIS STROK ISKEMIK AKUT DENGAN
INTERVENSI PROBIOTIK: PERUBAHAN KADAR SCFA, BDNF DAN
EKSPRESI mRNA BDNF**

***ANALYSIS OF CLINICAL OUTCOMES IN ACUTE ISCHEMIC
STROKE WITH PROBIOTIC INTERVENTION: ALTERATIONS IN
SCFA LEVELS, BDNF LEVELS, AND EXPRESSION OF mRNA BDNF***

Disusun dan diajukan oleh
Andi Weri Sempa C013201016

Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

Menyetujui
Promotor,

dr. Muhammad Akbar, Ph.D, Sp. S(K), DFM

Co. Promotor

Co. Promotor

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)

Prof.dr. Rosdiana Natzir, Ph.D., Sp.Biok

Mengetahui,
Ketua Program Studi (S3)
Ilmu Kedokteran



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
Nip. 19671103 199802 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Andi Weri Sempa

Nomor Induk : C013201016

Program Studi : Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Desember 2023

Yang menyatakan

Andi Weri Sempa



PRAKATA

Dengan nama Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang serta dengan memohon syafa'at Rasulullah Muhammad SAW penulis menyusun dan menyelesaikan disertasi ini sebagai salah satu prasyarat akademik untuk memperoleh gelar Doktor dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin. Tiada kekayaan yang lebih utama daripada akal, tiada keadaan yang lebih menyedihkan daripada kebodohan, dan tiada warisan yang lebih baik daripada pendidikan.

Judul yang diangkat dalam disertasi ini adalah Analisis Luaran Klinis Stroke Iskemik Akut dengan Intervensi Probiotik: Perubahan Kadar SCFA, BDNF dan ekspresi mRNA BDNF. Judul ini didasarkan pada upaya mencari landasan penanganan stroke iskemik akut derajat ringan-sedang yang berbasis bukti ilmiah. Luaran klinis stroke iskemik saat ini sangat bergantung pada beberapa faktor termasuk kondisi disbiosis usus. Mencegah bahkan memperbaiki kondisi disbiosis usus ini menjadi sesuatu yang menjanjikan dalam mencegah penyakit kardiovaskular dan memperbaiki luaran stroke iskemik akut. Semoga penelitian ini dapat berkontribusi sebagai rujukan teoritis berbasis bukti.

Doa terpanjang untuk ayahanda (alm) **Prof. Dr. H.Andi Munarfah, M.Sc** dan **ibunda Dra.Hj. Diaman Tajuddin** yang mewariskan spirit cinta dan berkhidmad pada ilmu dalam diri penulis. Proses pelaksanaan



hingga penyusunan disertasi ini tidak akan selesai tanpa in penuh dari suami tercinta **Abd. Wasir Samad, PhD** yang dengan

sabar selalu siap menjadi mentor, guru dan sahabat dalam bertukar ilmu dan pikiran. Dia yang selalu meyakinkan penulis untuk kuat bahkan disaat penulis tidak yakin akan kekuatan diri sendiri. Juga dukungan dari anak-anak tercinta **A. Ummul Karimah Al Madani, Muhammad Muhyi Mubarak** dan **Azizah Nurul Hikmah** yang telah rela kehilangan banyak waktu bersama ibunya serta dukungan tanpa henti dari saudara-saudara dan sanak keluarga tercinta.

Penulis dengan tulus juga menyampaikan terima kasih tak terhingga kepada **dr. Muhammad Akbar, Ph.D, Sp.S(K), DFM, Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K); Prof. dr. Rosdiana Natzir, PhD, Sp.Biok** dan **Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM** sebagai dosen pembimbing disertasi ini atas bantuan dan bimbingan yang diberikan mulai dari pengembangan minat dari permasalahan ini, pelaksanaan penelitian sampai dengan penyelesaian disertasi ini.

Terima kasih juga penulis sampaikan kepada **Dr. dr. Retnaningsih, Sp.S(K), KIC; Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K); Dr. dr. David Gunawan Umbas, Sp.S(K), Prof. dr. Agussalim Bukhari, M.Med, PhD, Sp.GK(K); dan Dr. dr. Susi Aulina, Sp.S(K)** yang telah banyak membantu dalam pengayaan penulisan dan metode dalam disertasi ini.

Kepada Bapak rektor Universitas Muhammadiyah Makassar **Prof. Dr. Ambo Asse, S.Ag, M.Ag**, dan jajarannya serta segenap civitas akademika



Kedokteran dan Ilmu Kesehatan penulis mengucapkan banyak terima kasih atas segala dukungan baik moril maupun materil dalam

penyelesaian studi ini. Tidak lupa penulis menghaturkan banyak terimakasih dan penghargaan kepada mereka yang namanya tidak tercantum tetapi telah sangat membantu penulis dalam menyelesaikan disertasi ini, hanya Allah SWT yang mampu membalas setiap jerih payah, kasih sayang, motivasi dan dorongan yang tiada henti.

Jazakumullaahu khairan katsiran.

Makassar, Desember 2023

Andi Weri Sempa



Optimized using
trial version
www.balesio.com

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI.....	iii
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Hipotesis	8
1.4 Tujuan Penelitian	9
1.5 Manfaat Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1 Strok Iskemik.....	11
2.2 Neuroinflamasi Pada Strok Iskemik	14
<i>Brain Derived Neutrophic Factor (BDNF) dan ekspresi mRNA BDNF22</i>	
<i>Brain Gut Axis</i>	26



2.5	Probiotik	34
2.6	<i>Short Chain Fatty Acid (SCFA)</i>	39
2.7	Luaran Strok Iskemik	42
2.8	Kerangka Teori	46
2.9	Kerangka Konsep.....	47
BAB III METODE PENELITIAN.....		48
3.1	Rancangan Penelitian.....	48
3.2	Lokasi dan Waktu	48
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian.....	48
3.4	Identifikasi Variabel	51
3.5	Pengumpulan Data.....	51
3.6	Definisi Operasional	58
3.7	Analisis Data.....	60
3.8	Izin Penelitian dan Etik Penelitian.....	60
BAB IV HASIL PENELITIAN		61
BAB V PEMBAHASAN		70
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN.....		87
6.1	Kesimpulan	87
6.2	Saran	87
DAFTAR PUSTAKA.....		89
LAMPIRAN		98



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Biomarker mikrobiota pada strok (Xia et al., 2019).....	33
Tabel 2.2	Mikroorganisme probiotik yang digunakan pada nutrisi manusia	37
Tabel 4. 1	Karakteristik Responden	61
Tabel 4. 2	Nilai Rerata SCFA Kelompok Intervensi dan Kelompok Kontrol	63
Tabel 4. 3	Nilai Rerata BDNF Kelompok Intervensi dan Kelompok Kontrol	64
Tabel 4. 4	Nilai Rerata mRNA Kelompok Intervensi dan Kelompok Kontrol.....	65
Tabel 4. 5	Nilai Rerata NIHSS Kelompok Intervensi dan Kelompok Kontrol.....	67
Tabel 4. 6	Hubungan antara perubahan kadar SCFA terhadap perubahan skor NIHSS	68
Tabel 4. 7	Hubungan perubahan kadar BDNF dengan perubahan skor NIHSS	68
Tabel 4. 8	Hubungan antara intervensi probiotik dengan luaran klinis stroke iskemik akut berdasarkan Perubahan mRNA BDNF	69
Tabel 4. 9	Hubungan perubahan rerata kadar SCFA, BDNF, mRNA BDNF dengan perubahan skor NIHSS	69



Tabel 4. 10 Hubungan perubahan BDNF, mRNA BDNF dengan SCFA
pada kelompok intervensi68

Tabel 4. 11 Hubungan perubahan BDNF, mRNA BDNF dengan SCFA
pada kelompok intervensi68



DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1 Kaskade iskemik pada neuron saat terjadi strok (Yang et al., 2018).....13
- Gambar 2. 2 Proses inflamasi yang terjadi pada intravaskuler, dinding vaskuler, perivaskuler dan parenkim otak yang dipicu oleh iskemia dan reperfusi. (Iadecola & Anrather, 2011).....17
- Gambar 2. 3 Proses perbaikan jaringan otak sebagai respon inflamasi setelah terjadinya iskemia serebral.....21
- Gambar 2. 4 Signal bottom-up dan top-down pada brain-gut-axis. [SCFA, short chain fatty acid; DA, dopamine; 5HT, serotonin; Ig, immunoglobulin; PYY, peptida YY; GLP-1, glucagon-like peptide-1; CKK, cholecystokinin; GABA, gamma amino butyric acid] (Battaglini et al., 2020b).....27
- Gambar 2.5 Respon inflamasi lokal dari usus pada strok iskemik. [PYY, peptide YY; GLP-1, glucagon-like peptide-1; CCK, cholecystokinin; IL, interleukin; CD, cluster of differentiation; MYD, myeloid differentiation primary response protein; NOD, nucleotide binding oligomerization domain-containing protein; NLRP, nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein receptor; CRH, corticotropin releasing hormone;



ACTH, adrenocorticotropin hormone] (Battaglini et al., 2020b).....	30
Gambar 2. 6 Sintesis SCFA melalui fermentasi karbohidrat <i>nondigestible</i> oleh mikrobiota usus	41
Gambar 4. 1 Boxplot perbandingan perubahan kadar SCFA pada kelompok intervensi dan kontrol	63
Gambar 4. 2 Boxplot perbandingan perubahan kadar BDNF pada kelompok intervensi dan kontrol	65
Gambar 4. 3 Boxplot perbandingan perubahan mRNA pada kelompok intervensi dan kontrol.....	66
Gambar 4. 4 Boxplot perbandingan perubahan skor NIHSS pada kelompok intervensi dan kontrol	67



DAFTAR LAMPIRAN

1. Etik Penelitian
2. Kuesioner
3. NIHSS
4. Master data
5. Analisis Statistik



DAFTAR SINGKATAN

AA	: Asam Arakhidonat
ATP	: <i>Adenosin Tri Phosphate</i>
BB	: <i>Blood Brain Barrier</i>
BDNF	: Brain Derived Neurotrophin Factor
BGA	: Brain-Gut Axis
CD	: <i>cluster of differentiation</i>
DAMP	: <i>danger/damage-associated molecular patterns</i>
FAO	: <i>Food and Agriculture Organization</i>
GABA	: gamma aminobutyric acid
GDNF	: <i>Glial Cell derived neurotrophic factor</i>
GLP	: glucagon-like peptide
HMOs	: <i>human milk oligosaccharides</i>
HPA	: <i>hypothalamic-pituitary-adrenal axis</i>
IBDs	: <i>inflammatory bowel diseases</i>
IGF	: insulin-like growth factor
ISAPP	: <i>the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics</i>
LDL	: <i>low density lipoprotein</i>
LPS	: lipopolysaccharide
MMPs	: Matrix Metalloproteinase
	: <i>non-alcoholic fatty liver disease</i>
	: <i>non-digestible oligosaccharides</i>



NGF	: <i>Nerve Growth Factor</i>
NMDA	: <i>N-Methyl-D-Aspartate</i>
NMDA	: n-metil-D-aspartat
NPC	: <i>Neural Precursor Cells</i>
NSC	: <i>Neural Stem Cells</i>
PRRs	: <i>pattern recognition receptor</i>
Risikesdas	: Riset Kesehatan Dasar
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SCFA	: <i>Short Chain Fatty Acid</i>
SDI	: <i>Strok Dysbiosis Index</i>
TGF	: <i>transforming growth factor</i>
TIA	: <i>Transient Ischemic Attack</i>
TREM	: <i>Triggered Receptor expressed on Myeloid Cells</i>
TrkB	: <i>Tropomyosin receptor kinase B</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	: World Health Organization
Yastroki	: Yayasan Strok Indonesia



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Strok merupakan penyakit cedera vaskuler otak akut yang menjadi penyebab kematian kedua setelah penyakit Jantung iskemik dan penyebab kecacatan ketiga tersering di dunia setelah penyakit jantung dan kanker (Sotomayor-Sobrinno et al., 2019). Menurut *World Health Organization* (WHO), strok adalah manifestasi klinik dari gangguan fungsi serebral baik lokal maupun global, yang berlangsung dengan cepat, lebih dari 24 jam dan dapat menyebabkan kematian tanpa ditemukannya penyebab lain yang jelas selain gangguan vaskular. Saat ini strok juga merupakan penyebab disabilitas di negara maju terutama pada usia lebih dari 65 tahun (Battaglini et al., 2020a; Sharma, 2016).

Beban akibat strok semakin meningkat dan menjadi tantangan berat terutama di Asia khususnya di negara Indonesia. Data dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas, 2018) menunjukkan prevalensi strok 10.9 permil pada tahun 2018 meningkat dari angka 7 permil pada tahun 2013. Propinsi Sulawesi Selatan memiliki prevalensi strok tertinggi kedua setelah propinsi Kalimantan Timur dan didominasi oleh kelompok usia produktif. Kematian akibat Strok di Indonesia mencapai 252.473 atau 14,83% dari total 1 dan menempati urutan ke 7 di dunia.

Strok iskemik merupakan jenis strok terbanyak, mencapai sekitar 87%



dari keseluruhan kasus strok, terdiri dari emboli ekstrakranial (25%) dan trombosis intrakranial (75%). Strok iskemik ini dapat menyebabkan kematian sel-sel jaringan otak akibat kurangnya oksigen dan glukosa ke otak dan selanjutnya terjadi kegagalan proses metabolisme pada daerah tersebut. Patofisiologi strok cukup kompleks mencakup beberapa proses termasuk kegagalan energi, eksitotoksisitas, stres oksidatif, kerusakan sawar darah otak, inflamasi, nekrosis, apoptosis dan lain-lain yang terangkum dalam suatu kaskade iskemik (Guo et al., 2013; Sotomayor-Sobrinio et al., 2019).

Dari seluruh jumlah penderita strok, sepertiganya bisa pulih kembali, sepertiga lainnya mengalami gangguan fungsional ringan sampai sedang, dan sepertiga sisanya mengalami gangguan fungsional berat yang mengharuskan pasien strok terbaring di tempat tidur. Menurut Yayasan Strok Indonesia (Yastroki, 2012) dalam dasawarsa terakhir ini terdapat kecenderungan peningkatan jumlah pasien strok pada generasi muda yang masih produktif di Indonesia. Hal ini akan berdampak terhadap menurunnya tingkat produktivitas serta dapat mengakibatkan terganggunya kondisi sosial ekonomi keluarga.

Penelitian terkini mengarah kepada upaya-upaya untuk mencari faktor risiko, mengatasi faktor risiko, menjelaskan patogenesis dan perbaikan luaran strok. Adanya keterlibatan sistem imun dalam patogenesis strok

skan adanya imunitas adaptif yang teraktifasi dan disalurkan ke am beberapa jam sampai beberapa hari setelah onset strok. Sel-



sel imun tersebut dapat mengatur dan diatur oleh mikrobiota usus (Arpaia et al., 2014; Battaglini et al., 2020a).

Keterlibatan sistem imun pada patomekanisme stroke telah diteliti oleh para ahli. Oklusi pembuluh darah otak mengawali terjadinya kerusakan iskemik akut yang diikuti adanya aktivasi sel imun lokal dan pergeseran sel imun perifer. Pada awalnya, sel imun innate menghambat kerusakan otak melalui pembersihan sel debris dan netralisasi neurotoksin. Namun, dampak dari amplifikasi respon imun adaptif mendorong progresivitas cedera otak iskemik. Oleh karena itu, imunomodulasi (imunoterapi) telah menjadi konsep tatalaksana stroke yang menjanjikan.

Respon imun sistemik yang terjadi saat serangan berkontribusi terhadap tingginya mortalitas dan kecacatan jangka panjang. Studi terbaru telah membuktikan bahwa luaran stroke dapat dipengaruhi oleh komposisi mikrobiota usus meskipun mekanisme manipulasi mikrobiota usus ini belum diketahui manfaatnya. Penelitian Lee et al., (2020) yang menilai perubahan mikrobiota usus pada tikus yang mengalami stroke (oklusi arteri serebri media) menemukan bahwa kadar *Short Chain Fatty Acid* (SCFA lebih tinggi) pada tikus yang mendapatkan transplantasi fekal dari tikus sehat yang lebih muda. Penelitian ini memberi rekomendasi bakterioterapi pada stroke dengan pemberian probiotik sebagai penghasil SCFA. SCFA atau asam lemak rantai pendek merupakan metabolit dari fermentasi sakarolitik



akanan oleh mikrobiota anaerob usus. SCFA berperan dalam glukosa, *lipid* dan metabolisme energi.

Saluran cerna dikenal sebagai bagian dari organ dengan sel imun terbesar, mencapai 70% dari sistem imun tubuh secara keseluruhan. Inflamasi usus yang berkaitan dengan respon imun yang berperan dalam patofisiologi strok telah menjadi sasaran utama dalam target terapi strok. Li et al., (2019) dalam studinya yang mengevaluasi karakteristik mikrobiota usus melalui feses pasien strok, menemukan bahwa pasien strok mengalami disbiosis yang signifikan dari mikrobiota usus penghasil asam lemak rantai pendek (SCFA).

Penelitian terhadap mikrobiota komensal dan kontribusinya terhadap kesehatan dan penyakit merupakan hal yang baru dan berkembang sangat dinamis terutama pada patogenesis dan perjalanan strok. Mikrobiota mempengaruhi luaran strok iskemik dengan adanya peran SCFA dalam memodulasi respon imun antigen spesifik pada sistem saraf pusat (Lee et al., 2020; Winek et al., 2016)

Beberapa studi saat ini berfokus pada hubungan antara mikrobiom pada saluran cerna yaitu usus dengan kejadian strok iskemik akut yang semakin memperjelas adanya komunikasi mikrobiota dua arah yang disebut *brain-gut axis*. Saluran cerna dan otak terhubung dua arah melalui beberapa mekanisme yaitu neuronal, imunologi, metabolik dan jalur endokrin. Di satu sisi, melalui jalur-jalur ini, signal dari otak mempengaruhi sistem sensorik, motorik dan sekresi pada sistem gastrointestinal dan di

signal dari usus pun akan mempengaruhi otak (Thornell & Salami,



Disbiosis mikrobiota dalam usus merupakan faktor risiko terjadinya hipertensi, disfungsi vaskuler, diabetes mellitus dan obesitas (Durgan et al., 2019). Menurut Chen *et al.*, 2019 dan Benakis *et al.*, 2020 disbiosis ini juga merupakan faktor risiko stroke iskemik dan demikian pula sebaliknya disfungsi sistem saraf pusat mempengaruhi fungsi gastrointestinal melalui signal nervus vagus, neurotransmitter, endokrin dan respon imun. Iskemia serebral menyebabkan disbiosis mikrobiota, meningkatkan permeabilitas intestinal, gangguan pada barrier usus dan translokasi mikrobiota. Penelitian pada hewan model menunjukkan bahwa mikrobiota usus dapat mengatur proses neuroinflamasi dan mempengaruhi proses pemulihan otak. Stroke dapat mengubah komposisi bakteri di usus yang secara kausal terkait dengan polarisasi sel T proinflamasi dan memperburuk luaran stroke iskemik (Singh et al., 2018; Tan et al., 2021)

Pemahaman tentang *brain-gut-axis* kemudian melahirkan banyak penelitian-penelitian yang terkait dengan mikrobiota bahkan intervensi probiotik terhadap berbagai macam penyakit diantaranya gangguan imunologis, gangguan saluran cerna, gangguan ginjal dan hipertensi bahkan segala jenis kanker (Kaur & Diseases, 2021). Menurut *the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization* (FAO/WHO) probiotik adalah mikro-organisme hidup yang diberikan dalam jumlah yang cukup, dan memberikan dampak kesehatan



ost. Hal ini diperoleh dengan perbaikan integritas barrier, mbat metabolisme zat pro-karsinogen dan menghambat

pertumbuhan patogen. Probiotik ini juga meningkatkan imunitas, membantu penyembuhan luka dan menghambat inflamasi serta mengurangi molekul stress oksidatif seperti ROS dan H₂S (Cerdó et al., 2017; Wang et al., 2017). Penggunaan probiotik untuk penyakit strok saat ini belum banyak dan masih dalam tahap in vivo. Singh et al., (2018) menyimpulkan bahwa probiotik memiliki efek serebroprotektif dengan perantara adanya jumlah asam lemak rantai pendek (SCFA) yang tinggi sehingga dapat meningkatkan sistem imun dan memperbaiki luaran klinis. Secara khusus, kelompok metabolit SCFA yaitu asetat, butirat dan propionate telah terbukti mampu melewati sawar darah otak dan mempengaruhi fungsi otak dalam perkembangan maupun penyakit. Misalnya pada ensefalitis, SCFA meningkatkan anti inflamasi dan mengurangi kerusakan aksonal (Sadler et al., 2020a).

Salah satu pemeriksaan biomarker yang dihubungkan dengan luaran strok adalah *Brain Derived Neurotrophin Factor* (BDNF). BDNF merupakan protein yang memegang peranan penting dalam neuroplastisitas, neurogenesis, pertumbuhan axon dan dendrit, synaptogenesis, perkembangan sirkuit saraf dan juga melindungi neuron terhadap eksitotoksisitas glutamat. Studi Framingham melaporkan bahwa kadar BDNF yang rendah berhubungan dengan peningkatan risiko strok. Di lain pihak, kadar BDNF yang tinggi dapat meningkatkan perbaikan sensorimotor, depresi post strok dan akhirnya dapat meningkatkan luaran

al. Supresi pada ekspresi mRNA BDNF dapat mencegah sasi sirkuit saraf dan menurunkan produksi protein BDNF. Pada



studi oleh Inoue et al., (2021) menyimpulkan bahwa ekspresi mRNA BDNF berkorelasi positif dengan perbaikan fungsi motorik setelah perdarahan intraserebral. Interupsi pada fase akut stroke dengan perubahan mikrobiota usus menggunakan probiotik, prebiotik atau obat-obat antimikroba menjadi upaya yang menjanjikan dalam pencegahan maupun terapi tambahan yang bermanfaat pada gangguan sistem saraf pusat (Borrelli et al., 2016; Maqsood & Stone, 2016).

Sejauh ini, luaran klinis stroke iskemik akut belum memuaskan. Luaran klinis ini dapat diukur dengan skala dari *National Institute of Heart Stroke Scale* (NIHSS). NIHSS ini menilai kemajuan stroke terutama fase akut. Perbedaan nilai skor NIHSS saat onset stroke dan setelah perawatan dapat dijadikan patokan keberhasilan perawatan. Adanya faktor risiko yang sulit dikendalikan, pengobatan jangka panjang disertai faktor ekonomi dan sosial sering menjadi hambatan dalam perbaikan luaran klinis. Penggunaan probiotik saat ini menjadi trend namun belum bagi pasien stroke. Hal inilah yang mendasari penelitian mengenai pengaruh intervensi probiotik dalam perbaikan luaran stroke iskemik akut yang dinilai dengan perubahan skor NIHSS dengan melihat perubahan kadar SCFA dan biomarker neurotropin BDNF dan perubahan ekspresi mRNA BDNF.

1.2 Rumusan Masalah



Berdasarkan latar belakang tersebut maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Apakah terdapat perubahan kadar SCFA, BDNF, ekspresi mRNA BDNF dan skor NIHSS pada strok iskemik akut setelah intervensi probiotik?
- 1.2.2 Bagaimana hubungan antara perubahan kadar SCFA dengan perubahan skor NIHSS pada strok iskemik akut setelah intervensi probiotik?
- 1.2.3 Bagaimana hubungan antara perubahan kadar BDNF dengan perubahan skor NIHSS pada strok iskemik akut setelah intervensi probiotik?
- 1.2.4 Bagaimana hubungan antara perubahan ekspresi mRNA BDNF dengan perubahan skor NIHSS pada strok iskemik akut setelah intervensi probiotik?

1.3 Hipotesis

- 1.3.1 Terdapat peningkatan kadar SCFA, BDNF, dan ekspresi mRNA BDNF setelah intervensi probiotik
- 1.3.2 Perubahan kadar SCFA berpengaruh terhadap luaran klinis strok iskemik akut setelah intervensi probiotik
- 1.3.3 Perubahan kadar BDNF berpengaruh terhadap luaran klinis strok iskemik akut setelah intervensi probiotik
- 1.3.4 Terdapat hubungan antara perubahan ekspresi mRNA BDNF dengan luaran klinis strok iskemik akut setelah intervensi probiotik



1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui luaran klinis strok iskemik akut dengan intervensi probiotik (*Lactobacillus acidhophilus*)

1.4.2 Tujuan Khusus

- 1) Menentukan perubahan kadar SCFA pada pasien strok iskemik akut setelah intervensi probiotik dan membandingkan dengan kontrol
- 2) Menentukan perubahan kadar BDNF pada pasien strok iskemik akut setelah intervensi probiotik dan membandingkan dengan kontrol
- 3) Menentukan perubahan Ekspresi mRNA BDNF pada pasien strok iskemik akut setelah intervensi probiotik dan membandingkan dengan kontrol
- 4) Menentukan perubahan skor NIHSS pada strok iskemik akut setelah intervensi probiotik dan membandingkan dengan kontrol
- 5) Menentukan hubungan antara perubahan kadar SCFA dengan perubahan skor NIHSS strok iskemik akut pada kedua kelompok
- 6) Menentukan hubungan antara perubahan kadar BDNF dengan perubahan skor NIHSS strok iskemik akut pada kedua kelompok
- 7) Menentukan hubungan antara perubahan ekspresi mRNA BDNF dengan perubahan skor NIHSS strok iskemik akut pada kedua kelompok.



1.5 Manfaat Penelitian

- 1.5.1 Memberikan kontribusi pengetahuan dalam bidang ilmu kedokteran
- 1.5.2 Menjadi acuan untuk memahami konsep neuroinflamasi dalam patofisiologi strok iskemik akut
- 1.5.3 Memberikan kontribusi dalam upaya mencegah kejadian dan keparahan strok iskemik akut
- 1.5.4 Memberikan kontribusi dalam tatalaksana strok dalam upaya meningkatkan kualitas hidup pasien pasca strok iskemik akut



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Strok Iskemik

Secara global, strok Iskemik merupakan strok dengan insidensi terbanyak yaitu mencapai 87 % dibandingkan semua jenis strok. Kejadian strok Iskemik di Asia mencapai 70%, berbeda dengan kejadian di negara maju yaitu 90% yang terdiri dari kardioemboli 50%, oklusi arteri besar 25%, oklusi arteri kecil 10% dan sisanya dengan penyebab yang tidak diketahui. (Budianto et al., 2021).

Penderita strok mencapai 15 juta orang setiap tahun di seluruh dunia. Angka kematian mencapai 5 juta orang per tahun dan 5 juta lainnya mengalami disabilitas serta menjadi beban ekonomi maupun keluarga atau komunitas. Faktor risiko seperti hipertensi, penyakit metabolik, gangguan jantung dan *life style* yang buruk merupakan faktor risiko yang banyak dijumpai pada penderita dewasa (Akbar et al., 2018). Pada anak-anak, 88% kejadian strok merupakan akibat dari penyakit *sickle cell*. Pada populasi kulit hitam di Amerika, risiko strok mencapai 1.49 kali lebih besar daripada kulit putih. Laki-laki berisiko lebih tinggi yaitu 62.8 daripada perempuan sekitar 59 per 100.000 populasi namun dengan angka kematian lebih rendah yaitu 26.3% dari total kasus dibanding perempuan sekitar 39.2% (M.

et al., 2021; Budianto et al., 2021).

cara definisi, infark pada sistem saraf pusat adalah kematian sel



otak, medulla spinalis atau retina karena iskemik, berdasarkan patologi, pencitraan atau bukti objektif lain dari adanya iskemik otak, medulla spinalis atau retina karena penyebab vaskular atau adanya bukti klinis dari iskemik otak, medulla spinalis atau retina dengan gejala menetap lebih atau sama dengan 24 jam atau sampai meninggal dengan menyingkirkan penyebab lainnya. Strok iskemik adalah episode disfungsi neurologis yang disebabkan oleh infark serebral, spinal atau retina (Sacco et al., 2013). Penyebab utama strok iskemik mencakup trombosis, emboli dan hipoperfusi sistemik yang disebabkan oleh gangguan aliran darah. Mayoritas strok iskemik terjadi karena oklusi arteri serebri media yang merusak teritori jaringan otak dan diikuti oleh berbagai respon inflamasi dan respon imun (Li et al., 2019). Kurangnya aliran darah dibawah 50-55 ml/100gr/menit menyebabkan kondisi iskemia yang selanjutnya akan menurunkan suplai oksigen dan glukosa.

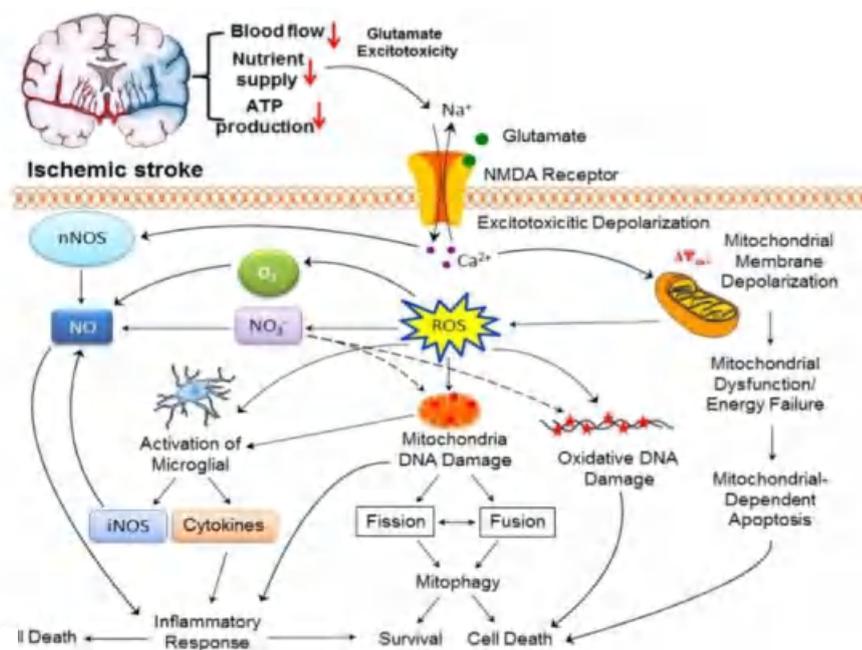
Patofisiologi strok sangat kompleks dan melibatkan berbagai proses yaitu kegagalan energi, eksitotoksik, stress oksidatif, kerusakan sawar darah otak, inflamasi, nekrosis atau apoptosis dan seterusnya menjadi suatu kaskade iskemik (Guo et al., 2013; Lakhan et al., 2009). Hipoperfusi menyebabkan kekurangan oksigen dan glukosa di jaringan otak, menyebabkan penurunan secara cepat *Adenosin Tri Phosphate* (ATP) yang merupakan media utama tubuh untuk pertukaran energi. Deplesi ATP

ah sel melakukan fungsi dasar, aktivitas pompa natrium-kalium -ATPase) ditekan, menyebabkan perubahan potensial istirahat dan



akumulasi ion Na^+ intraseluler. Kondisi ini memicu depolarisasi anoksik dan edema sitotoksik. Depolarisasi anoksik menyebar ke seluruh penumbra yang menyebabkan pelepasan neurotransmitter seperti glutamat menjadi tidak terkontrol yang dapat meningkatkan kerusakan jaringan otak.

Depolarisasi juga secara signifikan meningkatkan konsentrasi glutamat. Neurotransmitter ini mengaktifkan reseptor *N-Methyl-D-Aspartate* (NMDA), meningkatkan konduktivitas Na^+ ; efek osmotik ion menyebabkan edema sitotoksik. Reseptor NMDA yang hiperaktif meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} , yang menyebabkan disfungsi mitokondria karena peningkatan permeabilitas, peningkatan produksi radikal bebas, dan aktivasi fosfolipase dan kaspase, yang menyebabkan kematian sel oleh apoptosis (Iadecola & Anrather, 2011).



r 2.1 Kaskade iskemik pada neuron saat terjadi strok (Yang et al., 2018)



Pada saat hipoperfusi, terjadi influx Ca secara berlebihan yang menyebabkan disfungsi mitokondria dan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang akan menimbulkan berbagai proses patologi yaitu apoptosis, fusi dan fisi mitokondria, mitofagi dan kerusakan DNA sebagai respon terhadap inflamasi. Beberapa proses tersebut dapat berakhir pada kematian sel.

Ada dua bentuk kematian sel yaitu nekrosis dan apoptosis. Pada cedera iskemik, beberapa sel otak akan mengalami apoptosis yang berlawanan dengan nekrosis dimana terjadi kerusakan sel minimal dan sedikit mengalami gangguan pada sel sekitarnya. Pada tahap ini terjadi peradangan atau pelepasan materi genetik dan sangat potensial untuk mengalami perbaikan beberapa saat setelah onset stroke (Guo et al., 2013).

2.2 Neuroinflamasi Pada Stroke Iskemik

2.2.1 Peranan sistem imun pada stroke

Imunitas dan inflamasi merupakan elemen kunci dalam patofisiologi stroke. Sistem imun berespon terhadap iskemia dan kerusakan otak dan pada saatnya akan memunculkan efek immunosupresi yang dapat mengancam bagi penderita stroke. Signal inflamasi terdapat pada semua tahapan kaskade iskemik, mulai dari kerusakan awal yang dipicu oleh oklusi arteri sampai pada proses regenerasi lanjut yang mendasari terjadinya



in jaringan. Saat ini telah terbukti bahwa stroke melibatkan sistem kekebalan maupun adaptif. Meskipun imunitas adaptif yang dipicu oleh

antigen otak yang baru terpapar tidak berdampak pada kerusakan fase akut, namun modulasi imunitas adaptif dapat memberikan efek neuroprotektif pada otak yang mengalami iskemik (Iadecola & Anrather, 2011)

Banyak mediator inflamasi yang terlibat pada kejadian strok termasuk molekul adhesi (misalnya, *P-selectin*), sitokin (misalnya, IL-1, IL-6), kemokin (misalnya, CCL2), dan *protease* (misalnya, matriks metalloproteinase-9). Selanjutnya, semua sel otak (seperti sel glial, sel endotel, dan neuron) dan sel imun perifer (seperti neutrofil dan limfosit) berkontribusi dalam inflamasi pasca strok.

Proses inflamasi dimulai di intravaskuler segera setelah adanya oklusi pada arteri. Ketika terjadi hipoksia, produksi ROS memicu kaskade koagulasi yang menyebabkan aktivasi komplemen, trombosit dan sel endotel. Dalam beberapa menit adhesi molekul P-selektin akan bergeser ke permukaan membran trombosit dan sel endotel dan memulai signal proinflamasi (gambar 2.2). Stres oksidatif dalam sel endotel mengurangi bioavailabilitas *nitric oxide* (NO), yang merupakan vasodilator kuat dan penghambat agregasi trombosit dan adhesi leukosit. Hilangnya efek NO ini memperburuk oklusi intravaskular dan memperburuk gangguan iskemik dengan mengurangi aliran darah ke teritori iskemik. Selanjutnya, stres oksidatif menyebabkan penyempitan perisit, sel kontraktil yang menggantikan miosit di kapiler, menghasilkan lebih banyak oklusi



skular. Stres oksidatif dan mediator inflamasi juga mengubah viskositas sawar darah otak, yang meningkatkan jumlah vesikel

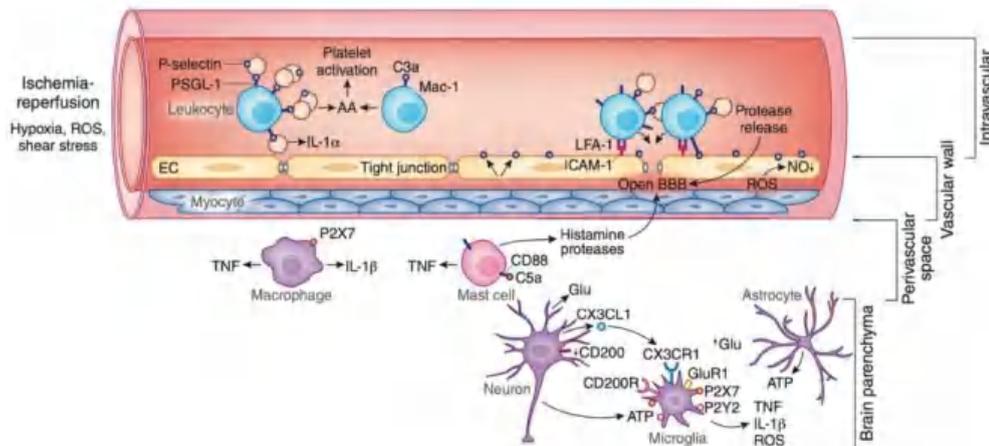
pinositotik dalam sitoplasma sel endotel serta meningkatkan transpor transendotel. Protease diekspresikan dalam sel vaskular dan dilepaskan oleh leukosit, sedangkan protein *junctional* yang menutup sel endotel yang berdekatan diturunkan regulasinya, memfasilitasi ekstravasasi protein dan sel melalui jalur paraseluler.

Di dalam lumen vaskuler, iskemia dan reperfusi menyebabkan pembekuan darah, agregasi trombosit, pelepasan sitokin IL-1 α dan pelepasan Asam Arakhidonat (AA). Pada dinding pembuluh darah terjadi adhesi yang kuat dari leukosit oleh ikatan ICAM-1 dan LFA-1. Hilangnya Nitrit Oksida menyebabkan vasokonstriksi dan makin menguatkan agregasi leukosit-trombosit. Aktifnya *Matrix Metalloproteinase* kemudian dapat memicu kebocoran sawar darah otak dan menyebabkan ekstravasasi leukosit. Di perivaskuler, sel mast menghasilkan sitokin (TNF, IL-1 β) dan makrofag untuk memberikan signal bagi leukosit untuk melewati dinding pembuluh darah. Di parenkim otak, sel yang mengalami injuri melepaskan ATP yang berperan sebagai signal proinflamasi awal bagi pembentukan sitokin dan kemokin. Setelah kematian sel, hilangnya interaksi neuronal-mikroglia juga akan mengaktifkan signal proinflamasi. Sebagai contoh yaitu interaksi CD200 dan CX3CL1 yang terganggu akan memicu peningkatan glutamate ekstraseluler. Proses ini kemudian akan mengaktifkan metabotropik reseptor glutamate pada mikroglia yang memunculkan fenotip



nasi. Oleh karena itu, kematian sel yang terjadi pada inti iskemik menyebar ke penumbra dan hilangnya efek immunosupresif oleh

rusaknya ikatan neuronal-mikroglia akan memperparah inflamasi.



Gambar 2. 2 Proses inflamasi yang terjadi pada intravaskuler, dinding vaskuler, perivaskuler dan parenkim otak yang dipicu oleh iskemia dan reperfusi. (Iadecola & Anrather, 2011)

Strok memicu reaksi neuroinflamasi yang meliputi aktivasi mikroglia dan invasi leukosit. Sel T adalah kontributor utama pada proses neuroinflamasi. Sel T helper pro inflamasi (Th1, Th17) meningkatkan neuroinflamasi sedangkan anti inflamasi (sel T reg) dapat bertindak sebagai neuroprotektif (Singh et al., 2018). Pada studi ini juga didapatkan adanya peningkatan sitokin pro inflamasi yang berhubungan dengan aktivasi mikroglia yaitu $IL-1\beta$ dan $TNF-\alpha$.

Kaskade inflamasi dimulai segera ketika aliran darah stagnan yang dihasilkan dari lesi iskemik atau hemoragik. Pelepasan mediator proinflamasi seperti $TNF-\alpha$, $IL-1$, $IL-6$ dan matriks metalloproteinase-9 (MMP-9) dari endothelium dan parenkim otak semakin menambah potensi

aringan. Selain itu, *danger/damage-associated molecular patterns* dihasilkan dari neuron yang cedera. Target utama inflamasi adalah



kerusakan *Blood Brain Barrier* (BBB) atau unit neurovaskular. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa permeabilitas BBB tetap meningkat terutama pada fase akut (6-48 jam setelah onset strok) karena kaskade inflamasi. Oleh karena itu, DAMP dan mediator proinflamasi dapat memperoleh akses ke sirkulasi sistemik melalui BBB yang rusak atau sistem drainase cairan serebrospinal (CSF) (Song et al., 2019).

Diantara berbagai jenis sel inflamasi perifer, neutrofil adalah yang pertama kali menginfiltrasi lesi (30 menit hingga beberapa jam), puncaknya lebih awal (24-72 jam) dan menurun dengan cepat seiring waktu. Secara lokal, neutrofil berpartisipasi dalam cedera otak dengan memperburuk stress oksidatif dan kerusakan BBB. Immunosupresi sistemik terjadi setelah fase akut karena interaksi *brain-immune* terganggu.

Selama inflamasi pasca strok, sel T menuju area otak yang mengalami iskemik dalam 24 jam pasca onset strok. Kontribusi dari berbagai sel T masih belum terlihat jelas. *Regulatory T cells* (Treg) dikenal sebagai bagian yang tidak terpisahkan dari regulasi imun dalam melawan respon berlebihan dari aktivasi imun. Treg berperan penting dalam supresi respon imun berlebih, menjaga *self-tolerance*, dan homeostasis imun. Defisiensi fungsi Treg (Foxp3, mutasi gen) dapat memicu berbagai jenis penyakit autoimun, imunopatologi, dan alergi. Treg terdiri dari berbagai jenis subpopulasi, termasuk natural Tregs, TH3, Tr1, CD8 Tregs, dan natural killer



NK Tregs). Diantara subpopulasi tersebut, natural Tregs yang memiliki ekspresi CD4, CD25, dan Foxp3 merupakan yang paling banyak

dipelajari dan dipahami. Natural Tregs perkembangannya di dalam timus sebagai subpopulasi sel T yang berbeda dengan peranan fungsi supresi.

Studi terkini menunjukkan *regulatory immune cells*, termasuk *regulatory T cells* (Treg) dan *regulatory B cells* berperan sebagai modulator endogen dalam mengontrol respon imun pada cedera otak. Perhatian dikhususkan pada potensi terapi dari Treg pada kasus stroke iskemik. Treg dikarakterisasikan sebagai ko-ekspresi penanda permukaan sel CD4 dan CD25 (IL-2Ra) dan diekspresikan oleh faktor transkripsi forkhead box p3 (Foxp3). Treg diklasifikasikan menjadi: terjadi secara alamiah, *thymus-derived* Treg (nTreg) dan Treg induksi (iTreg) yang berasal dari CD4⁺CD25⁻ T cells pada organ limfoid sekunder dalam responnya terhadap paparan antigen. Fungsi utama Treg yaitu menekan proliferasi dan fungsi dari sel imun lainnya, terutama effector T *lymphocytes* dan untuk menjaga homeostasis imunitas. Efek protektif dari Treg pada stroke iskemik pertama kali didokumentasikan oleh Liesz A dkk., Dilaporkan bahwa deplesi Treg menggunakan antibodi spesifik CD25 menyebabkan kerusakan jaringan dan fungsi neurologis memburuk 7 hari setelah stroke iskemik.

FoxP3⁺CD25⁺CD4⁺ Treg merupakan imunomodulator yang bersifat neuroprotektif pada pasien stroke, walaupun efeknya masih bersifat kontroversial. Hal ini tidak hanya dibuktikan dari model hewan coba, namun berdasarkan studi klinis pada pasien stroke. Chen et al. (2013) menemukan



terjadi peningkatan aktivasi sel B dan T serta peningkatan jumlah sel CD25⁺CD4⁺ di darah perifer pasien setelah stroke iskemik

dibandingkan kontrol. Peningkatan ini ditemukan hingga akhir fase akut, sekitar hari ke 14 dan bertahan hingga 30 hari. Peningkatan Sel Treg CD25+CD4+ Ini juga paralel dengan peningkatan mikroglial MHCII+, menandakan peran mikroglial dalam mempertahankan Treg pada fase lanjutan stroke.

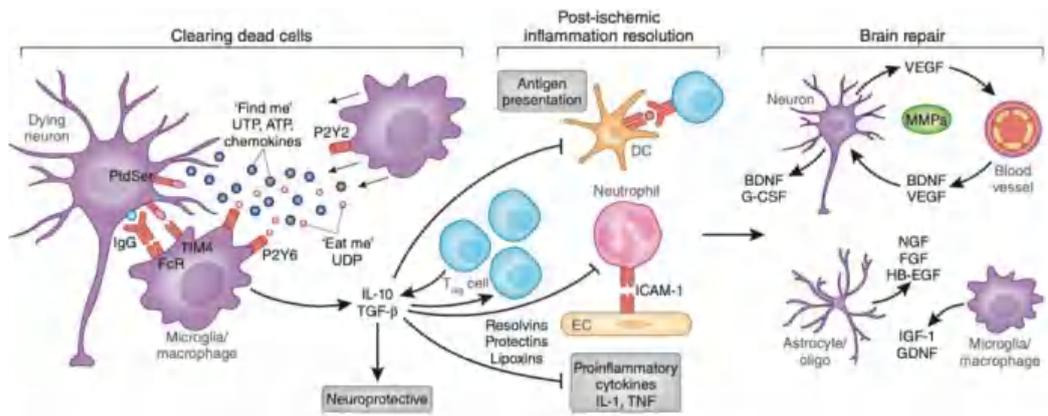
2.2.2 Resolusi Inflamasi dan Perbaikan Jaringan

Inflamasi post iskemik merupakan proses *self-limiting* yang akan mempersiapkan reorganisasi dari otak yang mengalami *injury*. Beberapa Langkah utama dalam proses ini adalah pembersihan sel-sel mati dan debris jaringan pasca stroke, pembentukan anti inflamasi serta pembentukan faktor rekonstruksi jaringan. Mikroglia dan makrofag memiliki peran dalam membersihkan sel-sel mati. Signal yang dilepaskan termasuk adanya ATP menarik mikroglia dan makrofag ke *injury site*. Proses fagositosis tersebut menghasilkan sitokin anti inflamasi *transforming growth factor- β* (TGF- β) dan IL-10 yang juga memiliki efek neuroprotektif. Oleh karena itu produksi sitokin tersebut akan membantu proses perbaikan jaringan dengan peningkatan resolusi inflamasi dan efek sitoprotektif yang akan mempertahankan sel pada area iskemik. Meskipun TGF- β (TGF- β) memiliki efek proinflamasi, namun dapat juga menekan inflamasi dengan menghambat respon T helper tipe 1 (Th 1) dan T helper 2 (Th 2) dan atkan sel T regulator. Sama halnya dengan sitokin IL-10 yang isi oleh beberapa sel termasuk T reg memiliki aktifitas neuroproteksi



dan antiinflamasi.

Setelah proses resolusi inflamasi, terbentuk *growth factor* yang membantu dalam proses berikutnya yaitu neuronal *sprouting*, *neurogenesis*, angiogenesis, gliogenesis dan reorganisasi matriks. *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) dan *Matriks Metalloproteinase* (MMP) dihasilkan oleh sel endotel, neuron, astrosit, oligodendrosit dan mikroglia yang berperan dalam perbaikan jaringan otak (Chen et al., 2013; Iadecola & Anrather, 2011).



Gambar 2. 3 Proses perbaikan jaringan otak sebagai respon inflamasi setelah terjadinya iskemia serebral

Produksi *Growth Factor* post iskemik membantu dalam proses neuronal *sprouting*, neurogenesis, angiogenesis, gliogenesis dan reorganisasi matrix. Sel-sel inflamasi seperti halnya neuron dan astrosit mampu menghasilkan *growth factor* dengan cepat. Sebagai contoh, produksi *insulin-like growth faktor* 1 (IGF-1) yang berfungsi dalam neuronal



g, *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) berperan dalam reorganisasi post stroke yang dihasilkan oleh astrosit reaktif serta *Brain*

Derived Neurotrophin Factor (BDNF) yang berperan dalam neurogenesis, dan proses ini dimediasi oleh netrofil *Matrix Metalloproteinase* (MMPs) yang menunjukkan adanya hubungan antara sel inflamasi dan angiogenesis. (Iadecola & Anrather, 2011)

2.3 Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) dan ekspresi mRNA

BDNF

Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) merupakan protein yang memegang peranan penting dalam neuroplastisitas setelah terjadinya stroke. BDNF akan mendorong migrasi dan mitosis dari sel sel neuron untuk memicu perbaikan fungsi motorik pasien stroke. (Lima Giacobbo et al., 2019; Prodjohardjono et al., 2020).

Pada otak, BDNF banyak diekspresikan pada daerah otak dengan tingkat plastisitas yang tinggi, yaitu di hipokampus, hipotalamus, dan korteks. Selain di otak, BDNF juga terekspresi pada retina, motor neuron, ginjal, air liur, dan prostat. BDNF berperan pada neuron sistem saraf pusat untuk mendukung keberadaan neuron, membantu pertumbuhan dan diferensiasi neuron baru, meningkatkan sinaptogenesis, berperan dalam neurogenesis, serta mampu melindungi *Neural Stem Cells* (NSC) dan *Neural Precursor Cells* (NPC) (Mudjihartini, 2021).

Neurotrofin adalah mediator molekul penting terhadap struktur dan *neuroplastisitas* yang mampu melindungi neuron terhadap berbagai an otak. Terdapat tiga jenis faktor neurotrofin yang berperan dalam



fungsi tersebut yaitu BDNF, *Nerve Growth Factor* (NGF) dan *Glial Cell derived neurotrophic factor* (GDNF). Dari ketiga neurotrofin tersebut, BDNF telah banyak diteliti dalam peranannya dalam differensiasi seluler, pertumbuhan neuron dan pertahanannya, synaptogenesis, migrasi seluler, plastisitas sinaptik neuron dan keterlibatannya dalam proses neurogenesis. Reseptor BDNF yaitu *Tropomyosin receptor kinase B* (TrkB). Pada otak yang sehat, neurotropin sebagian besar berasal dari sel neuron dan selebihnya dari sel-sel darah perifer dan sel-sel pada sistem imun. Pada Sistem saraf pusat, BDNF yang matur merupakan mediator dalam plastisitas sinaptik, percabangan dendritik, regulasi neurotransmitter inhibisi dan eksitasi serta pertumbuhan saraf. BDNF dapat terdeteksi dalam serum dan terutama dalam trombosit,

Beberapa studi mengemukakan bahwa kadar BDNF tergantung dari tingkat aktifitas seseorang, makin aktif secara fisik dan sosial meningkatkan kadar BDNF sementara sebaliknya gaya hidup sedentary dan obesitas menurunkan konsentrasi BDNF. Pada individu yang sehat, rendahnya kadar BDNF berkaitan dengan peningkatan risiko strok atau *Transient Ischemic Attack* (TIA). Pada strok akut rendahnya kadar BDNF berhubungan dengan rendahnya skor NIHSS, besarnya volume infark dan outcome fungsional jangka panjang yang buruk (Karantali et al., 2021).

Perubahan kadar BDNF serum pernah dilaporkan pada kasus penyakit neurodegenerative dan gangguan psikiatrik seperti *Alzheimer* demensia dan *schizophrenia*. Konsentrasi BDNF yang rendah



terutama pada risiko penyakit serebrovaskuler dan sindrom metabolik, sementara korelasi negatif didapatkan pada indeks massa tubuh, profil lipid, dan tekanan darah (Retnaningsih et al., 2021).

Sejumlah besar studi telah melaporkan rendahnya kadar BDNF serum pada strok iskemik akut dibandingkan dengan kontrol sehat sehingga ada upaya pemberian nanopartikel intravena untuk meningkatkan kadar BDNF pada pasien strok untuk meningkatkan efisiensi terapi (J. Wang et al., 2019a). Dalam studi Prodjohardjono et al., (2020) kadar BDNF serum menjadi prediktor dari luaran fungsional pada strok iskemik akut maupun kronik pada dua kelompok independent dan dependen dimana didapatkan kadar BDNF serum pada kelompok yang independen lebih tinggi dibanding pada kelompok dependen. Sebagai molekul kunci neuroplastisitas, BDNF diekspresikan dalam banyak tipe sel termasuk neuron dan sel glia. Peningkatan ekspresi BDNF dalam sistem saraf pusat sebagai respon terhadap berbagai rangsangan menunjukkan peranan neuroprotektor.

BDNF telah diteliti dalam berbagai gangguan neuropsikiatrik. Peningkatan mRNA dari BDNF di hippocampus dideteksi dalam 24 jam pertama setelah injuri. Aspek biologi BDNF dan lokalisasi sub selular protein di neuron sistem saraf pusat orang dewasa masih kurang jelas kemungkinan karena tingkat BDNF endogen yang sangat rendah. BDNF di angkut dan dilepaskan dari akson dan dendrit. Gen BDNF diekspresikan

ng dari aktifitas neuron, dengan tingkat protein meningkat sebesar
at selama 3 minggu pertama setelah kelahiran, terus berkembang



sejalan dengan perkembangan aktifitas sinaptik.

Pada otak tikus, mRNA BDNF terdeteksi selama perkembangan embrionik dan mencapai puncaknya paada hari ke 10-14 *postnatal* dan akan menyebar ke seluruh otak pada usia dewasa dan terkonsentrasi di hipokampus. Regulasi mRNA BDNF tergantung terutama pada aktifitas neuronal melalui reseptor asam n-metil-D-aspartat (NMDA) non-metil sistem glutamat selama upregulasi dan melalui sistem g-aminobutyric acid (GABA) untuk downregulasi. Ekspresi neuron dari mRNA BDNF sangat dinamis dan dipengaruhi oleh berbagai rangsangan fisiologis, neurotransmitter, hormon dan keadaan patologis. Dalam neuron imatur, BDNF terlibat dalam pertumbuhan, diferensiasi, pematangan, dan kelangsungan hidup, sedangkan pada neuron dewasa memainkan peran penting dalam plastisitas sinaptik, penguatan neurotransmisi dan regulasi sensitivitas reseptor. mRNA BDNF diterjemahkan dalam retikulum endoplasma menjadi protein prekursor (pro-BDNF) yang dilipat dalam trans Golgi, dikemas ke dalam vesikel sekretori dan dilepaskan terutama melalui jalur sekresi pengatur dalam menanggapi rangsangan atau secara spontan melalui jalur konstitutif. Pro-BDNF secara proteolitik akan dibelah menjadi BDNF dewasa oleh aktivator plasminogen jaringan protease sebagai respon terhadap aktifitas neuron.

Kadar BDNF plasma pada orang sehat rata-rata 92,5 ng/ml, lebih pada wanita dan akan menurun dengan bertambahnya usia pada jenis kelamin. Korelasi positif antara kadar BDNF dalam darah dan



tekanan darah diastolik, kolesterol total, *low density lipoprotein* (LDL), jaringan lemak, indeks massa tubuh dan trigliserida telah dilaporkan. Terdapat polimorfisme nukleotida tunggal gen BDNF pada manusia yang melibatkan asam amino Valine dan Methionin yang bertukar pada posisi 66 (Val66Met) yang berdampak pada proses pematangan BDNF, sehingga menyebabkan penurunan aktifitas sekresi neurotrofin dan dapat berkontribusi pada munculnya berbagai gangguan psikotik (Béjot et al., 2011; Maqsood & Stone, 2016).

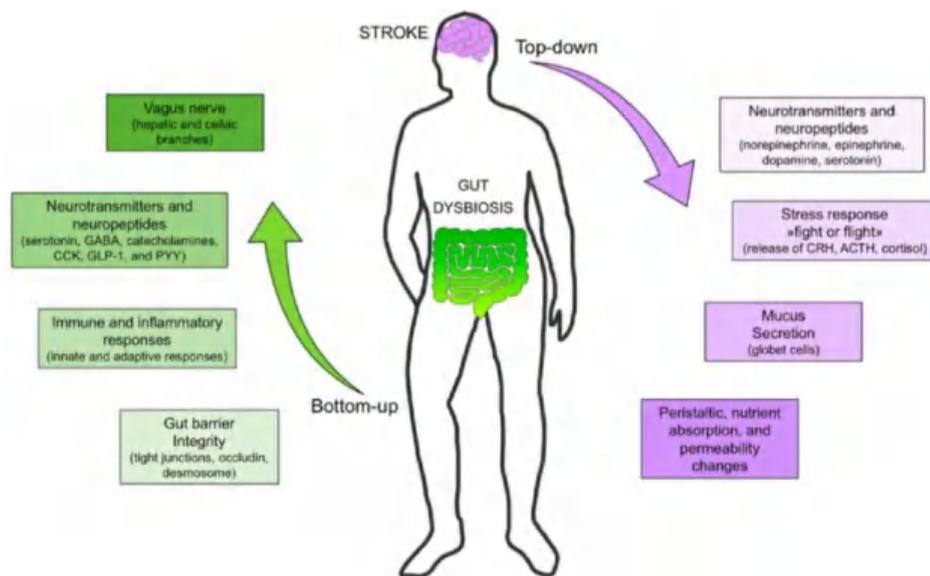
2.4 Brain Gut Axis

Peran traktus gastrointestinal terhadap otak pada manusia telah diketahui sejak abad ke-19 namun analisis terbaru menunjukkan adanya rute bidireksional antara traktus gastrointestinal dan sistem saraf pusat yang dikenal sebagai *Brain-Gut Axis* (BGA) (Maqsood & Stone, 2016). Terdapat kontribusi neuronal dan hormonal pada BGA. Komponen Neuronal dimediasi oleh Nervus Vagus yang memiliki komponen sensoris dan motoris yang mayoritas aferen yang mendasari komunikasi usus ke otak. Komponen hormonal dimediasi oleh *hypothalamic-pituitary-adrenal axis* (HPA axis), dan sistem imun di tingkat sentral. HPA axis merupakan mekanisme kunci dalam menghubungkan antara otak dan usus, terutama sebagai respon terhadap stres dan stimulus. Sistem saraf otonom, setelah



Integrasikan sinyal neuronal dan neuroendokrin, memodulasi tonus usus, meningkatkan inflamasi pada jaringan usus, dan mengurangi jumlah sel goblet di cecum, dan mengganggu produksi mucin

pada usus. Sistem otonom bertanggung jawab dalam mengontrol motilitas usus, permeabilitas, mengontrol cairan, sekresi empedu, produksi bikarbonat dan mukus, menjaga cairan di usus, dan respon neuroimun di mukosa. Hubungan perifer dari usus terhadap otak terdiri dari sistem saraf enterik dan sistem saraf otonom, sepanjang sistem saraf otonom dan variasi jalur neuroimunologi dan neuroendokrin (**Gambar 2.4**) termasuk serotonin, *gamma-amino butyric acid* (GABA), katekolamin, kolesistokinin, *glucagon-like peptide-1*, dan *neuropeptide Y*. Sinyal dihantarkan melalui stimulasi cabang hepar dan celiac melalui nervus vagus oleh kandungan dari *microbial*, metabolit, dan hormon yang dilepaskan oleh usus dibawa melalui cabang aferen vagus ke otak (Battaglini et al., 2020b)



Gambar 2. 4 Signal bottom-up dan top-down pada brain-gut-axis. [SCFA, short chain fatty acid; DA, dopamine; 5HT, serotonin; Ig, immunoglobulin; eptida YY; GLP-1, glucagon-like peptide-1; CKK, cholecystokinin; ̳ABA, gamma amino butyric acid] (Battaglini et al., 2020b).

rain-Gut-Microbiota Axis Pada Strok Iskemik Akut



Respon inflamasi lokal dan sistemik meningkat setelah terjadinya stroke iskemik akut. Monosit (sebagai respon bawaan) mencapai otak dalam kurun waktu 24 jam, mencapai jumlah durasi maksimum sekitar 3-5 hari setelah stroke iskemik akut. Monosit berdiferensiasi menjadi makrofag dengan penanda molekul yang berbeda dari mikroglia. Monosit inflamasi memberikan respon protektif pada kasus stroke iskemik akut di hewan coba mencit, meskipun peran monosit tersebut masih belum jelas. Neutrofil memiliki peranan yang kontroversial pada kasus stroke iskemik akut. Walaupun terdapat beberapa mekanisme (seperti produksi ROS dan pelepasan metalloproteinase) dihubungkan dengan peran neutrofil, namun telah dilaporkan adanya neutrofil N2 sebagai efek neuroprotektif. Studi terkini pada tikus mengidentifikasi adanya *Triggered Receptor expressed on Myeloid Cells* (TREM)-1 yang merupakan target farmakoterapi dalam menurunkan respon proinflamasi di sel myeloid perifer dan intestinal setelah mengalami stroke.

TREM 1 merupakan sangat poten dalam meningkatkan respon imun innate, berperan dengan efek sinergi terhadap PRRs (*Pattern Recognition Receptor*) klasik, dengan demikian menginduksi produksi sitokin proinflamasi dan kemokin, termasuk IL-8, *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), MCP-3, dan *macrophage inflammatory* (MIP-1 α), dan inhibisi dari IL-10. Selain itu, mekanisme neurotoksik mengaktivasi an sitokin pro-inflamasi seperti interleukin-21 dari *cluster of* *iation* (CD)-4⁺ T cells dalam 24 jam pasca stroke iskemik akut dan



IL-17 dari $\gamma\delta$ T-cells. IL-17 berperan dalam *recall* neutrofil melalui mekanisme pelepasan kemokin, sedangkan IL-21 dan perforin melepaskan efek neurotoksik langsung ke otak. Uji coba klinis tidak menunjukkan hasil yang memuaskan dari efek penghambatan neutrofil pada pasien strok iskemik akut. Pada 2-3 hari pertama pasca strok iskemik akut, limfosit mencapai area lesi iskemik (membentuk respon adaptif). Khusus subpopulasi Th-1 dan Th-17 mengaktivasi neuroinflamasi, sedangkan sel Treg memberikan efek neuroprotektif karena efek antiinflamasinya. Dampak dari hal tersebut masih belum jelas mengenai efek negatif dari sel Treg pasca strok iskemik akut. Pelepasan sitokin dan kemokin menuju sirkulasi sistemik terjadi di otak pasca strok iskemik akut yang berdampak pada mikrobiota dan disbiosis. Sel limfosit T, terutama regulatory (Treg) dan $\gamma\delta$ T-cells, memiliki peranan penting pada mikrobiota dalam memodifikasi ukuran infark dan fungsi neurologi pasca strok iskemik akut. Limfosit T menunjukkan adanya migrasi dari plak Peyer di usus halus atau lamina propria dari usus menuju otak dan/atau leptomeningen pada pasien strok iskemik akut. Peningkatan permeabilitas usus setelah strok iskemik akut menyebabkan terjadinya translokasi bakterial dan infeksi paru pada hewan coba mencit. Respon inflamasi lokal di usus pada pasien strok iskemik akut divisualisasikan dalam gambar 2.5.

Immunogenic endotoxin dari mikrobiota, seperti lipopolisakarida



lapat mencetuskan terjadinya neuroinflamasi melalui mekanisme yang atau dengan menginduksi migrasi sel imun perifer menuju otak.

Eksperimen pada kera *cynomolgus* dengan strok iskemik akut terjadi peningkatan kadar LPS persisten dan sitokin pro-inflamasi di plasma, yang berhubungan dengan banyaknya filum *Bacteroidetes* pada mikrobiota usus. Hal ini kemudian menyebabkan disbiosis dan kerusakan mukosa pada usus yang menetap hingga 12 bulan pasca strok iskemik akut. Bukti klinis menyimpulkan bahwa pasca terjadinya strok iskemik akut terjadi perubahan flora komensal menjadi patogen, seperti *Enterobacter*, *Megasphaera*, *Oscillibacter*, *Desulfovibrio*, *Odoribacter*, dan *Akkermansia*. Walaupun beberapa mekanisme respon imun dari mikrobiota pasca strok iskemik akut telah teridentifikasi, namun mekanisme modulasi mikrobiota pada strok iskemik akut masih belum dipahami secara lengkap (Battaglini et al., 2020; Eyileten et al., 2021).

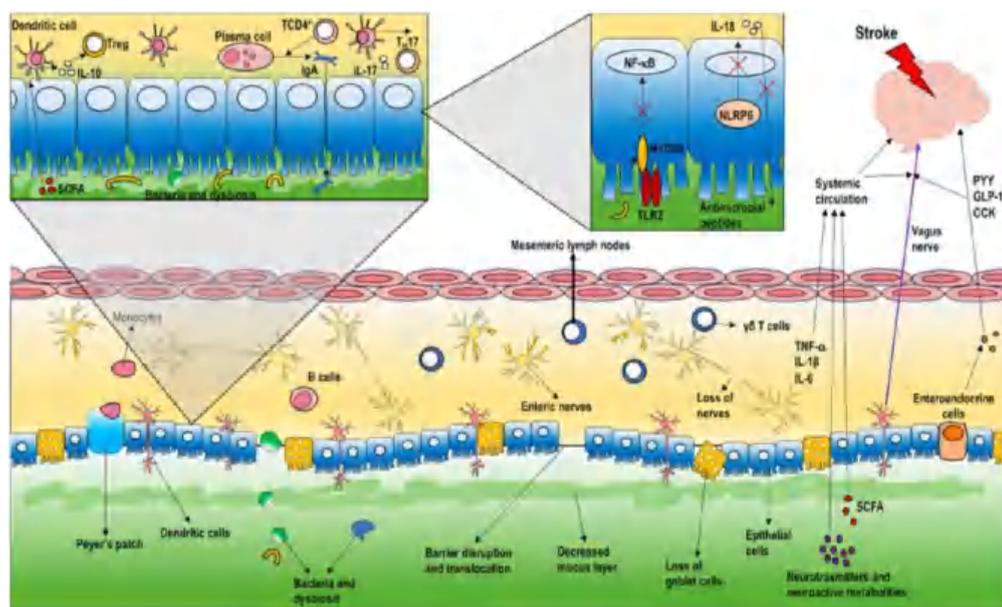


Figure 2.5 Respon inflamasi lokal dari usus pada strok iskemik. [PYY, peptide YY; GLP-1, glucagon-like peptide-1; CCK, cholecystokinin; IL-6, interleukin-6; TNF-α, tumor necrosis factor-α; CD, cluster of differentiation; MYD88, myeloid differentiation primary response protein; NOD1, nucleotide binding oligomerization domain-containing protein 1; NLRP6, nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 6]

domain-containing protein receptor; CRH, corticotropin releasing hormone; ACTH, adrenocorticotropin hormone] (Battaglini et al., 2020b)

Respon awal dari intestinal terhadap strok iskemik akut, barrier usus yang terganggu, dengan demikian mengorbankan kemampuan mikrobiota dalam melawan patogen usus. Mikrobiota merangsang pelepasan metabolit, neurotransmitter, *indoles*, *short-chain fatty acids*, dan asam empedu hingga mencapai otak, dengan demikian modulasi neuron, mikroglia, astrosit, dan fungsi unit neurovaskular. Aferen vagal mengaktivasi sistem neuroendokrin untuk melepaskan peptida peptida YY (PYY), *glucagon-like peptide-1* (GLP-1), *cholecystokinin* (CCK), sebagai respon inflamasi terhadap pelepasan peningkatan sitokin pro-inflamasi (seperti interleukin (IL)-21) dari Sel T CD⁴⁺ dan IL-17 dari $\gamma\delta$ T-cells. IL-17 berperan dalam pemanggilan kembali neutrofil melalui pelepasan kemokin. Bahkan, limfosit T bermigrasi dari plak Peyer di usus halus atau dari lamina propria usus ke otak dan/atau leptomeningen. Seperti gambar diatas, hilangnya diferensiasi myeloid primer sebagai respon protein (MYD)-88 pada sel epithelial menyebabkan peningkatan translokasi bakteri dan perubahan mikrobiota bakteri. *Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein (NOD)-like receptors-6* (NLRP6) terlibat dalam menjaga stabilitas mikrobial usus. Umumnya, protein NLR membentuk kompleks multiprotein yang dinamakan inflammasome, mengaktivasi sekresi IL-1 β dan IL-18 dan perubahan beberapa sel imun. Sel B juga berperan penting homeostasis mikrobiotik melalui sekresi imunoglobulin A, disekresikan oleh TCD4+ ke sel plasma. Sebagai tambahan sel dendritik



distimulasi oleh *T regulatory cells* untuk meningkatkan sekresi IL-10. (Battaglini et al., 2020b)

2.4.2 Disbiosis Usus pada Strok

Strok iskemik berkaitan dengan timbulnya perubahan pada bakteri usus serta asam organik yang dihasilkan oleh bakteri usus tersebut. Yamashiro dkk pada tahun 2017 meneliti komposisi mikrobiota usus berdasarkan pemeriksaan tinja pada 41 pasien strok dan 40 kontrol menggunakan *quantitative reverse transcription* PCR dan analisis *high performance liquid chromatography*. Pada penelitian tersebut, ditemukan bahwa pasien dengan strok iskemik berkaitan dengan peningkatan *Atopobium* dan *Lactobacillus ruminis* dibandingkan kontrol, serta penurunan *Lactobacillus sakei*. Kelompok bakteri *L. ruminis* dilaporkan dapat membentuk protein flagellin dan menginduksi produksi sitokin proinflamasi IL-8 pada sel epitel usus manusia yang dikultur. Pada penelitian ini, peningkatan *L. ruminis* berkorelasi positif dengan kadar Interleukin-6 (IL-6). Hal ini dapat berkontribusi terhadap inflamasi pada pasien strok (K. Yamashiro et al., 2021; Y. Yamashiro, 2017)

Penelitian lain yang meneliti mikrobiota usus pada kondisi strok dilakukan oleh Xia dkk. pada tahun 2019. Penelitian ini menganalisis dan membandingkan pola mikrobiota usus pada 104 pasien strok iskemik subtipe *large artery atherosclerosis* dan 90 individu sehat sebagai kontrol,



memformulasikan sebuah index yang disebut dengan *Strok Dysbiosis* (SDI). SDI bertujuan untuk mengetahui dampak disbiosis mikrobiota

usus pasien strok terhadap derajat keparahan strok iskemik dan luaran klinis. Penelitian ini menemukan bahwa terdapat 18 mikrobiota yang memiliki jumlah berbeda secara signifikan antara pasien strok dan pasien kontrol (individu sehat) seperti yang terlihat pada tabel 2.1 (Xia et al., 2019).

Tabel 2.1 Biomarker mikrobiota pada strok (Xia et al., 2019)

Genera	Banyak pada	Genera	Banyak pada
Knoellia	Kontrol	Butyricimonas	Strok
Prevotella	Kontrol	Parabacterioides	Strok
Un Clostridiaceae	Kontrol	Un Rikenellaceae	Strok
Coprococcus	Kontrol	Un Ruminococcaceae	Strok
Lachnospira	Kontrol	Oscillospira	Strok
Roseburia	Kontrol	Bilophila	Strok
Fecalibacterium	Kontrol	Un Enterobacteriaceae	Strok
Un Erysipelotrichaceae	Kontrol		
Un Caulobacteraceae	Kontrol		
Un Bradyrhizobiaceae	Kontrol		
Haemophilus	Kontrol		

2.4.3 Mikrobiota

Sistem pencernaan manusia merupakan organ yang paling banyak mengandung mikroorganisme yang dikenal dengan sebutan mikrobiota usus. Lebih dari 100 triliun mikrobiota dari 1000 spesies yang berbeda terdapat dalam sistem gastrointestinal dan berperan dalam sistem imunitas, nutrisi serta perkembangan manusia (Hasibuan & Kolondam, 2017) Keseimbangan mikrobiota sangat penting dalam menjalankan peranan tersebut. Sistem imunitas juga memiliki peran dalam mempertahankan keseimbangan atau homeostasis dengan mikrobiota. Oleh karena itu paradigma baru saat ini mengemukakan bahwa sistem imun mampu atkan kolonisasi bakteri namun tetap mempertahankan tuannya untuk melawan pathogen (Hooper et al., 2012).



Setiap manusia memiliki komposisi mikrobiota yang berbeda-beda. Hal ini tergantung dari diet, gaya hidup dan sumber bakteri pada waktu bayi. Seiring pertambahan usia, dapat terjadi perubahan mikrobiota yang dipengaruhi oleh ASI, penyakit di masa kecil seperti demam, makanan pendamping ASI, dan penggunaan antibiotik.

Mikrobiota pada orang dewasa sehat didominasi oleh 3 filum bakteri yaitu Firmicutes (famili *Lachnospiraceae* dan *Ruminococcaceae*), Bacteroidetes (famili *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, dan *Rikenellaceae*), serta *Actinobacteria* (famili *Bifidobacteriaceae* dan *Coriobacteriaceae*), dan satu methanogenic archaeon mayor, *Methanobrevibacter smithii* (Jandhyala, 2015; Maukonen & Saarela, 2015). Pada individu yang sehat, konsentrasi mikrobiota meningkat secara progresif dari lambung sampai usus besar dengan konsentrasi terbesar ditemukan distal ileum dan kolon (Blaut & Clavel, 2007).

2.5 Probiotik

Pada tahun 2002 oleh FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*) dan pakar kelompok kerja WHO (*World Health Organization*), menyatakan bahwa probiotik adalah "strain hidup mikroorganisme yang dipilih secara ketat yang, ketika diberikan dalam jumlah yang memadai, memberikan manfaat kesehatan pada tuan rumah".



iak & Ślizewska, 2017).

nsep prebiotik pertama kali dijabarkan pada tahun 1995 oleh

Gibson, definisi terkini perihal prebiotik yang disetujui oleh *the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (ISAPP): substrat yang secara selektif digunakan oleh mikroorganisme host dan memberikan keuntungan bagi kesehatan individu. Kelompok substansi yang bermanfaat bagi saluran cerna terdiri dari *non-digestible oligosaccharides* (NDOs), *soluble fermentable fibres*, *human milk oligosaccharides* (HMOs). NDOs merupakan karbohidrat dengan berat molekul rendah yang berada diantara gula sederhana dan polisakarida. Penggunaan NDOs sebagai prebiotik berkembang pesat karena diet yang tinggi NDOs memberikan kesempatan dalam perbaikan ekosistem *gut microbial*, termasuk populasi bakteri, profil biokimiawi, dan fisiologi. Serat memengaruhi rasa kenyang melalui dua mekanisme. Pertama seringkali mengunyah makanan berserat, akan membuat saliva dan produksi asam lambung meningkat, serta menyebabkan distensi gaster, memicu sinyal aferen vagal yang menyebabkan rasa kenyang. Mekanisme lainnya berupa perlambatan pengosongan lambung dan meningkatkan absorpsi glukosa pada usus halus. Sehingga, respon insulin dilemahkan; terkadang berkorelasi dengan rasa kenyang. Variasi hormon (seperti ghrelin, *polypeptide YY*, dan *glucagon-like peptide*) berhubungan dengan rasa kenyang, yang dikirimkan ke otak, untuk mengatur asupan makanan dan keseimbangan energi secara keseluruhan (Cerdó et al., 2017; Markowiak & Ślizewska, 2017)



da beberapa jalur yang dilalui probiotik dalam mempengaruhi dan fungsi otak selain hipotesis neurotransmitter yang saat ini

berkembang, yaitu jalur endokrin melalui kortisol, jalur imun melalui peran sitokin dan jalur metabolik melalui peran asam lemak rantai pendek (*Short Chain Fatty Acid*; SCFA). Salah satu regulator fisiologi pada tubuh manusia adalah HPA axis yang juga terlibat dalam peranan probiotik ini. Disregulasi HPA axis ini banyak terjadi pada penyakit-penyakit saraf sehingga HPA axis dapat diaktifkan dengan mikrobiota usus dengan meningkatkan permeabilitas barier usus dan status pro inflamasi yang mediasi oleh mikrobiota (Carabotti et al., 2015; Jandhyala, 2015)

Sumber probiotik dapat diperoleh dalam bentuk suplemen probiotik, proses fermentasi pada pengolahan makanan atau diisolasi dari alam baik dari buah, sayuran atau bahan makanan lainnya. Probiotik tambahan dapat diperoleh dalam bentuk tablet, bubuk, kapsul atau dalam bentuk cair. Ada ratusan strain probiotik tergantung kebutuhan dan semuanya bekerja dengan cara yang berbeda dalam tubuh. Tabel 2.2 menunjukkan mikroorganisme yang sering digunakan sebagai probiotik.

Selain probiotik, dikenal pula istilah prebiotik dan sinbiotik. Prebiotik merupakan bahan pangan yang tidak dapat dicerna dalam saluran cerna dan memberi pengaruh yang baik bagi mikroflora dengan cara menstimulasi sejumlah mikroba terutama *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria*. Secara sederhana prebiotik dapat diartikan sebagai makanan bagi probiotik secara alami dalam pencernaan. Sinbiotik merupakan kombinasi produk antara



dan probiotik. Beberapa studi menunjukkan efek sinergistik dari pada obesitas, diabetes, *non-alcoholic fatty liver disease*,

necrotizing enterocolitis pada bayi dengan berat lahir sangat rendah, dan terapi ensefalopati hepatikum. Selain itu, dilaporkan juga adanya manfaat dari sinbiotik pada gangguan perkembangan saraf (Cerdó et al., 2017; Maukonen & Saarela, 2015)

Tabel 2.2 Mikroorganisme probiotik yang digunakan pada nutrisi manusia

Type <i>Lactobacillus</i>	Type <i>Bifidobacterium</i>	Other Lactic Acid Bacteria	Other Microorganisms
<i>L. acidophilus</i> (a),*			
<i>L. amylovorus</i> (b),*			
<i>L. casei</i> (a),(b),*	<i>B. adolescentis</i> (a)		
<i>L. gasseri</i> (a),*	<i>B. animalis</i> (a),*	<i>Enterococcus faecium</i> (a)	<i>Bacillus clausii</i> (a),*
<i>L. helveticus</i> (a),*	<i>B. bifidum</i> (a)	<i>Lactococcus lactis</i> (b),*	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917 (a)
<i>L. johnsonii</i> (b),*	<i>B. breve</i> (b)	<i>Streptococcus thermophilus</i> (a),*	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>boulardi</i>) (a),*
<i>L. pentosus</i> (b),*	<i>B. infantis</i> (a)		
<i>L. plantarum</i> (b),*	<i>B. longum</i> (a),*		
<i>L. reuteri</i> (a),*			
<i>L. rhamnosus</i> (a),(b),*			

(a) Mostly as pharmaceutical products; (b) mostly as food additives; * QPS (Qualified Presumption of Safety) microorganisms.

Peranan probiotik pada strok

Aliran darah yang tidak adekuat menuju ke otak dapat menyebabkan kematian sel. Faktor perifer dan sistemik termasuk peningkatan respon inflamasi dapat memperburuk luaran strok. Studi terkait inflamasi terkait microbiota dan pemulihan strok sangat berkembang. Pada suatu penelitian di Cina yang melibatkan pasien *Transient Ischemic Attack* (TIA), pada feses didapatkan tiga bakteri komensal utama yang sangat kurang jumlahnya (*Bacteroides*, *Prevotella* dan *Faecalibacterium*) dan bakteri oportunistik lain yang sangat meningkat seperti *Enterobacter*, *Megasphaera* dan *Desulfovibrio*. Pasien dengan strok derajat berat memiliki jumlah

acteria yang melimpah dibandingkan dengan strok derajat ringan (et al., 2019).



Studi oleh Sherwin et al., (2018) menyebutkan bahwa probiotik bekerja dengan melindungi integritas barrier usus, meningkatkan GLP-1R serebral dan sekresi GLP-1 usus, serotonin dan modulasi hormon nafsu makan. Antibiotik terbukti memberikan hasil luaran yang buruk apalagi yang menyebabkan supresi sitokin pro inflamasi IL-17. Mikrobiota usus mempengaruhi besarnya peradangan saraf pasca stroke dengan memodulasi beredarnya sel T usus ke meninges. Penelitian meta analisis yang dilakukan oleh Lui et al. menyimpulkan bahwa probiotik pada nutrisi parenteral berguna untuk meningkatkan status gizi, berkontribusi pada prognosis klinis pasien stroke berat dengan pemberian nutrisi enteral, dan memberikan bukti klinis untuk probiotik dalam pengobatan pasien stroke berat (L. Liu et al., 2020; X. Liu et al., 2021a).

Mikrobiota pada *Brain Gut Axis* juga dibahas dalam sebuah penelitian yang melibatkan stroke dan mikrobiota, dimana ditemukan bahwa mengubah mikrobiota usus dapat mempengaruhi hasil stroke dengan mempengaruhi jalur neuroendokrin dan metabolisme termasuk sistem serotoninergik, asam γ -aminobutyric (GABA), kortisol plasma dan katekolamin (Savigamin et al., 2022).

Selain itu, data sebelumnya pada studi menggunakan hewan coba menemukan bahwa mikrobiota dapat berdampak pada sistem saraf pusat dengan menggunakan saraf vagus dan sinyal lokal termasuk histamin, in, melatonin, oksida nitrat dan hidrogen oksida, yang dapat arguhi sel enteroendokrin. Mikrobiota telah diketahui memainkan



peran penting dalam pematangan dan aktivasi mikroglial yang dapat mengubah perilaku (Savigamin et al., 2022).

2.6 Short Chain Fatty Acid (SCFA)

Short Chain Fatty Acid (SCFA) adalah golongan asam organik lemah dengan jumlah karbon sebanyak 1-6. SCFA terutama diproduksi oleh mikrobiota usus dalam kolon melalui fermentasi karbohidrat yang berasal dari tumbuhan dan juga protein atau peptida yang lolos dari pencernaan dan absorpsi di usus halus (Feng W, et al, 2020). Produksi SCFA oleh mikrobiota usus sangat berperan terhadap kesehatan namun sangat dipengaruhi oleh jumlah dan jenis serat makanan yang dapat difermentasi. Baxter et al, (2019) melaporkan bahwa serat yang dapat difermentasi tidak seluruhnya mempunyai kemampuan yang sama dalam menstimulasi produksi SCFA. Selain itu, komposisi mikrobiota individu turut menentukan apakah mikrobiota tersebut akan berespon terhadap suplemen makanan tertentu (Feng W, et al., 2020)

Fermentasi mikrobiota terhadap serat diet yang tidak diserap dalam usus halus tetapi dilanjutkan ke kolon akan menghasilkan metabolit antara lain SCFA. Terdapat tiga jenis SCFA utama yaitu butirat, asetat, dan propionat. Asetat merupakan SCFA yang terbanyak diproduksi disusul oleh propionat dan butirat dengan rasio molar 3:1:1. SCFA memainkan peran

dalam mengatur glukosa, lipid dan metabolisme energi, dan dapat



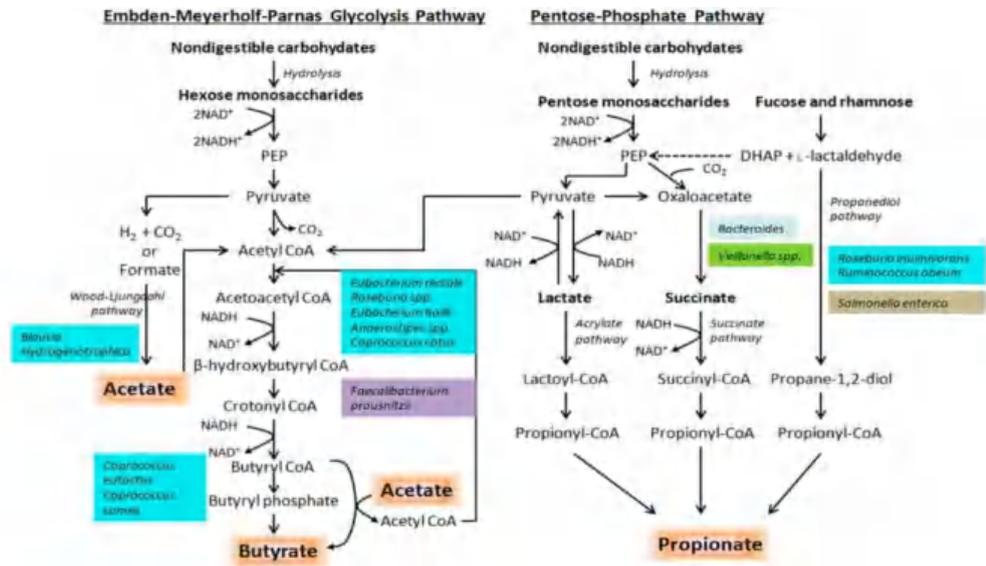
mengurangi risiko pengembangan gangguan pencernaan, kanker, dan penyakit kardiovaskular (Tungland, 2018; Feng W et al, 2020).

Mayoritas SCFA akan diabsorpsi oleh enterosit sebagai sumber energi tetapi sebagian akan dilepaskan melalui membran basolateral ke vena porta dan mencapai sirkulasi sistemik. Selain itu, SCFA yang telah diabsorpsi akan terlibat dalam regulasi proses intrasel seperti ekspresi gen, kemotaksis, diferensiasi, proliferasi, dan apoptosis. Rasio konsentrasi SCFA dalam lumen kolon ialah 60% asetat, 25% propionat, dan 15% butirat. Rasio molar dan kandungan SCFA di dalam kolon dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk strain dan jumlah mikrobiota usus, sumber substrat, genotip pejamu, dan waktu transit usus. Dengan meningkatnya produk yang bersifat asam maka pH lumen kolon proksimal menjadi lebih rendah yang dapat memengaruhi pertumbuhan mikroba pato-gen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella spp* (Cait A., et al, 2018; Yuan X., et al, 2018).

SCFA *ini* tidak hanya berfungsi sebagai sumber energi tetapi juga memiliki sifat vasoaktif. Selain itu, SCFA mempengaruhi sel inang melalui berbagai mekanisme, termasuk mengubah asetilasi histon dan proliferasi sel, serta aktivasi GPCR (reseptor berpasangan G-protein). Ketidakseimbangan komposisi bakteri di usus atau pengurangan bakteri penghasil SCFA telah dijelaskan dalam beberapa model penyakit

skular dan metabolik, termasuk stroke, hipertensi, obesitas, dan diabetes mellitus. (Renamastika et al., 2021).





Gambar 2. 6 Sintesis SCFA melalui fermentasi karbohidrat *nondigestible* oleh mikrobiota usus

Penelitian Sadler et al., (2020) menguji hipotesis bahwa asam lemak rantai pendek (SCFA), metabolit mikroba bioaktif utama, adalah mata rantai yang hilang di sepanjang BGA dan mungkin dapat memodulasi pemulihan setelah stroke eksperimental. Suplementasi SCFA dalam air minum tikus jantan secara signifikan meningkatkan pemulihan fungsi motorik tungkai yang terkena. Dengan menggunakan pencitraan kalsium in vivo, dapat diamati bahwa SCFA menginduksi konektivitas korteks kontralesisi. Hal ini dikaitkan berhubungan dengan perubahan SCFA-*dependent* pada tulang belakang dan kepadatan sinaps. Urutan RNA dari korteks otak depan menunjukkan keterlibatan potensial sel mikroglial dalam berkontribusi pada remodeling struktural dan fungsional. Analisis lebih lanjut mengkonfirmasi

substansial SCFA pada aktivasi mikroglial, yang bergantung pada an sel T ke otak yang mengalami infark. Temuan ini



mengidentifikasi bahwa SCFA yang diturunkan dari mikrobiota memodulasi pemulihan pasca stroke melalui efek pada sel imun sistemik dan otak. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan komunikasi dua arah di sepanjang BGA setelah stroke. Stroke mengubah komposisi mikrobiota usus, dan pada gilirannya, disbiosis mikrobiota memiliki dampak besar pada hasil stroke dengan memodulasi respon imun. Namun, sampai sekarang, mediator yang berasal dari mikrobioma usus yang mempengaruhi *gut-immune-brain axis* dan mekanisme molekuler yang terlibat dalam proses masih tidak diketahui. Disini ditunjukkan bahwa SCFA, produk fermentasi dari mikrobioma usus, adalah modulator kuat dan proregeneratif dari plastisitas neuron pasca stroke pada berbagai tingkat struktural. Kami mengidentifikasi bahwa efek ini dimediasi melalui limfosit yang bersirkulasi pada aktivasi mikroglial. Hasil ini mengidentifikasi asam lemak rantai pendek sebagai mata rantai yang hilang di sepanjang *gut-brain axis* dan sebagai terapi potensial untuk meningkatkan pemulihan setelah strok.

2.7 Luaran Strok Iskemik

Perubahan mikrobiota usus tampaknya dapat mempengaruhi luaran strok. Dalam suatu studi yang membandingkan perbedaan kolonisasi bakteri pada tikus bebas bakteri (*germ-free mice*) dan tikus konvensional didapatkan bahwa kolonisasi bakteri dapat menurunkan volume strok.



Isi bakteri meningkatkan ekspresi sitokin otak serta jumlah sel makrofag dalam memperbaiki luaran strok (Singh et al., 2018).

Dalam studi ini pula didapatkan bahwa proteksi otak oleh mikrobiota ini tidak terjadi pada tikus yang kekurangan limfosit sehingga teori ini mendukung konsep bahwa limfosit berperan dalam proteksi otak pada proses neuroinflamasi setelah kejadian strok.

2.6.1 *National Institute of Health Stroke Score (NIHSS)*

National Institute of Health Stroke Score (NIHSS) mengukur fungsi neurologis pada pasien dengan tanda dan gejala strok. Pemeriksaan neurologis NIHSS mencakup 13 komponen yaitu derajat kesadaran, menjawab pertanyaan, mengikuti perintah, gerakan mata konjugat horizontal, lapang pandang pada tes konfrontasi, parese wajah, motorik lengan kanan, motorik lengan kiri, motorik tungkai kanan, motorik tungkai kiri, ataksia anggota badan, sensorik, bahasa terbaik, disartria dan neglect/tidak ada atensi. Komponen tersebut dijumlahkan untuk memberikan penilaian derajat keparahan stroke secara keseluruhan, dengan skor berkisar dari 0 hingga 42. Skor NIHSS <5 stroke ringan, NIHSS 5-14 strok sedang, NIHSS 15-25 strok berat dan NIHSS >25 sangat berat. Tingkat keparahan strok saat onset telah dikaitkan dengan mortalitas, cacat fungsional, lama tinggal di Rumah Sakit dan pemulihan. NIHSS merupakan prediktor mortalitas yang kuat dalam 3 bulan (Sucharew et al., 2013).

NIHSS adalah suatu skala penilaian yang dilakukan pada pasien untuk melihat kemajuan hasil perawatan fase akut. Penilaian dilakukan dua kali yaitu saat masuk Rumah Sakit (hari pertama perawatan)



dan saat keluar. Perbedaan nilai saat masuk dan keluar dapat dijadikan salah satu patokan keberhasilan perawatan. NIHSS juga telah menjadi *gold standard* untuk menilai keparahan strok setelah keberhasilan terapi strok akut (Lyden, 2017; Misbach, 2007)

Guideline Management Acute Ischaemic Stroke tahun 2019 merekomendasikan penggunaan NIHSS untuk mengukur derajat keparahan stroke. NIHSS dapat dilakukan dengan cepat, telah menunjukkan kegunaan, dan dapat dilakukan oleh penyedia layanan kesehatan dengan akurasi dan reliabilitas yang tinggi. Penggunaan skala standar mengukur derajat defisit neurologis, memfasilitasi komunikasi, membantu mengidentifikasi pasien untuk intervensi fibrinolitik atau mekanis, memungkinkan pengukuran objektif dari perubahan status klinis, dan mengidentifikasi mereka yang berisiko lebih tinggi untuk komplikasi seperti perdarahan intracerebral (Powers et al., 2019)

Ada hubungan yang signifikan dari skor NIHSS dan keberadaan dan lokasi oklusi pembuluh darah. Dengan skor NIHSS 10, oklusi pembuluh darah kemungkinan akan terlihat pada arteriografi, dan dengan skor 12, lokasi okusinya mungkin berada di sentral (Fischer et al., 2005).

Keparahan dari strok berkorelasi dengan volume lesi otak, semakin besar luas lesi maka semakin buruk pengaruhnya pada defisit neurologis.

NIHSS telah ditemukan untuk menjadi prediktor volume otak yang rusak,

skor NIHSS yang kecil menunjukkan volume lesi yang lebih kecil.

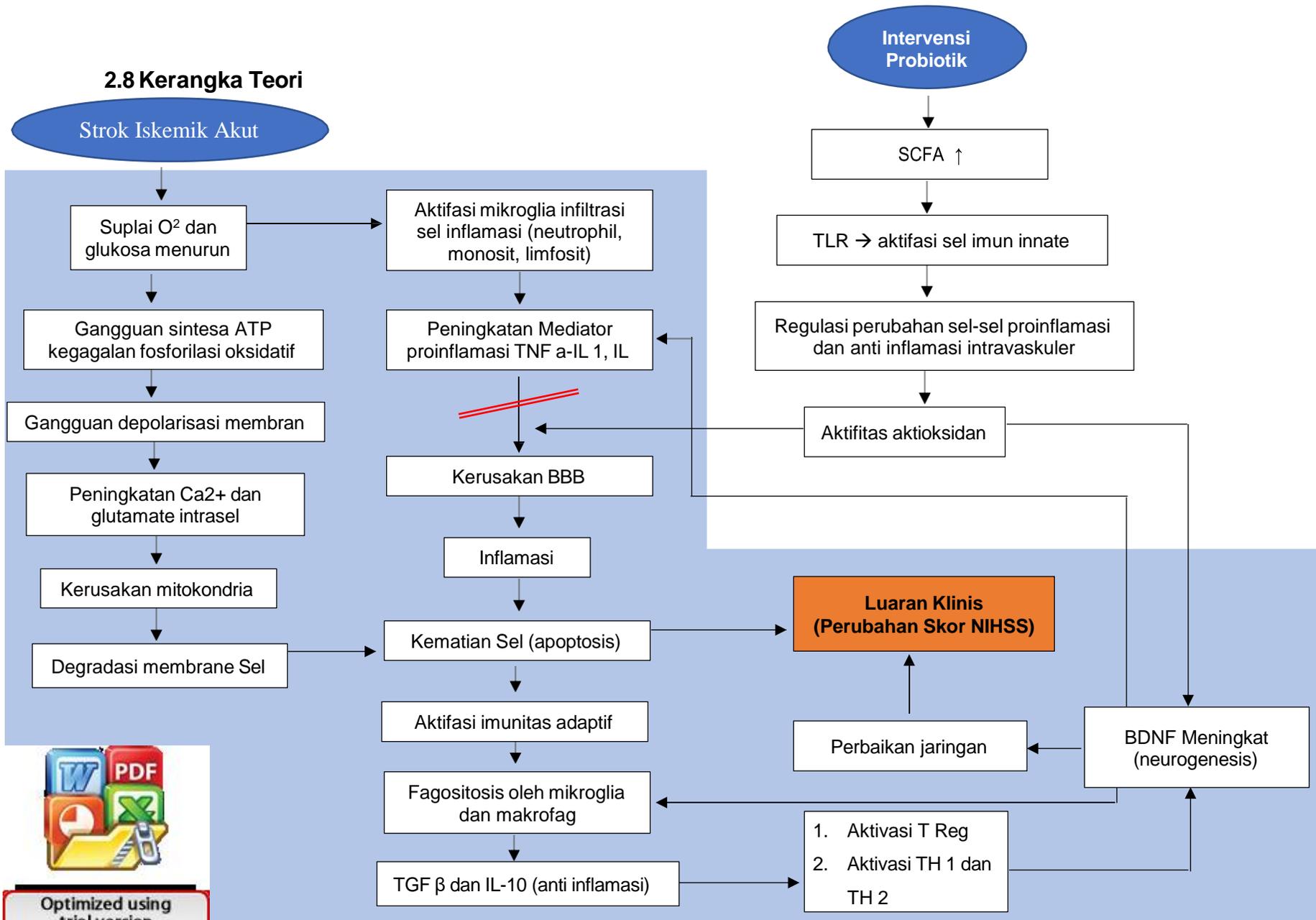
NIHSS fokus pada fungsi kortikal, pasien yang menderita stroke



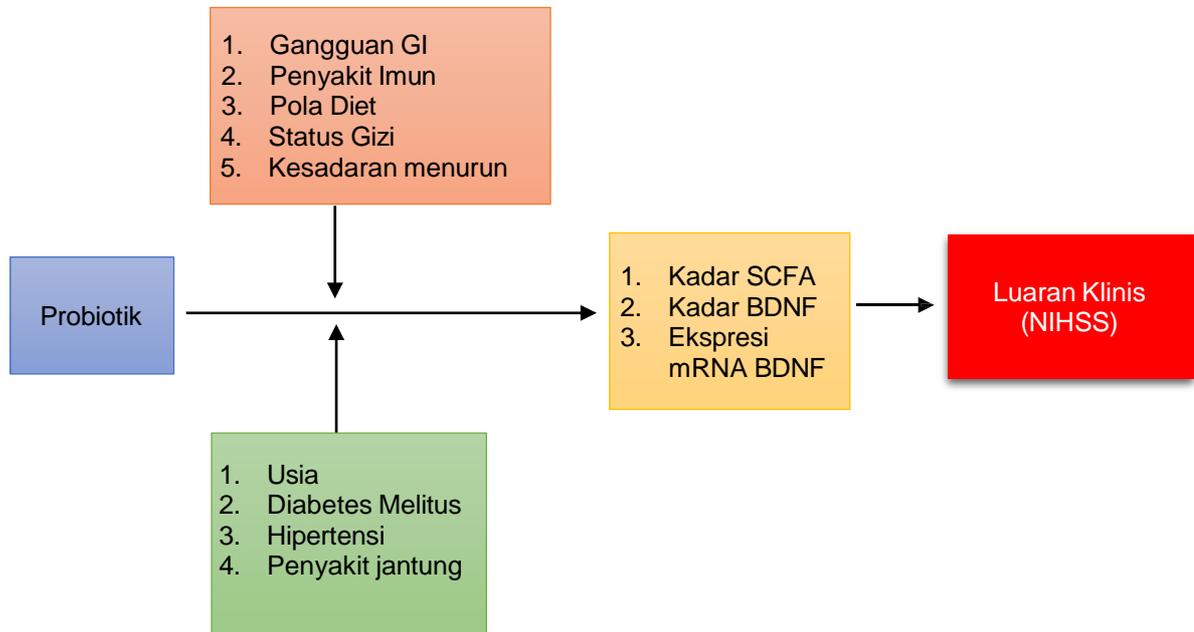
kortikal cenderung memiliki skor awal yang lebih tinggi (lebih buruk). NIHSS menempatkan 7 poin dari 42 poin pada kemampuan yang membutuhkan kemampuan verbal; 2 poin dari pertanyaan tingkat kesadaran, 2 poin dari perintah LOC, dan 3 poin dari komponen Bahasa. NIHSS hanya menempatkan 2 poin untuk inatensi atau kurangnya perhatian. Skor NIHSS awal yang lebih besar dari 16 mengindikasikan besar probabilitas kematian pasien, sementara skor NIHSS awal yang kurang dari 6 menunjukkan probabilitas yang kuat akan pemulihan yang baik. Peningkatan 1 poin dalam skor NIHSS pasien menurunkan kemungkinan perbaikan sebesar 17% (Lyden, 2017).



2.8 Kerangka Teori



2.9 Kerangka Konsep



-  : Variabel bebas
-  : Variabel perancu
-  : Variabel kontrol
-  : Variabel antara
-  : Variabel tergantung

