

TESIS

**HUBUNGAN ANTARA RASIO LIMFOSIT-MONOSIT (RLM)
DENGAN LUARAN KLINIS STROKE ISKEMIK AKUT
*ASSOCIATION OF LYMPHOCYTE MONOCYTE RATIO WITH
OUTCOME ACUTE ISCHEMIC STROKE***

D disusun dan diajukan oleh

ZULFITRI

C115216211



**PROGRAM STUDI NEUROLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

HUBUNGAN ANTARA RASIO LIMFOSIT-MONOSIT DENGAN LUARAN KLINIS STROKE ISKEMIK AKUT

KARYA AKHIR

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis Neurologi

Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 (Sp.1)

Program Studi Neurologi

Disusun dan diajukan oleh:

ZULFITRI

Kepada:

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1

PROGRAM STUDI NEUROLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

**HUBUNGAN ANTARA RASIO LIMFOSIT MONOSIT (RLM)
DENGAN LUARAN KLINIS STROKE ISKEMIK AKUT**

Disusun dan diajukan oleh :

**ZULFITRI
C115216211**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Neurologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 22 Februari 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

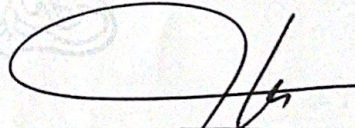
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



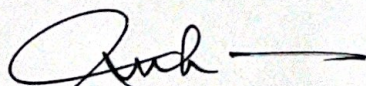
dr. Abdul Muis, Sp.S(K)
NIP. 19620827 198911 1 001

Pembimbing Pendamping,



Dr.dr.A. Kurnia Bintang, Sp.S(K), MARS
NIP. 19640502 199103 2 001

Ketua Program Studi Neurologi
Fakultas Kedokteran Unhas



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

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin



Prof.dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
NIP. 19661231 199503 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertandatangan di bawah ini

Nama : Zulfitri

Nomor Mahasiswa : C115216211

Program Studi : Neurologi

Jenjang : Sp.-1

Menyatakan dengan ini bahwa tesis dengan judul "**Hubungan Antara Rasio Limfosit- Monosit Dengan Luaran Klinis Stroke Iskemik Akut**" adalah karya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari tesis karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 22 Februari 2021

Yang menyatakan,



Zulfitri

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya ucapkan kepada Allah Subhana Wa Ta'ala atas segala berkah dan rahmat yang diberikan kepada saya selaku penulis, sehingga naskah tesis ini dapat terselesaikan. Penulis yakin bahwa penyusunan tesis ini dapat terlaksana dengan baik berkat kerja keras, ketekunan, kesabaran, bantuan, bimbingan, dan kerjasama dari berbagai pihak.

Dengan selesainya tesis ini, penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada suami tercinta Maulana Husain Awal Aliyah yang telah mengerti, mendukung dan mendoakan penulis selama proses pendidikan. Kepada kedua orang tua tercinta yang saya cintai, Hamka Haq dan Darmawati Arham, tak henti-hentinya penulis menyampaikan doa dan penulis merasa sangat bersyukur bahwa impian kedua orang tua penulis telah terkabul. Kepada mertua tercinta, Syamsu Rijal Aliyah dan Mudrika Ilyas, saudara-saudara tercinta kak wati, kak nana, kak nani, dan adik-adik, serta adik ipar, krucil minsar, serta seluruh keluarga besar yang telah mendukung, memberi semangat, dan mendoakan penulis selama masa pendidikan ini.

Penulis juga dengan tulus dan penuh rasa hormat menyampaikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dr. Abdul Muis, Sp.S(K) sebagai ketua komisi penasihat, pembimbing akademik saya, dan juga kepada Dr.dr. Andi Kurnia Bintang, Sp.S(K) MARS sebagai anggota komisi penasihat sekaligus sebagai Kepala Departemen Neurologi periode 2019-2023 dan juga kepada dr. Muhammad Akbar, Ph.D, Sp,S(K), DFM selaku Ketua Program Studi Neurologi Fakultas Kedokteran Unhas periode 2019-2023 atas

bantuan dan bimbingan yang telah diberikan dari sejak pendidikan dokter spesialis dimulai sampai selesainya tesis ini.

Tak lupa pula penulis sampaikan terima kasih serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada tim penguji: Dr. dr. Susi Aulina, Sp.S(K); Dr. dr. Jumraini Tamasse, Sp,S(K), dan Dr.dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM; yang telah memberikan penilaian dan masukan yang sangat berharga dalam penyelesaian tesis ini.

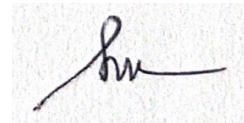
Penulis juga menghaturkan terima kasih kepada para guru dan supervisor : Prof. Dr. dr. Amiruddin Aliah, MM, Sp. S(K); dr. Louis Kwandou, Sp. S(K); Dr, dr. Yudy Goysal, Sp.S(K); Dr. dr. Hasmawaty Basir, Sp. S(K); Dr. dr. David Gunawan Umbas, Sp. S(K); dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp. PA(K), Sp. S; Dr. dr. Nadra Maricar, Sp.S(K); Dr. dr. Audry Devisanty Wuysang, M.Si, Sp.S(K) ; dr. Ummu Atiah, Sp. S; dr. Mimi Lotisna, Sp. S; dr. Andi Weri Sompā, Sp. S, M.Kes; dr. Moch. Erwin Rachman, Sp. S, M. Kes; dr. Anastasia Juliana, Sp.S; dr. Muh. Iqbal Basri, Sp. S, M. Kes; dr. Sri Wahyuni S. Gani, Sp.S, M.Kes; dr. Citra Rosyidah, Sp.S, M.Kes; dr. Nurussyariah Hammado Sp. N, dan dr. Lilian Triana Limoa, M.Kes, Sp.S yang telah dengan senang hati membimbing dan memberi petunjuk kepada penulis selama masa pendidikan penulis maupun untuk tesis ini. Semoga Allah Subhana Wa Ta'ala senantiasa merahmati.

Terima kasih kepada teman sejawat residen, teman seperjuangan sejak tes masuk sampai selesai pendidikan, saudara-saudara saya Mighty Elf Januari 2017 (dr. Dwi A. Ayu Suminar, dr. Rahmawati, dr. Aayuh Khaeranih, dr. Agus Sulistyawati, dr Yuthim Oktiany R, dr. Tio Andrew Santoso, dr. Shinta Fithri H. Azis, dr. Raissa Alfaathir Heri, dan dr. Juliet C. G. Umbas), Terima kasih kepada teman-teman sejawat residen Neurologi Unhas atas bantuannya selama penulis

menjalani masa pendidikan. Terima kasih kepada staf departemen Neurologi Fakultas Kedokteran Unhas Bapak Isdar Ronta, Sdr. Syukur, Ibu I Masse, SE, dan bapak Arfan yang setiap saat tanpa pamrih membantu, baik masalah administrasi maupun fasilitas perpustakaan serta bantuan-bantuan lain selama masa pendidikan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Terakhir kepada berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama penulis menjalani pendidikan ini. Dengan segala kerendahan hati dan penuh syukur, saya sampaikan terima kasih.

Makassar, 22 Februari 2021

A handwritten signature in black ink, appearing to be the initials 'SM' or similar, written in a cursive style.

Penulis

ABSTRAK

ZULFITRI. *Hubungan antara Rasio Limfosit-Monosit dan Luaran Klinis Stroke Iskemik Akut* (dibimbing oleh Abdul Muis, Andi Kurnia Bintang, Susi Aulina, Jumraini Tamasse, dan Andi Alfian Zainuddin).

Panelitian ini bertujuan mengetahui hubungan antara rasio limfosit-monosit (RLM) dan luaran klinis stroke iskemik akut diukur dengan menggunakan skor *modified rankin scale* (MRs).

Penelitian ini merupakan jenis penelitian analitik observasional dengan desain *cross sectional* terhadap seratus subjek di Rumah Sakit dr. Wahidin Sudirohusodo. Pengambilan data dilakukan secara restrospektif mulai pada bulan Juli 2016 - Juli 2020. Data yang diteliti adalah berkas rekam medik yang meliputi: anamnesis, pemeriksaan fisik, data *ct scan* kepala, data laboratorium untuk kadar limfosit dan monosit. Kemudian, dilakukan pencatatan skor MRs.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa antara RLM dan luaran klinis stroke yang dinilai dengan menggunakan skor MRs memiliki hubungan yang bermakna secara statistik ($p < 0.005$) dengan hubungan korelasi sedang yang arahnya negatif ($r = -0,493$). Dengan demikian, terdapat hubungan antara RLM dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut, yaitu semakin tinggi nilai RLM, akan semakin baik luaran klinis stroke iskemik akut. Rasio limfosit-monosit ≤ 2.03 memiliki luaran klinis yang lebih buruk dibandingkan dengan $RLM > 2.03$.

Kata kunci: rasio limfosit-monosit, luaran klinis stroke iskemik



ABSTRACT

ZULFITRI. *Association of Lymphocyte Monocyte Ratio with Outcome Acute Ischemic Stroke* (Supervised by **Abdul Muis, Andi Kurnia Bintang, Susi Aulina, Jumraini Tamasse, and Andi Alfian Zainuddin**)

This study aims to study the relationship between the ratio of Lymphocyte Monocyte (LMR) to clinical outcome acute ischemic stroke measured by using the modified rank in scale score (mRS) update at hospital admission.

The research was a type of observational analytic study with cross sectional design of 100 subject in the Hospital Dr. Wahidin Sudirohusodo by taking restrospectively in the period from July 2016 to July 2020. Subject data relating to medical record documents include anamnesis, physical examination, head CT scan, laboratory data to measure lymphocyte and monocyte, then modified rank in scale score calculated.

The results indicate that between LMR and outcome acute ischemic stroke at hospital admission that was approved using the mRS score had a statistically related relationship ($p < 0.005$) with a moderate correlation with negative direction ($r = -0.493$). Thus, there is a relationship between LMR and the clinical outcome of acute ischemic stroke patients where the higher the LMR value, the better the clinical outcome of acute ischemic stroke. $LMR \leq 2.03$ has a worse clinical outcome than $LMR > 2.03$.

Keywords: lymphocyte-monocyte ratio, clinical outcome of ischemic stroke



DAFTAR TABEL

Tabel 1 Modified Rankin Scale (MRS).....	31
Tabel 2. Faktor-faktor yang berhubungan dengan peningkatan risiko kematian dan buruknya outcome pasca stroke	33
Tabel 3 Karakteristik subjek penelitian	50
Tabel 4 Distribusi Karakteristik Subjek Penelitian	51
Tabel 5 Karakteristik Subjek Penelitian Berdasarkan Luaran Klinis Stroke Iskemik Akut dengan menggunakan skor MRS	53
Tabel 6 Hubungan antara RLM dengan luaran klinis stroke iskemik akut berdasarkan skor MRS	54
Tabel 7 Hubungan antara RLM, nilai limfosit dan monosit dengan pengelompokan luaran klinis stroke iskemik akut berdasarkan skor MRS	57

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
KARYA AKHIR.....	ii
LEMAR PENGESAHAN KARYA AKHIR.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR TABEL.....	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR SINGKATAN.....	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 LATAR BELAKANG	1
I.2 RUMUSAN MASALAH	5
I.3 HIPOTESIS.....	5
I.4 TUJUAN PENELITIAN	5
I.4.1 TUJUAN UMUM	5
I.4.2 TUJUAN KHUSUS.....	5
I.5.MANFAAT PENELITIAN.....	6
I.5.1 MANFAAT AKADEMIK.....	6
I.5.2 MANFAAT APLIKATIF	6
I.5.3 MANFAAT PENGEMBANGAN PENELITIAN.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1 STROKE ISKEMIK.....	7
II.2 PATOFISIOLOGI STROKE	7
II.3 REAKSI INFLAMASI PADA STROKE ISKEMIK.....	10
II.4 LIMFOSIT.....	19

II.5 MONOSIT.....	24
II.6 RASIO LIMFOSIT-MONOSIT (RLM).....	26
II.7 PERAN RASIO LIMFOSIT-MONOSIT (RLM) TERHADAP LUARAN KLINIS STROKE	27
II.8 LUARAN KLINIS STROKE.....	29
II.7 KERANGKA TEORI.....	37
II.8 KERANGKA KONSEP	38
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	39
III.1 DESAIN PENELITIAN	39
III.2 WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN	39
III.3 POPULASI DAN SAMPEL	39
III.4 CARA PENGAMBILAN SAMPEL	40
III.5 KRITERIA INKLUSI DAN EKSLUSI	40
III.5.1 INKLUSI.....	40
III.5.2 EKSKLUSI.....	41
III.6 CARA PENGUMPULAN DATA	41
III.6.1 ALAT DAN BAHAN	41
III.6.2 CARA KERJA.....	41
III.7 IDENTIFIKASI VARIABEL.....	42
III.8 DEFINISI OPERASIONAL	43
III.9 METODE ANALISIS	45
III.10 IZIN PENELITIAN DAN KELAYAKAN ETIK.....	45
III.11 ALUR PENELITIAN	47
BAB IV HASIL PENELITIAN	48
IV.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	49
IV.1.1 Karakteristik subjek penelitian.....	49
IV.1.2 Hubungan antara RLM dengan luaran klinis stroke iskemik akut berdasarkan skor MRS	54
IV.2 Analisa Kurva ROC	55
IV.3 Hubungan antara RLM, nilai limfosit dan monosit dengan pengelompokan luaran klinis stroke iskemik akut berdasarkan skor MRS	56

BAB V PEMBAHASAN	58
V.1. Karakteristik Subjek Penelitian.....	58
V.2 Analisa kurva ROC.....	59
V.3 Hubungan antara RLM dengan luaran klinis stroke iskemik akut berdasarkan skor MRS	60
V.4 Keterbatasan penelitian.....	63
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	64
VI.1 Simpulan.....	64
VI.2 Saran.....	64
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mikroglia teraktivasi memiliki dua fenotipe aktivasi:	12
Gambar 2. Sinyal imun mikroglia dan astrosit setelah stroke iskemik.....	14
Gambar 3. Pengaturan subset monosit setelah stroke pada manusia.....	17
Gambar 4 Kurva ROC dari RLM untuk memprediksi hubungan RLM dengan luaran klinis.....	56

DAFTAR SINGKATAN

ADO	: Aliran Darah Otak
ATP	: Adenosine Triphosphate
AF	: Atrial Fibrilasi
AMPA	: Alfa-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isonazolipropionid-Acid
AUC	: <i>Area Under Curve</i>
BBB	: <i>Blood Brain Barrier</i>
BMI	: <i>Body Massa Index</i>
Ca ²⁺	: Calcium
CCR2	: <i>Chemokine (C-C motif) receptor</i>
CD 14	: Cluster of Differentiation 14
CD 16	: Cluster of Differentiation 16
CT scan	: Computed Tomography Scan
DM	: Diabetes Melitus
Fc.y	: Reseptor imun berbentuk Y
Fn14	: <i>Factor Inducible Protein 14</i>
GFAP	: <i>Glial Fibrillary Acidic Protein</i>
iNOS	: Induksi Nitray Oksida Sintase
ICAM-1	: <i>Intraceluler Adhesi Molecule 1</i>
IL	: Interleukin
IFN-γ	: Interferon gamma
LPS	: Lipopolisakarida
MRS	: <i>Modified Ranking Scale</i>
NMDA	: <i>N-methyl-D-Aspartate</i>
NO	: <i>Nitrit Oxide</i>

NK	: <i>Natural Killer</i>
RLM	: Rasio limfosit-monosit
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SSP	: Sistem saraf pusat
Th	: Sel <i>T-Helper</i>
Treg	: Sel T-Regulatory
TNF-alfa	: Tumor Necrotic Factor-Alfa
TWEAK	: <i>TNF-like weak inducer of apoptosis</i>

BAB I PENDAHULUAN

I.1 LATAR BELAKANG

Stroke adalah penyebab kedua kematian dan menjadi penyebab utama kecacatan pada orang dewasa setelah kasus infark miokard (Świtońska *et al.*, 2019). Secara nasional berdasarkan survei Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Indonesia tahun 2013 kasus stroke semakin meningkat dan menjadi kecacatan tertinggi di Indonesia yang berdampak sosioekonomi, tertinggi pada Sulawesi Selatan 17,9%. Berdasarkan survei terbaru dari RISKESDAS tahun 2018 menunjukkan kenaikan dari tahun 2013 ke 2018 yaitu 7% menjadi 10.9% (Riskesdas, 2018). Di Polandia sekitar 90% kasus stroke merupakan stroke iskemik (Bembenek, J, Karlinski, M. and Niweada, 2013). Di Indonesia 67.1% kasus stroke iskemik dan 32.9% stroke hemoragik (Yudiarto *et al.*, 2015). Stroke merupakan gangguan fungsi otak akut baik focal maupun global yang mendadak akibat berkurangnya atau hilangnya aliran darah pada parenkim otak, retina atau medulla spinalis, disebabkan oleh penyumbatan atau pecahnya pembuluh darah arteri maupun vena, yang dibuktikan dengan imaging dan atau patologi (Sacco *et al.*, 2013). Stroke iskemik terjadi akibat oklusi atau stenosis tiba-tiba dari arteri yang memperdarahi otak. Trombus dapat terjadi secara langsung di lokasi oklusi (stroke iskemik trombotik) atau dibagian lain dari sirkulasi. Dan bila ada

embolus yang mengikuti aliran darah akan menyebabkan penyumbatan pada arteri di otak (stroke emboli) yang membuat darah tidak sampai ke otak (WHO and M.H., 2010).

Inflamasi mempunyai peranan penting pada stroke iskemik akut (Ferrari and Villa, 2017). Tahap awal inflamasi dimulai beberapa jam sesudah onset iskemik dengan munculnya ekspresi adhesi molekul di endotel pembuluh darah dan leukosit di sirkulasi (Brust JCM, 2012). Stroke iskemik akut menginduksi respon inflamasi disertai dengan peningkatan signifikan dalam tingkat ekspresi penanda sitokin inflamasi dan pro-inflamasi seperti interleukin (IL), *tumor necrosis factor* (TNF) yang ditemukan pada fase akut stroke. Sitokin pro-inflamasi menginduksi kaskade inflamasi dan ekspresi sitokin inflamasi yang terkait ukuran infark yang lebih besar mempengaruhi luaran stroke (*outcome*) (Hu *et al.*, 2020). Respon inflamasi juga dilihat dari peningkatan sub tipe leukosit (Kim *et al.*, 2012). Keberadaan sel-sel inflamasi, seperti monosit/makrofag, sel dendritik, dan sel limfosit merupakan karakteristik pembentukan lesi aterosklerotik. Selain itu, sel-sel imun, sitokin dan penanda biomedis lainnya yang terlibat dalam respon inflamasi telah diselidiki dalam memprediksi perkembangan / keparahan lesi dan mengeksplorasi mekanisme patologis penyakit arteri (Ji *et al.*, 2017).

Limfosit merupakan sub tipe leukosit yang berperan penting pada inflamasi setelah iskemik (Li *et al.*, 2019). Limfosit T yang berperan pada

inflamasi setelah stroke iskemik. Limfosit pro-inflamasi seperti TH1, TH17, $\gamma\delta$ Sel-T, akan memperburuk luaran klinis stroke dan memblok invasi neuroprotektif ke otak. Limfosit anti-inflamasi sel-T regulasi (Treg) dan sel-B (Breg) yang bekerja melindungi sel-sel (Liesz *et al.*, 2015). Monosit juga memiliki peran penting dalam respon inflamasi, yang berdiferensiasi menjadi tiga subtipe utama pada manusia dan memberikan efek beragam pada patobiologi pasca iskemik (Li *et al.*, 2019). Monosit akan bermigrasi dari darah ke jaringan dengan kecepatan yang lebih rendah dari neutrofil. Migrasi ini paling mencolok pada inflamasi subakut atau kronis (Chiba and Umegaki, 2013). Monosit memiliki tiga subtipe yaitu monosit klasik CD14⁺⁺CD16⁻, monosit perantara CD14⁺⁺CD16⁺, dan monosit non klasik CD14⁺CD16⁺⁺. Monosit klasik dan perantara bersifat pro-inflamasi dan non klasik sebagai anti inflamasi. Dimana monosit klasik akan meningkat pada stroke iskemik akut dan monosit non klasik akan menurun. Penurunan jumlah monosit non klasik pada fase akut stroke, berkorelasi dengan perkembangan dan keparahan infark otak (ElAli and LeBlanc, 2016). Studi terbaru menunjukkan Rasio limfosit-monosit merupakan prediktor terbaru dalam berbagai penyakit. Dalam suatu penelitian telah ditunjukkan bahwa kadar limfosit yang rendah dan kadar monosit yang tinggi memiliki nilai prognostik dalam perkembangan infark miokard pada penyakit kardiovaskular (Tekin *et al.*, 2020). Rasio limfosit-monosit (RLM) merupakan biomarker sederhana, murah, dan dapat diperoleh segera yang berguna memprediksi perburukan neurologis pada pasien stroke hemoragik.

Nilai rasio netrofil limfosit yang tinggi dan Rasio limfosit-monosit yang rendah merupakan faktor prediktif perburukan neurologis dan mortalitas dalam 90 hari pada stroke hemoragik (Qi *et al.*, 2018). Selain itu, nilai Rasio limfosit-monosit yang rendah berhubungan dengan *outcome* yang buruk pada kasus thrombosis sinus serebral (Li *et al.*, 2019). RLM merupakan prediktor sederhana untuk melihat derajat klinis pada pasien stroke iskemik. Level RLM berkorelasi negatif dengan skor NIHSS (*National institute of health stroke scale score*) pada saat masuk rumah sakit, dimana RLM yang rendah memiliki skor NIHSS yang tinggi (Ren, Liu, *et al.*, 2017). RLM yang rendah prediktor untuk prognosis yang buruk pada stroke iskemik akut setelah tindakan trombolisis (Ren, Han, *et al.*, 2017). RLM yang rendah berisiko tinggi untuk terjadi transformasi hemoragik setelah stroke iskemik (Song *et al.*, 2020).

Selama ini RLM digunakan sebagai penanda prognostik pada penyakit keganasan. Disamping itu, sebagai prediktor faktor risiko untuk aterosklerosis pada penyakit arteri coroner (Ren, Liu, *et al.*, 2017). Penelitian sesudahnya menilai RLM ini sebagai marker terbaru dalam menentukan derajat klinis, dan *outcome* pada kasus stroke. Penelitian klinis tentang stroke secara rutin menggunakan mortalitas sebagai *outcome*, namun terdapat *outcome* lainnya yang mencakup perubahan fungsi tubuh dan disabilitas. *Modified rankin scale* pada beberapa studi digunakan untuk menilai luaran efek terapi dan *outcome* stroke (Misbach, 2011; Kusumaningrum, 2014). Berdasarkan uraian diatas,

maka peneliti tertarik untuk mengetahui bagaimana hubungan antara Rasio limfosit-monosit dengan luaran klinis stroke iskemik akut.

I.2 RUMUSAN MASALAH

Bagaimana hubungan Rasio limfosit-monosit terhadap luaran klinis stroke iskemik akut

I.3 HIPOTESIS

Terdapat hubungan antara Rasio limfosit-monosit dengan luaran klinis stroke iskemik akut, semakin rendah Rasio limfosit-monosit semakin buruk luaran klinis stroke iskemik akut.

I.4 TUJUAN PENELITIAN

I.4.1 TUJUAN UMUM

Untuk mengetahui hubungan Rasio limfosit-monosit terhadap luaran klinis stroke iskemik akut

I.4.2 TUJUAN KHUSUS

- a. Menghitung Rasio limfosit-monosit penderita stroke iskemik akut onset 3- 7 hari
- b. Menetapkan luaran klinis stroke iskemik akut dengan skala *modified rankin scale* (MRS)
- c. Menetapkan hubungan Rasio limfosit-monosit dengan luaran klinis

I.5.MANFAAT PENELITIAN

I.5.1 MANFAAT AKADEMIK

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi teoritis terhadap pengembangan serta penerapan ilmu dalam bidang neurovaskular.

1.5.2 MANFAAT APLIKATIF

Jika hipotesis terbukti, maka RLM dapat digunakan sebagai salah satu hal dalam memperkirakan prognosis pada stroke iskemik akut.

I.5.3 MANFAAT PENGEMBANGAN PENELITIAN

Hasil penelitian ini diharapkan masalah diatas dapat menjadi sumber data bagi peneliti yang akan melakukan penelitian dengan tema yang sama

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 STROKE ISKEMIK

Stroke iskemik adalah Infark pada sistem saraf berdasarkan patologi, pencitraan atau bukti objektif lain dari adanya iskemik otak, medulla spinalis dan retina karena penyebab vaskular, adanya bukti klinis dari iskemik otak, medulla spinalis atau retina dengan gejala menetap lebih dari atau sama dengan 24 jam atau hingga kematian dengan menyingkirkan penyebab lainnya (Sacco *et al.*, 2013). Stroke iskemik terjadi akibat penyumbatan pada pembuluh darah menyebabkan suplai darah ke otak terbatas. *Silent infark* adalah kondisi abnormalitas pada pemeriksaan radiologi namun tidak terdeteksi adanya kelainan neurologi. Sehingga dibutuhkan beberapa aspek untuk menilai risiko stroke sebagai langkah pencegahan (Caplan, Louis R and Llevesskind S, 2016).

II.2 PATOFISIOLOGI STROKE

Cedera otak akibat stroke iskemik merupakan suatu proses yang kompleks, melibatkan mekanisme eksitotoksisitas, jalur inflamasi, kerusakan oksidatif, ketidakseimbangan ion, apoptosis, angiogenesis, dan neuroprotektif. Kaskade iskemik yang terjadi pada stroke akut menghasilkan kematian sel neuron dan kerusakan fungsional yang permanen. Strategi terapi stroke berkembang menjadi dua tujuan utama; mengembalikan aliran darah otak dan meminimalisir efek iskemik yang menyebabkan kematian neuron (Deb P, S

and KM., 2017; Tekin *et al.*, 2020). Stroke iskemik diawali oleh adanya sumbatan pembuluh darah oleh trombus atau emboli yang mengakibatkan sel otak mengalami gangguan metabolisme karena tidak mendapat suplai darah, oksigen dan energi. Trombus terbentuk oleh adanya proses aterosklerosis pada arkus aorta, arteri karotis, maupun pembuluh darah serebral. Trombus dapat lepas dan menjadi embolus atau tetap pada lokasi asal dan menyebabkan oklusi dalam pembuluh darah tersebut. Emboli merupakan bagian dari trombus yang terlepas dan menyumbat pembuluh darah dibagian yang lebih distal. Emboli ini dapat berasal dari trombus di pembuluh darah, tetapi sebagian besar berasal dari trombus di jantung yang terbentuk pada keadaan tertentu, seperti atrial fibrilasi dan riwayat infark miokard. Bila proses ini berlanjut akan terjadi iskemia jaringan otak yang menyebabkan kerusakan bersifat sementara atau menjadi permanen yang disebut infark (Al Rasyid *et al.*, 2017).

Aliran darah otak (ADO) normal adalah 50-60ml per 100gram otak permenit. Penurunan ADO 12-23ml/100gram otak per menit akan menyebabkan hipoperfusi jaringan yang menyebabkan hilangnya fungsi dan kerusakan jaringan. ADO yang kurang dari 10-12ml per 100gram otak per menit akan menyebabkan terjadinya infark, sehingga pada akhirnya otak akan mengalami nekrosis bila terjadi penurunan ADO berkisar 6-8ml per 100 gram otak per menit (Ropper, A., samuels, M, klein, 2014) .

Daerah yang dekat dengan infark ADO sekitar 10 ml/100 gram otak/menit, disebut sebagai daerah dengan ambang kematian sel (*threshold of neuronal death*). Daerah yang lebih jauh dari infark memiliki ADO sekitar 20 ml/100 gram otak/menit, dimana aktivitas listrik neuronal terhenti dan struktur intrasel tidak terintegrasi dengan baik. Daerah yang lebih luar lagi dengan ADO sekitar 30-40 ml/ 100 gram otak/menit adalah daerah oligemia. Apabila kondisi penumbra tidak tertolong secepatnya maka daerah yang mendapat aliran darah dengan kecepatan kurang tadi akan berubah menjadi daerah yang infark.(A Rasyid *et al.*, 2017)

Daerah yang mengalami iskemik, terjadi penurunan kadar *adenosine triphosphate* (ATP) sehingga terjadi kegagalan pompa kalium dan natrium serta peningkatan kadar laktat intraselular. Kegagalan pompa kalium dan natrium menyebabkan depolarisasi dan peningkatan pelepasan neurotransmitter glutamat. Depolarisasi meningkatkan kadar kalsium intraseluler, sedangkan glutamat yang dilepaskan akan berikatan dengan reseptor glutamate yaitu *N-metil-D-Aspartat* (NMDA) dan *α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isonazolipropionid-acid* (AMPA), yang selanjutnya akan menyebabkan masuknya kalsium intraselular. Kalsium intraselular memicu terbentuknya radikal bebas, nitrit oksida (NO), inflamasi dan kerusakan DNA melalui jalur enzimatik seperti Ca^{2+} -ATPase, *calcium-dependent*

phospholipase, protease, endonuclease, dan kaspase yang keseluruhannya berkontribusi terhadap kematian sel. (A Rasyid *et al.*, 2017).

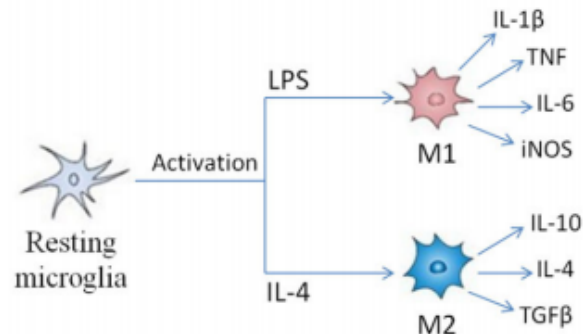
II.3 REAKSI INFLAMASI PADA STROKE ISKEMIK

Proses inflamasi pada stroke iskemik akut dimediasi oleh banyak mediator inflamasi. Inflamasi menyebabkan terjadi peningkatan pelepasan beberapa sitokin di otak, melibatkan reaksi sel imun bawaan (yaitu mikroglia) di parenkim, infiltrasi sel myeloid dan sel imun adaptif (yaitu limfosit) (Liu *et al.*, 2017).

Inflamasi terjadi pada berbagai jenis cedera otak termasuk stroke iskemik. Cedera otak yang dimediasi oleh stroke iskemik menyebabkan nekrosis dan apoptosis. Sel dan puing yang rusak menyebabkan inflamasi di area bagian dalam dan sekitar cedera iskemik di otak. Puing-puing sel yang diinduksi iskemia dan peningkatan ROS menyebabkan inflamasi dengan mengaktifkan mikroglia dan astrosit serta menarik leukosit yang menyusup dari darah yang bersirkulasi. Sel-sel ini bertambah besar, histokompatibilitas kompleks molekul dan sitokin kelas II. Setelah aktivasi mikroglia, pelepasan mediator pro-inflamasi dari mikroglia ini mendukung permeabilitas BBB. Bersama dengan sekresi kemokin, ini mendorong masuknya leukosit sistemik secara berurutan termasuk neutrofil, makrofag, dan limfosit, yang berbagi beberapa fitur fungsional dengan mikroglia. Mikroglia adalah makrofag di otak

dan modulator kunci dari respons imunologis setelah stroke iskemik. Dalam kondisi normal, mikroglia terutama terlibat dalam pemangkasan dan perbaikan sinaptik yang bergantung pada aktivitas. Saat iskemik stroke terjadi, mikroglia asli mengalami transformasi morfologi dari keadaan istirahat dalam persiapan untuk respon imun yang akan datang. Setelah reperfusi dimulai, mikroglia menjadi aktif. Mikroglia yang teraktivasi ini mulai menelan sel-sel endotel melalui fagositosis, yang memungkinkan masuknya komponen serum darah. Mikroglia aktif memfagosit organisme asing serta sel otak yang terluka. Pada stroke iskemik, aktivasi mikroglia merupakan tahap awal dari proses inflamasi bahkan dalam hitungan menit. Beberapa laporan telah menunjukkan bahwa aktivasi mikroglial yang rusak meningkatkan infark dan apoptosis setelah stroke iskemik. Morfologi mikroglia berubah baik ke M1 (fenotipe yang biasanya diaktifkan) atau ke M2 (fenotipe yang diaktifkan secara alternatif, setelah stroke). Mikroglia M1 yang diaktivasi oleh LPS (lipopolisakarida) dan interferon-gamma sitokin pro-inflamasi (IFN- γ) menunjukkan efek berbahaya setelah stroke. Sebaliknya, fenotipe mikroglia M2 berkontribusi pada pemulihan stroke melalui sitokin anti inflamasi seperti IL-4. Pada stroke iskemik, fenotipe M2 dominan pada mikroglia lokal dan makrofag yang baru direkrut pada tahap awal. Fenotipe M1 meningkat secara progresif di daerah peri-infark. Dengan demikian, neuron iskemik menginduksi perubahan terhadap fenotipe M2 di mikroglia dan makrofag. Mempertimbangkan peran yang berlawanan dari fenotipe mikroglia pada stroke iskemik, penting untuk

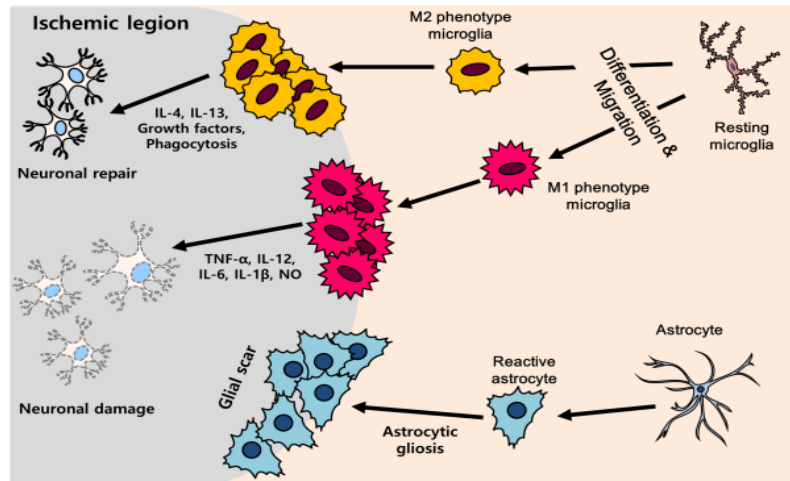
mengembangkan strategi terapeutik dengan menahan transformasi morfologi dan mempromosikan manfaat mikroglia (Kim *et al.*, 2016)



Gambar 1. Mikroglia teraktivasi memiliki dua fenotipe aktivasi: teraktivasi klasik (M1) dan teraktivasi alternatif (M2). Mikroglia M1 dianggap pro-inflamasi, diaktivasi oleh LPS yang menghasilkan sitokin pro-inflamasi dan metabolit oksidatif seperti IL-1. β , TNF, IL-6 dan oksida nitrat. Mikroglia M2 berkontribusi pada pemulihan setelah cedera otak yang diaktivasi oleh IL-4 dan mediator anti-inflamasi ekspres, seperti IL-10, IL-4, TGF β . LPS: lipopolisakarida; IL: interleukin; TNF: faktor nekrosis tumor; TGF: mengubah faktor pertumbuhan (Liu *et al.*, 2017)

Astrofit adalah mediator penting homeostasis di otak, termasuk pengaturan reaksi imunologi. Selain fungsi imunologisnya, astrofit telah dilaporkan melepaskan berbagai faktor pro-inflamasi setelah cedera iskemik, seperti *glial fibrillary acidid protein* (GFAP). Sel-sel ini juga memainkan peran sentral dalam meningkatkan gliosis reaktif dan pembentukan bekas luka glial (Gbr.2). Meskipun merupakan bagian penting dari penyembuhan jangka panjang, gliosis astrofitik juga dapat merusak setelah cedera otak. Respon astroglial masif muncul di inti lesi dari empat jam sampai satu hari setelah stroke iskemik, dan mencapai puncaknya sekitar hari keempat. Bekas luka glial ini memiliki sifat neurotoksik dan neurotropik. Bekas luka bertindak sebagai

penghalang yang mencegah pertumbuhan aksonal dan reinnervasi, sehingga mengganggu pemulihan. Namun, bekas luka ini juga mengisolasi jaringan yang rusak dari jaringan yang layak dan mencegah kerusakan tambahan pada otak di sekitarnya. Studi terbaru menunjukkan efek menguntungkan dari gliosis astrositik yang membantu daripada mencegah regenerasi akson SSP. Selain memodulasi pembentukan bekas luka, astrosit juga telah diamati melepaskan berbagai molekul kekebalan seperti sitokin, kemokin dan sintase oksida nitrat yang diinduksi (iNOS), dan menginduksi Th2 (anti-inflamasi) respon imun. Pada stroke iskemik, iNOS diamati pada astrosit hipokampus reaktif. Peran inflamasi astrosit juga telah dibuktikan dalam studi *TNF-like weak inducer of apoptosis* (TWEAK), anggota dari superfamili TNF. TWEAK terdeteksi pada neuron, astrosit, dan sel endotel, yang terbukti meningkatkan produksi molekul pro-inflamasi melalui interaksi dengan reseptor astrositik Fn14. Ekspresi TWEAK dan Fn14 telah didokumentasikan dalam model stroke eksperimental, di mana penghambatan Fn14 menyebabkan penurunan cedera iskemik. Hasil ini menunjukkan bahwa sementara astrosit telah lama dianggap berperan sebagai perancah dan mendukung neuron, astrosit yang diaktifkan juga dapat merusak otak yang iskemik, tidak seperti mikroglia dan sel kekebalan lainnya (Kim *et al.*, 2016).



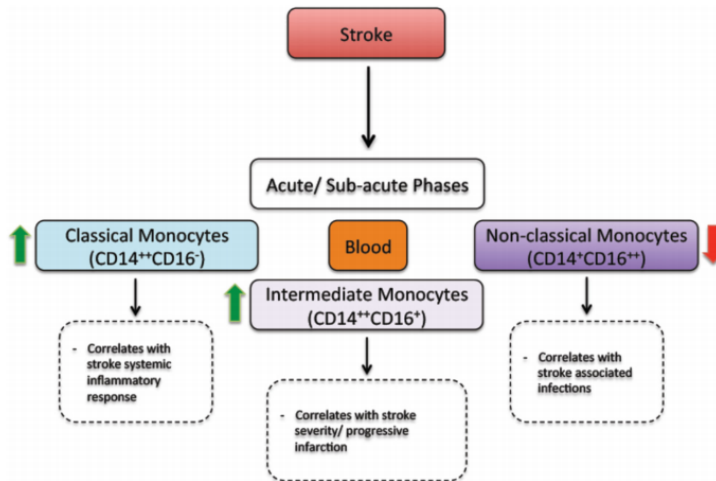
Gambar 2. Sinyal imun mikroglia dan astrosit setelah stroke iskemik. Mikroglia istirahat dapat terpolarisasi menjadi fenotipe M1 atau M2. Mikroglia M1 berkontribusi pada kerusakan saraf oleh mediator pro-inflamasi, sedangkan mikroglia M2 meningkatkan perlindungan saraf melalui mediator antiinflamasi dan fungsi fagositik. Astrosit menumpuk di perbatasan lesi, menjadi reaktif, dan memulai pembentukan bekas luka glial (Kim *et al.*, 2016).

Neutrofil adalah sel imun pertama yang dibawa melalui darah yang sampai di jaringan otak iskemik. Setelah stroke iskemik, dalam waktu 15 menit neutrofil menyebabkan inflamasi steril dengan menempel pada endotel dengan mengikat berbagai molekul adhesi termasuk selektin (P-, E-, dan L-selektin), molekul adhesi sel intraseluler-1 (ICAM-1) dan integrin (CD11a, b dan c). Setelah 2 jam, neutrofil bergulir dan adhesi muncul di pembuluh pial otak. Setelah pelekatan awal, neutrofil akan mengikuti gradien kemokin dan aktivator yang dihasilkan oleh jaringan yang terluka. Neutrofil mencapai angka puncak pada dua sampai empat hari setelah stroke iskemik dan kemudian menurun setelahnya. Setelah stroke iskemik selanjutnya dimodulasi oleh interaksi dengan kemokin dan sitokin lain, keduanya dilepaskan di jaringan

otak setelah cedera. Ligan pemberi sinyal ini dapat meningkatkan perekrutan neutrofil dan mekanisme migrasi yang dimediasi oleh faktor adhesi dengan mengikat dan mengaktifkan neutrofil. Reseptor kemokin diekspresikan pada membran plasma neutrofil, dan aktivasi mereka mendorong neutrofil untuk mempertahankan atau bahkan memperkuat jalur inflamasi pada lesi otak (Kim *et al.*, 2016).

Monosit berasal dari sel batang hematopoietik (HSC) di hati dan limpa selama perkembangan embrio dan terutama di sumsum tulang setelah lahir (Kim *et al.*, 2016). Untuk memenuhi perannya sebagai imun bawaan yang berkapasitas fagositik tinggi, maka monosit dilengkapi beberapa mekanisme canggih yaitu reseptor *scavenger*, lipoprotein densitas rendah, reseptor seperti tol, reseptor kemokin/sitokin, Fc.γ reseptor molekul dan adhesi. Monosit terdiri dari beberapa kelompok diferensiasi seperti CD115, CD11c, CD14, CD16. Monosit mengekspresikan tingkat reseptor kemokin yang berbeda yaitu reseptor kemokin yang berbeda yaitu reseptor kemokin (motif C-X3-C)1(CX3R1) dan reseptor kemokin (motif CC)2(CCR2). Monosit ada tiga subset utama yaitu berdasarkan ekspresi CD14 dan CD16 yaitu subset klasik (CD14⁺⁺CD16⁻), subset perantara (CD14⁺⁺CD16⁺) dan subset non klasik (CD14⁺⁺CD16⁺⁺). Kedua subset monosit (klasik dan perantara) menyusup ke otak iskemik mulai hari pertama setelah stroke iskemik, memuncak pada hari ke-3 dan kemudian menurun pada hari ke-7. Selain memicu respons imun spesifik otak, stroke iskemik secara dinamis memodulasi respons imun perifer,

yang secara langsung mempengaruhi patobiologi dan perkembangan penyakit. stroke iskemik memicu monositosis berkelanjutan yang diterjemahkan dengan peningkatan jumlah total monosit dalam sirkulasi darah pasien stroke iskemik. Menariknya, jumlah subset monosit klasik (CD14 ++ CD16 -) meningkat secara signifikan dalam sirkulasi darah, sedangkan jumlah subset monosit non-klasik (CD14 + CD16 ++) menurun. Perbedaan regulasi subset monosit dalam sirkulasi darah pasien stroke iskemik, yaitu peningkatan jumlah subset monosit perantara, dan penurunan jumlah subset monosit non-klasik pada fase akut dan sub-akut stroke, berkorelasi dengan perkembangan dan keparahan infark otak. Studi klinis menunjukkan bahwa peningkatan jumlah monosit perantara (CD14 ++ CD16 +) dalam sirkulasi darah pasien stroke dikaitkan dengan keparahan cedera otak, dan penurunan jumlah monosit non-klasik (CD14 + CD16 ++) dikaitkan komplikasi stroke, yaitu infeksi terkait stroke. Dengan demikian, dapat dibayangkan untuk berspekulasi bahwa strategi terapeutik yang bertujuan secara khusus mengurangi jumlah monosit perantara (CD14 ++ CD16 +) dalam sirkulasi darah pada fase akut stroke iskemik, sekaligus meningkatkan jumlah monosit non-klasik (CD14 +) CD16 ++) dapat membatasi cedera otak dan mengurangi risiko komplikasi pasca stroke. Oleh karena itu, pengembangan "strategi imunomodulator" yang secara spesifik mengontrol fungsi setiap subset monosit pada fase stroke iskemik yang berbeda merupakan suatu pendekatan yang menjanjikan dalam terapi stroke (ElAli and LeBlanc, 2016).



Gambar 3. Pengaturan subset monosit setelah stroke pada manusia. Pada fase akut dan sub-akut, stroke meningkatkan jumlah monosit klasik (CD14 ++ CD16-) dan monosit antara (CD14 ++ CD16 +) dalam sirkulasi darah. Di sisi lain, stroke menurunkan jumlah monosit non klasik (CD14 + CD16 ++) dalam sirkulasi darah. Menariknya, jumlah monosit perantara meningkat secara signifikan dalam sirkulasi darah pasien yang mengalami cedera parah (infark progresif). Secara paralel, jumlah monosit non-klasik menurun dalam sirkulasi darah pasien yang mengalami infeksi terkait stroke (EIAli and LeBlanc, 2016)

Sejumlah penelitian telah mengamati bahwa limfosit dapat memberikan kontribusi negatif terhadap patogenesis cedera otak. Mirip dengan neutrofil dan monosit, sel-sel ini juga melepaskan sitokin proinflamasi dan zat sitotoksik, seperti ROS. Beberapa penelitian tentang stroke menunjukkan bahwa jumlah lonjakan limfosit di otak yang iskemik pada titik waktu yang lebih lama daripada neutrofil. Limfosit T adalah pemain kunci dalam memperkuat inflamasi setelah stroke iskemik, sedangkan limfosit B terbukti memainkan peran yang lebih rendah. Tidak semua sub tipe limfosit T merugikan hasil cedera otak akut.

Peningkatan jumlah limfosit T pada keadaan iskemik terjadi 24 jam pertama dan dapat bertahan dalam beberapa waktu hingga 7 hari. Umumnya, limfosit T menyerang bakteri dan sel yang terinfeksi virus dengan melepaskan sitokin atau sitotoksin, dan mereka dapat merespons serupa pada lesi otak iskemik steril. Sekresi limfosit T ini menyebabkan kematian sel melalui interaksi dengan reseptor Fas, dan beberapa penelitian melaporkan bahwa netralisasi sitokin yang diturunkan dari limfosit T (IL-17, IL-12, IL-23, interferon gamma) mengurangi cedera otak dan meningkatkan hasil neurologis. Studi lain menunjukkan bahwa tikus yang kekurangan perforin yang disekresi limfosit T menunjukkan perlindungan saraf yang signifikan, menunjukkan jalur lain di mana limfosit dapat berkontribusi pada kerusakan iskemik. Studi terbaru mengamati sel T yang bersirkulasi yang memproduksi 7 hingga 15 kali lipat jumlah yang lebih besar dari NADPH oksidase tipe 2 (Nox2) yang berasal dari superoksida setelah stroke iskemik, menunjukkan bahwa limfosit T perifer dapat memperburuk cedera jaringan oksidatif pada lesi otak dari jarak jauh, tanpa harus bermigrasi ke lesi otak, dengan melepaskan superoksida yang diturunkan dari Nox-2 ke dalam darah (Kim *et al.*, 2016)

II.4 LIMFOSIT

Sekitar 7.000 leukosit per mikroliter darah pada manusia dewasa (dibandingkan dengan sel darah merah yang berjumlah sekitar 5.000.000 sel/mikroliter). Dimana persentase normal sel neutrofil sekitar 62,0%, sel limfosit 30.0%, monosit 5.3%, eosinophil 2.3% dan basofil 0.4% (Hall, 2016).

Tingkat awal dari inflamasi dimulai beberapa jam sesudah awitan (onset) iskemik dengan karakteristik munculnya ekspresi adhesi molekul di endotel pembuluh darah dan leukosit di sirkulasi. Leukosit bergerak melewati endotel keluar dari sirkulasi dan penetrasi ke jaringan parenkim otak yang mengakibatkan reaksi inflamasi (Misbach, 2011). Secara morfologis limfosit terbagi atas tiga subkelompok besar yaitu sel B, sel T dan sel NK :

- a) Sel B, pada model tikus ,terlibat dalam peradangan kronis di daerah iskemik di mana jaringan limfoid mirip dengan folikel sel B. Sel B mengalami transformasi isotype, mengekspresikan penanda sel plasma, mengeluarkan imunoglobulin, dan mempengaruhi pemulihan fungsional jangka panjang setelah stroke. Secara konsisten, imunoglobulin oligoklonal ditemukan dalam cairan serebrospinal pada beberapa pasien stroke, yang menunjukkan bahwa sel B di sistem saraf pusat (SSP) merespon setelah stroke. Tidak ada konsensus yang jelas tentang peran sel B dalam pemulihan pasca stroke, meskipun beberapa penelitian pada hewan menunjukkan peran perlindungan sel B dalam cedera pasca stroke. Sel B regulator menyediakan pelindung saraf

melalui mekanisme dependen IL-10. Sel T regulator dan sel B mengurangi inflamasi setelah stroke dengan memproduksi sitokin antiinflamasi seperti IL10, mengubah faktor pertumbuhan- β (TGF- β). Dalam proses patologis SSP, IL-10 yang diekspresikan di otak meningkatkan limfosit Treg dan mengurangi respons inflamasi. Stimulasi lipopolisakarida (LPS) sebelum transfer adopsi sel B meningkatkan produksi IL-10, mengurangi volume infark, meningkatkan jumlah sel Treg, dan menghambat respons pro-inflamasi perifer. Dibandingkan dengan faktor risiko lain yang berhubungan dengan demensia serebrovaskular dan degeneratif seperti diabetes, hipertensi, dan hiperkolesterolemia, terjadinya stroke meningkatkan kerentanan terhadap demensia, terutama demensia vaskular. Namun, jalur pensinyalan yang mengarah pada perkembangan demensia setelah stroke tidak sepenuhnya dipahami. Studi terbaru menunjukkan bahwa kerusakan kognitif terjadi 7 minggu setelah stroke pada tikus. Empat sampai tujuh minggu setelah stroke, sel B berkumpul di area infark dan menghasilkan antibodi IgA dan IgG, yang berhubungan dengan gangguan kognitif. Ini telah dibuktikan dalam model empat langkah dari dua strain tikus yang berbeda. Sintesis imunoglobulin juga ditemukan pada cairan serebrospinal pasien stroke selama berbulan-bulan setelah stroke. Antibodi ini dapat menyebabkan cedera saraf dan gangguan kognitif dengan mengikat reseptor Fc dan mengaktifkan jalur

komplemen. Selain itu, antibodi ini memperburuk penyakit dengan menyebar ke jaringan sehat yang berdekatan dan tidak terpengaruh. (Jian *et al.*, 2019)

- b)** Sel imun tidak hanya terlibat dalam proses inflamasi, tetapi juga dalam pemeliharaan homeostasis sistem saraf pusat (SSP). Sel T merupakan kelompok sel imun penting yang terlibat dalam patogenesis penyakit saraf tertentu dengan menginduksi respons imun bawaan atau adaptif. Setelah stroke, sel T bermigrasi ke tepi lesi, dan meningkat beberapa hari setelah iskemia. Sel T terdeteksi dalam 30 hari di parenkim otak setelah iskemia. Sekitar 40% sel T yang menyusup ke jaringan otak iskemik adalah sel T *helper* (Th) CD4 + dan sekitar 30% adalah sel T sitotoksik CD8 +. Penipisan subset sel CD4 + atau CD8 + yang dimediasi antibodi mengakibatkan penurunan volume infark dan cedera sekunder. Ketika respons peradangan saraf terjadi pada tahap akut iskemia serebral, sel T bekerja pada neuron secara tidak langsung melalui interaksi dengan sistem imun bawaan. Setelah iskemia / reperfusi serebral, mikroglia / makrofag yang diaktifkan, mengaktifkan sel T CD4 + untuk berdiferensiasi menjadi sel Th1 atau Th2, dan kemudian menghasilkan sitokin pro-inflamasi atau anti-inflamasi untuk merusak atau melindungi otak. Sel Th1 dapat memperburuk cedera otak dengan mengeluarkan sitokin proinflamasi, termasuk IL-2, IL-12, dan IFN- γ . Sel Th2 mungkin memiliki efek pelindung saraf pada otak yang

cedera dengan mengeluarkan sitokin antiinflamasi seperti IL-4, IL-5, IL-10, dan IL-13. Sel T sitotoksik CD8 + adalah subset sel T pertama yang menyerang otak yang iskemik dan dapat dideteksi dalam beberapa jam setelah stroke . Sel T sitotoksik CD8 + menyebabkan kematian neuron dan memperburuk cedera otak oleh interaksi sel dan pelepasan perforin / granzim setelah aktivasi yang bergantung pada antigen. Sel T regulator (Treg) terutama mengekspresikan faktor transkripsi Foxp3, dan menghambat respon imun yang berlebihan dengan mengidentifikasi autoantigen dan antigen asing. Sejumlah besar penelitian telah menunjukkan bahwa Foxp3 + Treg memiliki efek perlindungan pada respons peradangan saraf setelah stroke. IL-10, sebuah sitokin antiinflamasi, adalah mediator kunci dari fungsi pelindung saraf Treg, yang memberikan efek anti-inflamasi dengan menghambat IL 1 β dan TNF- α . Penelitian telah menunjukkan bahwa injeksi IL-10 intraventrikular membalikkan efek penipisan Treg. Selain itu, IL-10 memediasi beberapa fungsi biologis dan mengatur lebih dari 300 gen yang terkait dengan jalur inflamasi. Namun, juga telah ditemukan bahwa Treg dapat mempengaruhi integritas BBB pada tahap akut stroke, dan dapat memperburuk cedera neuron dengan menginduksi disfungsi mikrovaskuler. Penghapusan Treg dalam 24 jam setelah oklusi arteri serebri media (MCAO) mengurangi jumlah fibrin pada tikus dan meningkatkan aliran darah otak, yang menunjukkan cedera jaringan

yang dilemahkan. Sel $\gamma\delta$ T dan sel Th17 menyebabkan kerusakan jaringan di sekitarnya dengan mengeluarkan IL-17 yang mencapai puncaknya pada hari ketiga setelah stroke. Netralisasi antibodi spesifik IL-17 secara signifikan meningkatkan prognosis stroke. Berbeda dengan efek samping pada fase akut, ekspresi IL-17 memuncak untuk kedua kalinya sekitar hari ke-28 setelah stroke, kemungkinan karena sekresi sitokin oleh astrosit reaktif untuk meningkatkan neurogenesis. Penemuan ini menunjukkan bahwa IL17 meningkatkan respon inflamasi pada fase akut dan meningkatkan fungsi regeneratif pada tahap selanjutnya, yang menunjukkan kompleksitas respon imun adaptif setelah stroke. (Jian *et al.*, 2019)

- c) Sel NK (*Natural killer*) menggambarkan populasi sel limfatik yang terbatas jumlahnya mencapai sekitar 10% limfosit yang beredar di darah perifer. Sel NK dikenal dengan fenotipe CD3-CD56+. Sel-sel ini bekerja melalui produksi sitokin sitotoksik, sitolisis langsung dan sitotoksitas seluler yang diperantarai antibodi terhadap infeksi virus atau sel yang bertransformasi (Baratawidjaja KG, 2010).

Limfosit T merupakan pusat dari pengembangan respon inflamasi yang berkelanjutan dan sekarang ada bukti yang baik bahwa sel-sel ini terakumulasi dalam otak paska iskemik dalam beberapa jam reperfusi. Peningkatan jumlah limfosit T pada keadaan iskemik terjadi 24 jam pertama dan dapat bertahan dalam beberapa waktu hingga tujuh hari (Kim *et al.*, 2016).

Implikasi klinik pada kadar limfosit yang mesti diketahui yaitu bahwa kadar limfosit yang tinggi (limfositosis) dapat ditemukan pada kondisi infeksi seperti infeksi virus, bakteri, dan juga karena pengaruh hormonal. Olahraga, stress dapat juga menyebabkan limfositosis. Kadar limfosit yang rendah (limfopenia) juga bisa ditemukan pada penyakit Hodgkin, trauma, luka bakar, penggunaa obat glukokortikoid. (Kementerian Kesehatan RI, 2011)

II.5 MONOSIT

Monosit berasal dari sel batang hematopoietik (HSC) di hati dan limpa selama perkembangan embrio dan terutama di sumsum tulang setelah lahir (Kim *et al.*, 2016). Monosit seperti neutrofil merupakan leukosit fagosit. Sel yang paling awal adalah monoblas (monosit belum matang) berasal dari sumsum tulang, Monosit keluar dari sumsum tulang setelah matang dan bersirkulasi hanya satu atau dua hari sebelum menetap diberbagai jaringan diseluruh tubuh. Di tempat tinggal baru mereka, monosit terus menjadi dewasa dan sangat membesar, menjadi fagosit jaringan besar yang dikenal sebagai makrofag. Rentang hidup makrofag dapat berkisar dari bulan hingga tahun kecuali jika hancur lebih cepat saat melakukan aktivitas fagositiknya (Sherwood, 2010).

Monosit/makrofag mempunyai peranan langsung pada stroke. Sel mikroglia yang berasal dari makrofag dan *blood-derived monocyte/macrophage* mempunyai peranan morfologi dan fungsional pada

stroke. Mikroglia diaktivasi cepat sebagai respon dari kerusakan otak. Aktivasi terjadi dalam beberapa menit dari onset iskemik dan menginduksi produksi dari sitokin inflamasi yaitu interleukin 1- β (IL-1 β) dan *tumor necrosis factor* (TNF). Sesudah terjadi aktivasi dari mikroglia, *blood-derived monocyte*/makrofag menginfiltrasi ke jaringan otak dalam beberapa jam sampai beberapa hari. Studi lain ada yang menunjukkan bahwa *blood-derived monocyte*/makrofag banyak terdapat pada jaringan yang iskemik pada hari ketiga sampai ketujuh setelah stroke. Sebaliknya mikroglia meningkat pada hari pertama setelah iskemik serebri dan bertahan pada lesi iskemik hari ke empat sampai hari ketujuh (Chiba and Umegaki, 2013).

Monosit terdiri dari tiga subset utama berdasarkan ekspresi CD 14 dan CD 16 yaitu subset klasik (CD14⁺⁺CD16⁻), subset perantara (CD14⁺⁺CD16⁺) dan subset non klasik (CD14⁺CD16⁺⁺). Kedua subset (klasik dan perantara) menyusup ke otak iskemik mulai hari pertama setelah stroke iskemik, memuncak hari ketiga dan menurun hari ketujuh. Monosit klasik (CD14⁺⁺CD16⁻) meningkat secara signifikan dalam sirkulasi darah, monosit non klasik (CD14⁺CD16⁺⁺) menurun. Peningkatan subset monosit perantara (CD14⁺⁺CD16⁺) dan penurunan monosit non klasik (CD14⁺CD16⁺⁺) pada fase akut dan subakut stroke, berkorelasi dengan perkembangan dan keparahan infark otak. Studi klinis menunjukkan bahwa peningkatan monosit perantara (CD14⁺⁺CD16⁺) dalam sirkulasi darah pasien stroke dikaitkan dengan keparahan cedera otak, dan penurunan jumlah monosit non klasik

(CD14+CD16++) dikaitkan dengan komplikasi stroke yaitu infeksi terkait stroke (ElAli and LeBlanc, 2016).

Peningkatan kadar monosit (monositosis) berkaitan dengan infeksi virus, bakteri, parasit, kerusakan jantung, gangguan hematologi, kanker, penyakit autoimun, gangguan ginjal. Penurunan kadar monosit (monositopenia) mengindikasikan stress, penggunaan obat glukokortikoid, imunosupresan (Kementerian Kesehatan RI, 2011; Bowe *et al.*, 2017).

II.6 RASIO LIMFOSIT-MONOSIT (RLM)

Rasio limfosit-monosit (RLM) merupakan hasil pembagian dari nilai absolut limfosit dengan nilai absolut monosit (Goto *et al.*, 2018). Nilai absolut dari limfosit dan monosit adalah Monosit 2-8% (absolut: 80 – 720/ μ l) dan Limfosit 25-45% (absolut: 1000 – 4050/ μ l) (Baratawidjaja KG, 2010). Untuk menerapkan nilai batas RLM berdasarkan populasi sehat normal, penelitian lebih lanjut tentang perbedaan awal berdasarkan ras, usia, dan jenis kelamin harus dilakukan (Lee *et al.*, 2018).

Rasio rata-rata limfosit-terhadap-monosit secara signifikan lebih tinggi pada perempuan daripada laki-laki, dan itu lebih tinggi pada populasi perkotaan daripada pedesaan. Selain itu, rasio limfosit-ke-monosit tertinggi diamati pada kelompok usia di bawah 40 tahun. Menurut hasil uji Tukey, perbedaan yang diamati dalam rasio rata-rata limfosit-terhadap-monosit di

antara semua kelompok umur (kecuali kelompok usia 40-49 tahun dan 50-59 tahun) secara statistik signifikan (Moosazadeh *et al.*, 2019).

RLM pada populasi yang sehat hanya ada satu studi. Oleh Lee *et al.* (2018) melaporkan rata-rata Rasio limfosit-monosit pada orang sehat adalah 5,31. RLM lebih tinggi pada perempuan dari pada laki-laki, RLM dari populasi Iran lebih tinggi daripada populasi Korea. Perbedaan-perbedaan ini bisa disebabkan oleh perbedaan dalam pendekatan pengambilan sampel kecuali perbedaan ras dan distribusi usia. Data menunjukkan bahwa berbagai skor *cutoff* harus dipertimbangkan sesuai dengan jenis kelamin, usia dan tempat tinggal, terutama untuk RLM (Lee *et al.*, 2018; Moosazadeh *et al.*, 2019).

II.7 PERAN RASIO LIMFOSIT-MONOSIT (RLM) TERHADAP LUARAN KLINIS STROKE

Dua sel inflamasi utama, limfosit dan monosit telah dilaporkan memainkan peran kunci dalam kerusakan otak sekunder (Song *et al.*, 2020). Proses patofisiologis setelah onset stroke diketahui terkait dengan infiltrasi leukosit dan pelepasan berbagai mediator inflamasi, yang berkontribusi pada kematian neuron atau apoptosis, yang mengakibatkan luaran yang buruk pada pasien dengan stroke iskemik akut. (Ren, Liu, *et al.*, 2017)

jumlah limfosit menurun setelah stroke iskemik akut, dan penurunan limfosit berkontribusi pada hasil yang buruk pada pasien dengan stroke iskemik

akut. Jumlah limfosit yang rendah disebabkan oleh stres sistemik setelah stroke, yang mendorong aktivasi sistem simpatik mengakibatkan pelepasan kortisol dan menginduksi apoptosis. Monosit memiliki peran penting dalam respon inflamasi. Monosit yang terdiri dari tiga subtipe memiliki efek beragam pada patobiologi setelah iskemik. Monosit klasik yang meningkat secara signifikan dan monosit non klasik menurun. Monosit klasik, yang proporsinya meningkat setelah stroke, merupakan prediktor independen dari hasil buruk. Penurunan jumlah monosit non klasik berkorelasi dengan perkembangan dan keparahan infark otak. (Ren, Liu, *et al.*, 2017)

RLM menggambarkan keseimbangan antara limfosit dan monosit yaitu biomarker yang mewakili inflamasi dan respon imun (Song *et al.*, 2020). Oleh karena itu, RLM yang mengintegrasikan limfosit dan monosit ke dalam satu indeks dapat menjadi prediktor baru prognosis pada pasien dengan stroke iskemik akut. Jumlah limfosit yang lebih rendah dan peningkatan monosit pada pasien stroke cenderung memiliki hasil yang buruk. Jumlah monosit yang lebih tinggi merupakan faktor risiko independen untuk hasil yang buruk untuk pertama kalinya (Ren, Liu, *et al.*, 2017)

RLM merupakan biomarker sederhana, murah, dan dapat diperoleh segera yang berguna dalam memprediksi perburukan neurologis, selain itu berguna juga untuk memprediksi kematian dalam 90 hari pada pasien stroke hemoragik. *Cut off* untuk perburukan neurologis yaitu 2.21 dengan sensitifitas

75.90% dan spesifitas 63.80%. Dan *cut off* untuk kematian dalam 90 hari yaitu 2.19 dengan sensitifitas 55.60% dan spesifitas 72.20 % (Qi *et al.*, 2018). Shen li 2018 melaporkan RLM antara 2.3-3.2 signifikan untuk *outcome* yang buruk pada thrombosis sinus vena serebral (Li *et al.*, 2019).

Penggunaan obat imunosupresan seperti steroid juga mempengaruhi Rasio limfosit-monosit, dimana kadar limfosit dan monosit akan menurun diperifer dalam empat jam karena terjadi redistribusi temporer limfosit dari intravaskular kedalam limfa, dan sumsum tulang (Saputri, 2010). Penyakit sirosis juga menunjukkan terjadi penurunan kadar RLM (Zhang *et al.*, 2015).

II.8 LUARAN KLINIS STROKE

Kehilangan fungsi setelah stroke oleh World Health Organization (WHO) pada tahun 1890 digambarkan sebagai impairments, disabilitas dan handicaps sebagai berikut (Schuntermann, 1996) :

1. *Impairments* adalah suatu kehilangan atau abnormalitas fungsi atau struktur psikologis, fisiologis anatomis.
2. Disabilitas adalah hambatan atau ketidakmampuan akibat impairments untuk melakukan suatu aktivitas dalam rentang waktu tertentu dengan cara atau yang dianggap normal untuk orang sehat.

3. *Handicaps* adalah gangguan yang dialami oleh individu akibat “impairment” atau “disabilitas” tersebut, sehingga seseorang terbatas dalam melakukan suatu perannya sebagai manusia normal

Skoring atau skala yang telah dipakai disalah satu unit stroke Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo adalah *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS), *Barthel Index* dan *Modified Rankin Scale*. Penelitian klinis tentang stroke secara rutin menggunakan mortalitas sebagai outcome, namun terdapat outcome lainnya yang penting untuk investigasi klinis dan relevan dengan pasien, mencakup perubahan fungsi tubuh dan disabilitas (Misbach, 2011).

Modified rankin scale (MRS) mengukur derajat disabilitas atau ketergantungan pada aktifitas sehari-hari. Pemeriksaan ini membutuhkan wawancara dan penilaian terhadap pasien atau lewat pengasuh dan dapat diselesaikan dalam waktu 5 menit (Lees *et al.*, 2012). Skor ini digunakan pada beberapa studi untuk menilai luaran efek terapi dan *outcome* stroke (Van Swieten *et al.*, 1988)

Tabel 1 *Modified Rankin Scale (MRS)*

Keterangan	Skor
Tidak ada gejala atau tanda	0
Tidak ada disabilitas walau disertai dengan gejala atau tanda defisit neurologis	1
Disabilitas ringan, namun tidak membutuhkan bantuan	2
Disabilitas sedang, namun dapat berjalan	3
Disabilitas sedang berat	4
Disabilitas berat, terbaring ditempat tidur	5
Meninggal	6

Penilaian MRS dengan wawancara tatap muka memiliki reliabilitas yang baik, kelayakan, dan kesepakatan antar penilai. Penilaian MRS melalui wawancara lewat telepon mungkin menjadi pendekatan yang berharga dan hemat biaya untuk meningkatkan tindak lanjut dalam studi klinis karena penilaian tatap muka mungkin sulit untuk beberapa pasien, perawat, dan peneliti karena persyaratan transportasi dan biaya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penilaian MRS lewat telepon memiliki kesesuaian yang baik dengan penilaian tatap muka saat menggunakan wawancara terstruktur, serta dapat dinilai menggunakan wawancara telepon membuat pengujian hasil lebih layak dan praktis daripada skala hasil fungsional lainnya karena pengurangan biaya wawancara telepon dalam kaitannya dengan wawancara

tatap muka. Oleh karena itu ,MRS berpotensi untuk memfasilitasi penilaian status fungsional pasien stroke baik dalam praktik klinis maupun dalam studi penelitian (Baggio *et al.*, 2014).

Prognosis stroke dipengaruhi oleh berbagai faktor dan keadaan yang terjadi pada penderita stroke. Tolak ukur yang digunakan diantaranya *outcome* fungsional seperti kelemahan motorik, disabilitas, *quality of life*, serta mortalitas. *Outcome* fungsional tergantung pada tingkat keparahan kerusakan awal serta sejumlah variable lain seperti usia, disfungsi kognitif, komorblditas (Gofir, 2011).

Dalam suatu studi oleh Lian jing 2015 melaporkan bahwa usia,denyut nadi,hipertensi, hiperglikemia,riwayat penyakit jantung, riwayat atrial fibrilasi, suhu tubuh, waktu onset saat masuk rumah sakit, riwayat stroke sebelumnya, riwayat alkohol, kadar leukosit, jumlah monosit dan rasio netrofil, subtype stroke,menjadi faktor utama dari prognosis buruk pada stroke iskemik (Liang *et al.*, 2015).

Selain itu faktor lain yang mempengaruhi prognosis adalah letak lesi, luas lesi dan komplikasi. Dimana letak lesi di brain stem memiliki outcome yang buruk (Lathifah, 2018). Sedangkan letak lesi dalam (kapsula interna, ganglia basalis, thalamus, putamen , nucleus kaudatus dan pons) terbukti berperan sebagai faktor prognosis perburukan defisit neurologis stroke iskemik (Swatindra and Gofir, 2015). Namun seperti yang disampaikan oleh sumber

lain bahwa ternyata terdapat beberapa faktor lain yang mempengaruhi prognosis selain letak lesi, dan luas lesi yang kadang tidak ikut diperhitungkan misalnya komorbid pada pasien, suhu tubuh dan lainnya (Lathifah, 2018).

Berikut faktor-faktor yang berhubungan dengan peningkatan risiko kematian dan buruknya outcome pasca stroke (Dongoran, 2007) :

Tabel 2. Faktor-faktor yang berhubungan dengan peningkatan risiko kematian dan buruknya outcome pasca stroke

Gambaran demografis	
Umur	
Gambaran klinis	
Umum	Neurologis
Atrial fibrilasi	Penurunan tingkat kesadaran
Gagal jantung	Gangguan motoric berat
Serangan jantung iskemik	Gangguan proprioseptif
Diabetes mellitus	Disfungsi visuospasial
Demam	Gangguan kognitif
Inkontinensia urin	<i>Total anterior circulation syndrome</i>
Riwayat stroke sebelumnya	Rendahnya skor ADL
Pemeriksaan sederhana	Pemeriksaan CT/MRI
Hiperglikemia	Lesi yang luas
Tingginya hematokrit	Adanya efek massa
Abnormalitas EKG	Darah intraventrikuler
	Hidrosefalus

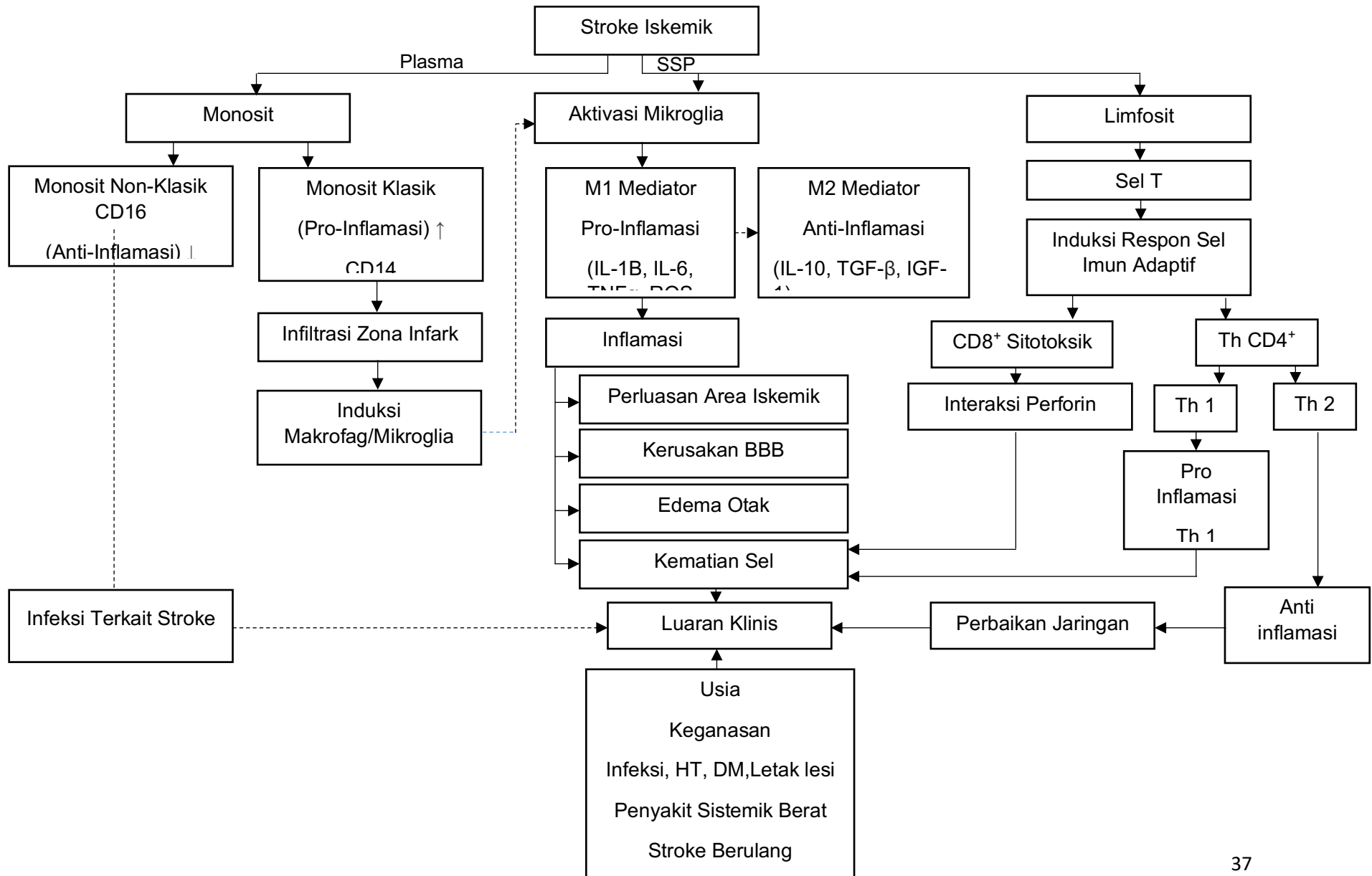
Terdapat banyak faktor fisiologis yang dapat mempengaruhi *outcome* setelah stroke dimana kondisi tersebut dapat memperburuk *outcome*. Dalam studi kohort pasien stroke iskemik dianalisis menggambarkan pengaruh derajat keparahan stroke berpengaruh terhadap mortalitas pasien stroke iskemik akut pada hari ke-7, hari ke-30 dan satu tahun pasca stroke iskemik, menunjukkan bahwa beberapa faktor yang berhubungan dengan mortalitas 7 hari pasca stroke juga berhubungan dengan mortalitas satu tahun pasca stroke. Para penulis juga menemukan bahwa keparahan stroke (diukur dengan Skala Neurologis Kanada) secara independen terkait dengan kematian di ketiga titik waktu tersebut, serta perburukan neurologis selama rawat inap. Mereka menemukan bahwa pasien yang lebih tua menunjukkan skor NIHSS yang lebih tinggi (pada awal dan hari ke-7) dan, lebih banyak perburukan neurologis dan kematian pada hari ke-7 .(Torres-Aguila *et al.*, 2019)

Di antara daftar panjang komorbiditas yang dapat mempengaruhi *outcome*, telah dilaporkan terkait dengan *outcome* stroke: diabetes mellitus (DM), tekanan darah tinggi (BP), fibrilasi atrium (AF), hiperlipidemia, indeks massa tubuh (BMI), disfungsi ginjal, gagal jantung, demensia sebelumnya, dan kecacatan sebelumnya. Adanya DM serta peningkatan kadar glukosa dikaitkan dengan *outcome* jangka panjang dan *outcome* akut yang lebih buruk. Beberapa penelitian yang mengaitkan TD dengan *outcome* neurologis akut. Secara khusus, penulis menemukan bahwa penurunan tekanan darah sistolik

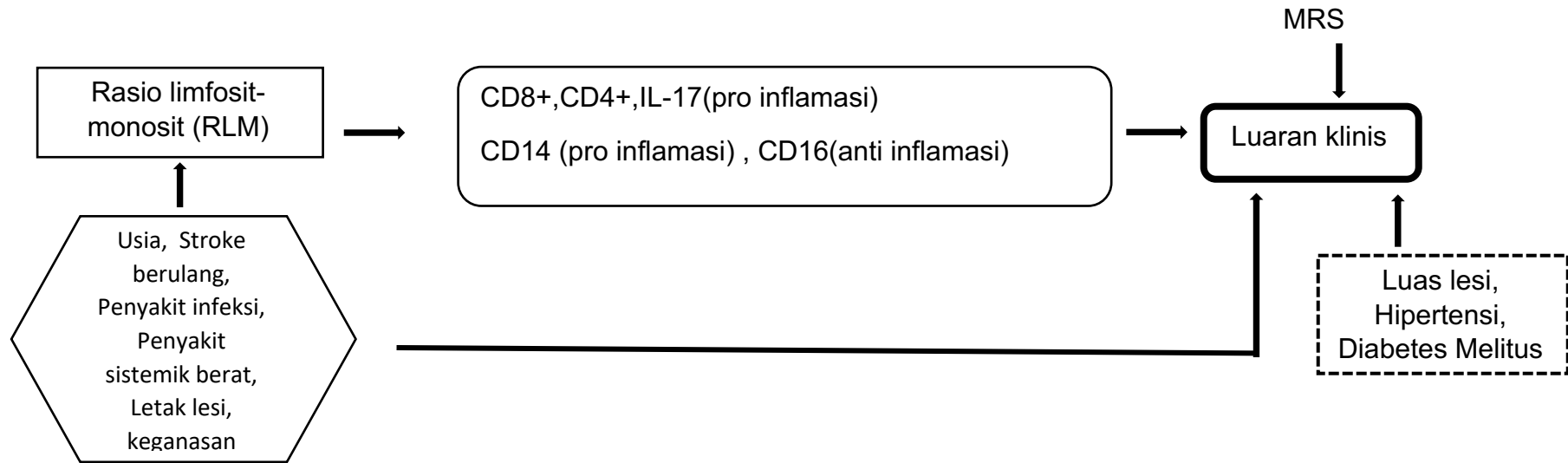
24 jam setelah trombolisis secara independen dikaitkan dengan peningkatan skor NIHSS pada 24 jam setelah trombolisis. Tekanan darah (baik diastolik dan sistolik) mempengaruhi *outcome*, dengan tekanan darah sistolik yang tinggi dan penurunan tekanan darah diastolik dikaitkan dengan *outcome* yang lebih buruk. AF adalah salah satu faktor risiko utama stroke dan dampaknya sebagian besar mengacu pada *outcome* jangka panjang. BMI dikaitkan dengan penyakit kardiovaskular, kelebihan berat badan dan obesitas merupakan faktor risiko. Namun demikian, pengaruhnya terhadap *outcome* stroke telah menjadi kontroversi karena "paradoks obesitas." Telah diamati dalam penelitian lain dengan 1.064 pasien, di mana tidak ada hubungan yang ditemukan antara BMI dan 1 minggu *outcome* neurologis awal. Kesimpulannya, tampaknya BMI tidak berdampak pada *outcome* akut. Disfungsi ginjal merupakan faktor risiko kardiovaskular yang umumnya ditemukan pada pasien stroke, didefinisikan sebagai perkiraan laju filtrasi glomerulus (eGFR) <60 mL / menit. Pada suatu penelitian bahwa pasien dengan eGFR <60 mL / menit memiliki skor NIHSS yang lebih tinggi pada awal dan pada 24 jam. Di sisi lain, penelitian lain, dengan 199 pasien yang direkrut, tidak menemukan perbedaan yang signifikan dalam peningkatan NIHSS pada 24 jam pasca trombolisis, kemandirian fungsional pada 3 bulan, atau kematian 30 hari antara pasien dengan atau tanpa disfungsi ginjal. Akibatnya, tidak jelas apakah disfungsi ginjal dapat dikaitkan dengan hasil akut yang lebih buruk. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memperjelas hasil yang kontroversial ini. Untuk gagal jantung, demensia

sebelumnya atau kecacatan sebelumnya, belum ada ditemukan penelitian yang berhubungan dengan *outcome* akut.(Torres-Aguila *et al.*, 2019)


II.7 KERANGKA TEORI



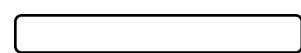
II.8 KERANGKA KONSEP



 Variabel bebas (independen)

 Variabel tergantung (dependen)

 Variabel kontrol

 Variabel antara

 Variabel perancu