

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Secara global, stroke menjadi penyebab kematian kedua tertinggi dan salah satu penyebab utama kecacatan. Pada tahun 2019, lebih dari 77 juta kasus stroke iskemik tercatat, dengan 3,29 juta kematian dan lebih dari 63 juta hidup dengan disabilitas (Feigin VL *et al.*, 2019). Di Indonesia, prevalensi stroke juga meningkat signifikan, dan kini menjadi penyebab kematian utama menurut data *Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME)* untuk Indonesia tahun 2021 (IHME Indonesia., 2021).

Inflamasi merupakan komponen penting dalam perkembangan dan resolusi stroke iskemik. Di fase akut, pelepasan mediator inflamasi menarik sel imun ke jaringan otak yang rusak. Salah satu mediator tersebut adalah *Chemokine (C-C motif) ligand 5 (CCL5)*, yang diproduksi oleh berbagai sel seperti limfosit T, trombosit, dan sel glial (Terao S *et al.*, 2008). CCL5 bekerja dengan menstimulasi migrasi leukosit melalui ikatannya dengan *Chemokine CC Receptor Type 5 (CCR5)*, yang diekspresikan oleh makrofag, sel limfosit T yang teraktifasi, *natural killer cells*, sel endotel, dan sel progenitor endotel (Zhang Z *et al.*, 2020). CCL5 dan ligannya dapat memainkan peran ganda dalam perkembangan stroke terkait inflamasi. Proses inflamasi akan memicu proses migrasi sel, proliferasi, deposisi matriks, dan remodeling jaringan, yang penting untuk regenerasi jaringan setelah stroke. Namun, inflamasi yang berlebihan memperburuk kerusakan otak setelah stroke (Pawluk H *et al.*, 2023).

Hasil studi terkait kadar CCL5 terhadap derajat keparahan dan keluaran klinis pasien stroke iskemik masih kontroversi. Beberapa menunjukkan kadar CCL5 tinggi berhubungan dengan stroke berat dan mortalitas (Pawluk H *et al.*, 2023), sementara studi lain menunjukkan kadar CCL5 rendah berhubungan dengan perluasan infark dan luaran buruk (Hutano *et al.*, 2020, Julián-Villaverde FJ *et al.*, 2022).

Selain CCL5, neutrofil memainkan peran penting dalam kerusakan otak pasca stroke. Mereka merupakan sel imun pertama yang bereaksi, melepaskan berbagai molekul proinflamasi dan enzim yang merusak sawar darah otak. Peningkatan jumlah neutrofil telah dikaitkan dengan stroke yang lebih berat dan hasil fungsional yang buruk (Qiu YM *et al.*, 2021, Jickling GC *et al.*, 2015).

Trombosit juga berkontribusi pada peradangan dengan melepaskan beberapa sitokin dan kemokin, salah satunya CCL5 (Chen Y *et al.*, 2020). Trombosit memiliki peran penting dalam merekrut neutrofil ke lokasi cedera dan berperan sebagai jembatan untuk melewati endothelium, sehingga berperan dalam patofisiologi kerusakan otak stroke iskemik (Denorme F *et al.*, 2021).

Di antara penyakit tidak menular, stroke merupakan penyebab kematian dan kecacatan kedua terbanyak. Sehingga dibutuhkan penemuan biomarker perifer untuk penilaian pasien terkait evolusi kecacatan dan ketergantungan fungsional dalam aktivitas sehari-hari. Dari beberapa hasil studi sebelumnya pada stroke iskemik akut, masih belum jelas hubungan pengaruh kadar CCL5 terhadap severitas stroke iskemik akut. Respon inflamasi yang berlebihan diduga berkaitan dengan peran CCL5 merekrut dan aktivasi neutrofil. Trombosit juga dapat berperan sebagai proinflamasi dengan merekrut, membantu migrasi dan aktivasi neutrofil, sehingga menyebabkan kerusakan otak

iskemik. Selain itu trombosit yang teraktivasi juga dapat melepaskan kemokin CCL5. Hal ini yang menjadi landasan dilakukan penelitian untuk mencari hubungan kadar CCL5 dengan jumlah neutrofil absolut dan trombosit terhadap severitas stroke iskemik akut sehingga memungkinkan menjadi biomarker potensial memprediksi keparahan stroke iskemik akut, guna mengoptimalkan strategi terapi yang menargetkan jalur inflamasi ini.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat ditarik rumusan masalah apakah terdapat hubungan kadar CCL5, *absolute neutrophil count* (ANC) dan jumlah trombosit dengan severitas stroke iskemik akut yang diukur dengan *National Institutes Health Stroke Scale* (NIHSS)?

## 1.3 Hipotesis Penelitian

Terdapat hubungan kadar CCL5, *absolute neutrophil count* (ANC) dan jumlah trombosit yang lebih tinggi dengan severitas stroke iskemik akut sedang-berat.

## 1.4 Tujuan Penelitian

### 1.4.1 Tujuan Umum

Mengetahui hubungan kadar CCL5, *absolute neutrophil count* (ANC) dan jumlah trombosit dengan severitas stroke iskemik akut yang diukur dengan *National Institutes Health Stroke Scale* (NIHSS).

### 1.4.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis perbedaan kadar CCL5, ANC dan jumlah trombosit pada severitas stroke iskemik akut ringan dan sedang-berat.
2. Menganalisis hubungan kadar CCL5, ANC, dan jumlah trombosit dengan severitas stroke iskemik akut.
3. Menentukan nilai titik potong (*cut-off*) optimal dari kadar CCL5, ANC dan jumlah trombosit untuk memprediksi severitas stroke iskemik akut ringan dan sedang-berat serta menilai kemampuan ketiga variabel tersebut dalam membedakan antara severitas stroke iskemik akut ringan dan sedang-berat, dengan menggunakan *Receiver Operating Characteristic* (ROC) dan perhitungan *Area Under the Curve* (AUC).

## 1.5 Teori

### 1.5.1 Stroke Iskemik

Definisi stroke dari *World Health Organization* (WHO) tahun 1970 adalah tanda-tanda klinis gangguan fungsi otak baik fokal (maupun global) yang berkembang dengan cepat dan berlangsung lebih dari 24 jam atau dapat menyebabkan kematian, tanpa penyebab lain selain vaskular. Meskipun masih digunakan secara luas, definisi WHO sangat bergantung pada gejala klinis dan kini dianggap ketinggalan zaman oleh *American Heart Association/American Stroke Association* (AHA/ASA). Berdasarkan kemajuan pencitraan otak saat ini, kriteria inklusi 24 jam untuk infark serebral tidak akurat dan menyesatkan, karena cedera permanen dapat terjadi lebih cepat. Selain itu, disfungsi otak global jarang disebabkan oleh penyakit serebrovaskular. Menurut

AHA/ASA 2013 definisi stroke iskemik adalah sebuah episode disfungsi neurologis yang disebabkan oleh infark serebral, medula spinalis, atau retina fokal (harus memenuhi kriteria infark SSP). Infark SSP adalah infark (kematian sel) pada otak, sumsum tulang belakang, atau retina yang disebabkan oleh iskemia, berdasarkan syarat temuan pertama: adanya patologis, pencitraan, atau bukti obyektif lainnya adanya lesi iskemik fokal pada otak, medulla spinalis, atau retina dalam distribusi sesuai area vaskular tertentu; atau syarat temuan kedua: adanya bukti klinis cedera iskemik fokal otak, sumsum tulang belakang, atau retina berdasarkan gejala yang menetap  $\geq 24$  jam atau sampai kematian, dan tidak disebabkan etiologi lagi selain vaskular (Sacco RL *et al.*, 2013). Berdasarkan waktu, fase stroke dikategorikan hiperakut ( $< 24$  jam), akut (1-7 hari), subakut awal (7-30 hari) dan subakut lanjut (1-6 bulan) (Osa García A *et al.*, 2022).

Secara global, stroke merupakan penyebab kematian nomor dua, yaitu sebesar 11,6% dari seluruh kematian pada tahun 2019 (Feigin VL *et al.*, 2019). Stroke iskemik menyebabkan kerusakan neurologis, kematian dan kecacatan jangka panjang pada orang dewasa sehingga menimbulkan beban kesehatan dan ekonomi yang sangat besar (Murray CJL *et al.*, 2020). Secara global, 77,19 juta orang mengalami stroke iskemik pada tahun 2019, dan 63,48 juta tahun hidup dengan disabilitas serta 3,29 juta orang meninggal disebabkan oleh stroke iskemik (Feigin VL *et al.*, 2019).

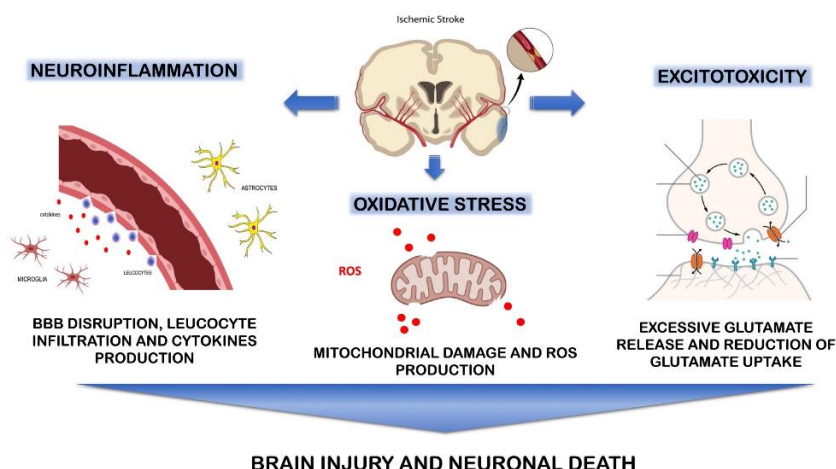
Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018, prevalensi stroke di Indonesia meningkat dari 7 per 1000 penduduk pada tahun 2013, menjadi 10,9 per 1000 penduduk pada tahun 2018 (Rikesdas., 2018). Di Indonesia, stroke menjadi penyebab kematian utama berdasarkan data *Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME)* untuk Indonesia tahun 2021 (IHME Indonesia., 2021).

Stroke terjadi akibat penyumbatan pembuluh darah (stroke iskemik) atau perdarahan intrakranial lokal (stroke hemoragik). Stroke iskemik menyumbang sekitar 85% kasus seluruh stroke. Stroke iskemik disebabkan oleh berkurangnya suplai darah dan oksigen ke jaringan otak secara tiba-tiba karena sumbatan arteri yang mensuplai otak oleh emboli bekuan darah yang terbentuk akibat fibrilasi atrium atau trombus yang terbentuk pada timbunan lemak di dinding pembuluh darah yang disebut sebagai plak aterosklerotik (Palmer S.J., 2023). Area otak yang terkena disebut inti (*core*) iskemik dimana sebagian besar sel mengalami kematian permanen. Di sekitar inti iskemik terdapat wilayah penumbra iskemik yang menjadi target intervensi terapeutik. Manifestasi umum yang ditemukan hemiplegia, disartria, dan paresis. Manifestasi lain sesuai wilayah otak tertentu dari suplai darah arteri yang tersumbat. Stres oksidatif dan reaksi inflamasi merupakan mekanisme kunci yang menyebabkan kerusakan saraf lebih lanjut. Terganggunya suplai nutrisi dan oksigen menyebabkan gangguan metabolisme neuron dan sel glia yang akan menjadi gangguan neurologi permanen bila sirkulasi tidak segera kembali dalam batas waktu tertentu (Wein T *et al.*, 2018, Salaudeen MA *et al.*, 2024). Berkurangnya aliran darah dalam beberapa menit akan menyebabkan kematian sel (nekrosis). Nekrosis diikuti oleh gangguan membran plasma, pembengkakan organel, bocornya isi intraseluler ke ruang ekstraseluler, dan hilangnya fungsi saraf (Kuriakose D *et al.*, 2020). Pada stroke iskemik terjadi perubahan pada inti iskemik dan penumbra di sekitarnya. Perubahan makro dan mikroskopis ini biasanya dikategorikan dalam lima istilah umum: eksitotoksisitas, stres oksidatif, peradangan saraf, apoptosis, dan autofagi (Salaudeen MA *et al.*, 2024).

Ketika arteri serebral utama tersumbat, suplai darah ke daerah otak yang terkena akan berkurang sehingga terjadi kegagalan energi akibat hipoksia dan iskemia yang akan mengganggu produksi *Adenosine Triphosphate* (ATP). Sehingga kanal ion pengembali gradien pada membran organel terganggu, termasuk kalsium-ATPase dan natrium/kalium-ATPase (Van Putten MJAM *et al.*, 2021). Kondisi ini menyebabkan masuknya ion kalsium ke dalam neuron secara berlebihan, diikuti aktivasi enzim yang bergantung pada ion kalsium sehingga terjadi pelepasan glutamate yang berlebihan dan penurunan *reuptake*. Glutamat yang dilepaskan berlebihan memicu eksitoksisitas dengan menstimulasi *N-metil-D-Aspartat Receptors* (NMDAR) pada membran neuron pascasinaps sehingga terbentuk *reactive oxygen species* (ROS), terjadi stress oksidatif, disfungsi mitokondria dengan hasil akhir kematian pada sel neuron (Ludhiadch A *et al.*, 2022).

Stress oksidatif adalah fenomena yang disebabkan ketidakseimbangan antara produksi dan akumulasi ROS dalam sel dan jaringan dengan kemampuan sistem biologis untuk mendetoksifikasi produk reaktif tersebut. Hal ini disebabkan gangguan metabolisme akibat gangguan aliran darah otak. Rekanalisisasi dan reperfusi setelah obstruksi aliran darah dapat menyebabkan cedera akibat stres oksidatif. Faktor-faktor seperti rendahnya antioksidan, tinggi pro-oksidan (misalnya zat besi), dan peningkatan metabolisme oksidatif berkontribusi memperburuk kerusakan akibat stress oksidatif (Pawluk H *et al.*, 2022). Stroke iskemik akut mengganggu homeostasis kalsium, melepaskan kalsium di otak dan mengaktifkan jalur yang menghasilkan ROS dan menyebabkan stress oksidatif. Ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan ini menghasilkan ROS dan radikal hidroksil yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan pada sel otak. Generasi ROS seluler semakin meningkat pada saat stroke iskemik kekurangan glukosa dan oksigen, memperburuk stres oksidatif dan kerusakan otak. Produksi anion superoksida selama iskemia terutama disebabkan oleh *xanthine oxidase* (XO) dan *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase* (NOX). Kondisi kekurangan ATP saat iskemia akan menyebabkan menyebabkan akumulasi hipoxantin dan xantin yang merupakan substrat untuk XO sehingga pembentukan ROS meningkat. NOX telah diketahui merupakan sumber utama produksi superoksida yang diaktivasi oleh reseptor N-metil-D-aspartat (Yu H *et al.*, 2023).

Pada stroke iskemik terjadi proses inflamasi saraf yang melibatkan sel imun bawaan dan sel imun adaptif. Nekrosis dan apoptosis neuron setelah stroke iskemik, akan terjadi pelepasan pelepasan ROS, kemokin, dan sitokin yang memicu proses inflamasi. Proses ini terjadi dalam mikrosirkulasi dan melibatkan dua sitotipe, yaitu sel imun bawaan (mikroglia) dan sel imun adaptif (limfosit), yang menyebabkan kematian neuron. Proses peradangan saraf bergantung pada tempat kejadian, periode, dan perjalanan penyakit neurologis. Mikroglia memainkan peran ganda dalam peradangan saraf selama fase akut timbulnya stroke. Selain itu, polarisasi mikroglia, telah dikaitkan dengan memperburuk iskemia serebral (Xue Y *et al.*, 2021). Inflamasi saraf yang kuat selama fase akut stroke menyebabkan kerusakan sawar darah-otak, kerusakan neuron, dan luaran klinis yang buruk. Kematian neuron merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas akibat stroke iskemik, dan keberhasilan penatalaksanaannya ditentukan oleh sejauh mana proses inflamasi saraf dapat dicegah (Candelario-Jalil E *et al.*, 2022).



**Gambar 1.** Patofisiologi yang terlibat pada stroke iskemik. Eksitotoksisitas, neuroinflamasi, dan stress oksidatif yang akan memicu terjadinya autofagi dan apoptosis. *BBB: blood-brain barrier, ROS: reactive oxygen species (Maida CD et al., 2024)*

Apoptosis melibatkan serangkaian peristiwa intrinsik dan/atau ekstrinsik. Pada jalur intrinsik, berkurangnya suplai nutrisi dan oksigen ke sel mengganggu produksi ATP melalui jalur fosforilasi oksidatif glikolitik normal. Dengan demikian jalur anaerobik mendominasi, tetapi ATP yang dihasilkan tidak cukup untuk mempertahankan aktivitas seluler. Hal ini menyebabkan ketidakseimbangan ion (masuk ion  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  dan keluar ion  $\text{K}^+$ ) sehingga ion kalsium terakumulasi di dalam sel, yang menyebabkan pelepasan berlebihan neurotransmitter asam amino eksitatorik terutama glutamat ke dalam ruang ekstraseluler. Proses ini kemudian diikuti oleh rangkaian peristiwa sitotoksik dalam nukleus dan sitoplasma, termasuk aktivasi *calpain* serta pembentukan ROS dari metabolisme mitokondria, yang menyebabkan kerusakan pada membran dan DNA sel (Tuo QZ et al., 2022), sedangkan jalur ekstrinsik, yang sering terjadi secara independen atau bersinergi dengan jalur intrinsik, melibatkan aktivitas faktor pemberi sinyal peradangan yang dilepaskan oleh astrocyt, mikroglia, dan oligodendrosit akibat kerusakan serebrovaskular. Faktor pemberi sinyal inflamasi ini mencakup berbagai sitokin dan reseptor proinflamasi termasuk *Tumor Necrosis Factor- $\alpha/\beta$*  (*TNF- $\alpha/\beta$* ), kemokin, interleukin  $1\beta$ , *TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor* (TRAIL-R), dan *Fas Ligand* (FasL). Faktor pemberi signal ini menempati reseptor pada membran sel saraf memicu peristiwa apoptosis yang melibatkan sinyal yang diinduksi oleh *caspase* (Xu W et al., 2017).

Autofagi adalah proses intraseluler meliputi degradasi, pembuangan dan daur ulang komponen intraseluler yang rusak atau tidak diperlukan seperti protein dan organela melalui proses pengemasan ke dalam autofagosom dan penggabungan dengan lisosom. Autofagi pada stroke iskemik dipicu oleh kekurangan oksigen dan nutrisi. Selama iskemia serebral, terbatasnya ketersediaan insulin dan asam amino, menyebabkan terhambatnya aktivasi *mammalian target of rapamycin complex 1* (*mTORC1*) yang merupakan penghambat utama autofagi (Hwang JY et al., 2017). Hal ini seiring dengan peningkatan rasio *adenosine monophosphate* (AMP) terhadap *adenosine triphosphate* (ATP) akan mengaktifkan *AMP-activated protein kinase* (AMPK)

sehingga meningkatkan autofagi. Selain itu, disfungsi mitokondria, akumulasi ROS, dan stres retikulum endoplasma juga menginduksi autofagi sebagai respons terhadap iskemia serebral (Yin Y *et al.*, 2017). Autofagi telah terbukti memiliki efek menguntungkan dan merugikan pada stroke iskemik. Di satu sisi autofagi dapat membantu menghilangkan komponen seluler yang rusak dan meningkatkan kelangsungan hidup sel. Pada di sisi lain autofagi yang berlebihan atau berkepanjangan dapat menyebabkan degradasi komponen seluler secara berlebihan dan berkontribusi terhadap kematian neuron (Peng L *et al.*, 2022).

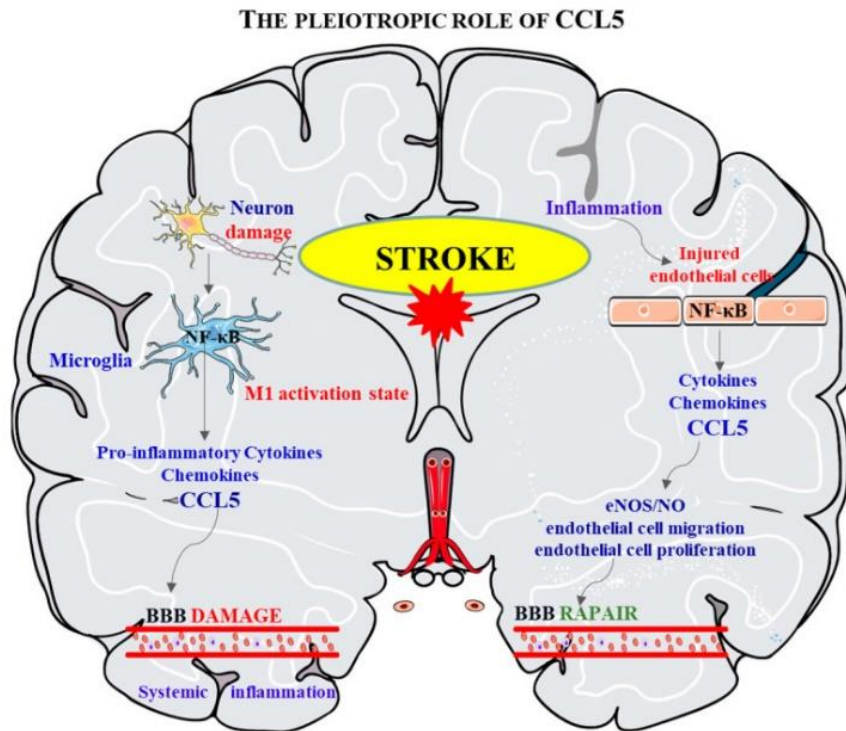
Di antara penyakit tidak menular, stroke merupakan penyebab kematian dan kecacatan kedua terbanyak. Meskipun ada pengobatan yang menjanjikan untuk stroke, tidak semua pasien berada dalam rentang waktu yang memenuhi syarat. Dengan demikian, banyak dari mereka mengalami penderitaan jangka panjang. Fakta-fakta ini menunjukkan bahwa ada kebutuhan mendesak untuk menemukan terapi stroke baru dan biomarker perifer untuk penilaian pasien terkait evolusi kecacatan dan ketergantungan fungsional dalam aktivitas sehari-hari. Pencarian biomarker untuk memprediksi luaran klinis pada stroke telah banyak dilakukan. Salah satunya biomarker terkait proses inflamasi. Setelah stroke terjadi respon inflamasi akut yang penting untuk pembersihan jaringan yang rusak sehingga menciptakan lingkungan yang menunjang perbaikan jaringan, tetapi respon inflamasi yang berlebihan dapat memperluas lesi otak (Karin M., 2016). Pada fase awal, akan dilepaskan mediator pro-inflamasi (seperti sitokin, kemokin, molekul adhesi, dan matriks metalloproteinase) pada area otak yang cedera, yang akan menarik dan membantu proses migrasi leukosit (Planas AM *et a.l.*, 2018).

### **1.5.2 Chemokine (C-C motif) ligand 5 (CCL5)**

*Chemokine (C-C motif) ligand 5 (CCL5)* atau *Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted (RANTES)* adalah anggota keluarga *CC-chemokine*, gen yang terletak pada kromosom 17q11.2–q12. Dalam nomenklatur baru, RANTES berganti nama menjadi CCL5. Kemokin ini berperan dalam migrasi leukosit ke jaringan yang rusak atau mengalami inflamasi. Agregat RANTES yang terbentuk pada permukaan sel telah terbukti bertindak sebagai penggerak leukosit yang kuat. RANTES diproduksi oleh berbagai sel, termasuk limfosit T, trombosit, sel endotel, sel otot polos, dan sel glial (Terao S *et al.*, 2008).

Sifat kemotaktik RANTES dimediasi melalui keterlibatan dengan *Chemokine CC Receptor Type 5 (CCR5)*. CCL5 akan berikatan dengan reseptornya (CCR5) yang diekspresi oleh beberapa sel seperti makrofag, sel limfosit T yang teraktifasi, *natural killer cells*, sel endotel, dan sel progenitor endotel. CCL5 yang berikatan dengan reseptor kemokin akan menarik leukosit dan membantu migrasi leukosit melewati endotel menyebabkan kerusakan arteri atau aterosklerosis. CCR5 dapat diekspresikan dalam sel non-imun, terutama pada astrosit, mikroglia, dan neuron, yang terlibat dalam kelangsungan hidup dan diferensiasi neuron (Zhang Z *et al.*, 2020). Oleh karena itu, CCL5 dan ligannya dapat memainkan peran ganda dalam perkembangan stroke. Di satu sisi, kemokin ini dapat memperburuk kerusakan saraf dan di sisi lain mungkin memainkan peran penting dalam proses angiogenesis dan perbaikan endotel (Pawluk H *et al.*, 2023). Proses inflamasi akan memicu proses migrasi sel, proliferasi, deposisi matriks, dan remodeling jaringan, yang penting untuk regenerasi jaringan setelah stroke.

Namun, inflamasi yang berlebihan memperburuk kerusakan otak setelah stroke. Peningkatan kadar CCL5 dapat bersifat neuroprotektif karena akan menyebabkan vasodilatasi, penghambatan agregasi trombosit, dan induksi angiogenesis (Badacz R *et al.*, 2019).



**Gambar 2.** Peran pleiotropic dari CCL5. Singkatan: BBB -- the blood–brain barrier; CCL5 -- chemokine (RANTES); NF-κB -- nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; eNOS -- endothelial nitric oxide synthase; and NO -- nitric oxide (Pawluk H *et al.*, 2023)

Hasil studi terkait kadar CCL5 terhadap derajat keparahan dan keluaran klinis pasien stroke iskemik masih kontroversi. Pawluk H *et al.*, melakukan studi kemokin CCL5 (RANTES) pada pasien dengan stroke iskemik akut yang menjalani perawatan trombolisis, dimana kadar CCL5 lebih tinggi secara signifikan pada < 4.5 jam, 24 jam dan 7 hari onset stroke dibanding kelompok kontrol dan kadar CCL5 ditemukan lebih tinggi secara signifikan pada kelompok stroke iskemik dengan *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS) > 3 ( $p = 0,032$ ). Studi ini juga melaporkan konsentrasi CCL5 di atas  $75 \text{ ng mL}^{-1}$  ditemukan peningkatan tajam dalam mortalitas stroke (Pawluk H *et al.*, 2023). Hasil berbeda dilaporkan dari hasil studi Hutanu *et al.*, stroke iskemik onset 1-5 hari, didapatkan kadar CCL5 lebih rendah secara signifikan pada indeks Barthel  $\leq 80$  pada hari ke 5 ( $p = 0,01$ ) dan pasien dengan nilai NIHSS > 7 saat pulang memiliki kadar CCL5 plasma yang lebih rendah dibanding NIHSS  $\leq 7$  ( $p = 0,012$ ) (Hutanu *et al.*, 2020). Studi oleh Julián-Villaverde FJ *et al.*, kadar CCL5 pada pasien stroke iskemik hari onset 0, 1 dan 7, didapatkan, didapatkan hasil kadar CCL5 lebih rendah secara signifikan pada

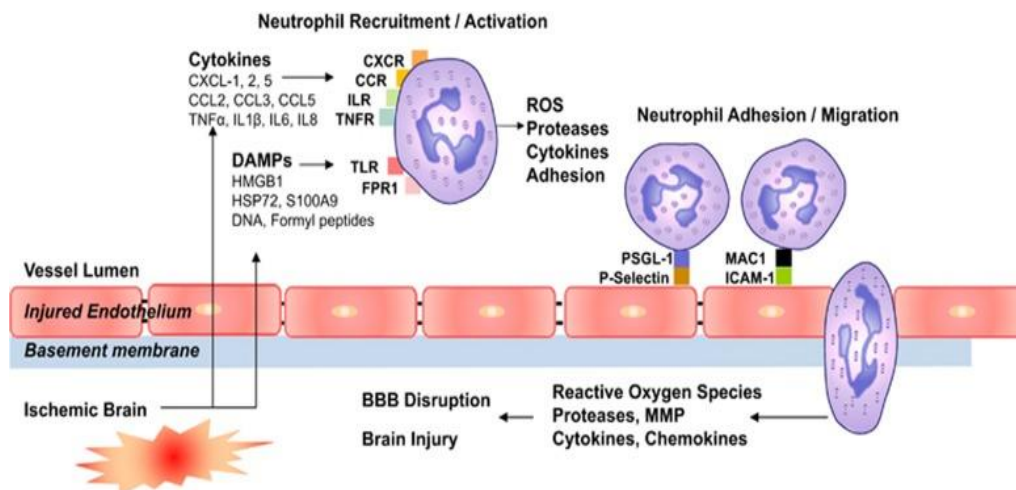
hari onset hari 0 pasien stroke iskemik dengan volume infark yang meluas  $\geq 30\%$  (dinilai dengan MRI DWI/FLAIR kontrol onset hari 7) dibandingkan kelompok stroke iskemik tanpa atau dengan perluasan volume infark  $< 30\%$  ( $p < 0,05$ ) (Julián-Villaverde FJ *et al.*, 2022).

Kadar CCL5 normal pada serum individu normal yang dilaporkan masih bervariasi. Ada studi melaporkan CCL5 serum normal umumnya sekitar 29 ng/mL (Guerrero S *et al.*, 2022). Studi lain melaporkan kadar CCL5 pada subjek sehat rata-rata 61,2 ng/mL (46,1-73,4 ng/mL) (Julián-Villaverde FJ *et al.*, 2022). Dari hasil studi Pawluk *et al.*, kadar CCL5 serum yang lebih tinggi ditemukan pada stroke iskemik onset 4,5 jam (75,9 ng/mL), 24 jam (68,0 ng/mL) dan pada hari ke 7 (57,8 ng/mL) dibandingkan pasien sehat 45,9 ng/mL ( $p < 0,001$ , 0,001 dan 0,005) (Pawluk H *et al.*, 2023). Sedangkan dari studi Julián-Villaverde FJ *et al.*, tidak ada perbedaan rata-rata kadar CCL5 serum pada stroke iskemik onset hari 0 (42,3 ng/mL), hari 1 (43,1 ng/mL), dan hari 7 (60,4 ng/mL) dibandingkan kelompok kontrol pasien sehat (Julián-Villaverde FJ *et al.*, 2022). Dari hasil studi Hutanu *et al.*, melaporkan rata-rata kadar CCL5 pada stroke iskemik onset hari 1 (17,01 pg/mL) lebih rendah secara bermakna dibandingkan pasien kontrol sehat 32,28 pg/mL ( $p = 0,004$ ) (Hutanu *et al.*, 2020).

### 1.5.3 Neutrofil

Neutrofil merupakan salah satu sel pertama dalam darah yang bereaksi setelah stroke iskemik, yang berkontribusi terhadap gangguan sawar darah otak (BBB), edema serebral, dan cedera otak. Dengan demikian, neutrofil menjadi target pengobatan yang menarik untuk mengurangi cedera otak iskemik dan mencegah stroke. Saat terjadi stroke iskemik akut, terjadi peningkatan kemokin CC antara lain CCL2, CCL3, dan CCL5 yang berkontribusi pada perekrutan dan aktivasi neutrofil melalui reseptor CCR1, CCR2, dan CCR5 pada permukaan neutrofil, sehingga menyebabkan neutrofil menjadi sel imun yang pertama ke lokasi cedera otak stroke. Neutrofil berperan dalam kerusakan sawar darah otak, edema serebral, dan cedera otak saat stroke iskemik akut melalui produksi *neutrophils-derived cytokines*, seperti *interleukin-1b* (IL-1b), *interleukin-6* (IL-6), *interleukin-8* (IL-8), and *TNF- $\alpha$* ), *chemokines* (CCL2, CCL3, and CCL5), serta ROS seperti (*superoxide anions*, *peroxynitrite*, dan *hydrogen peroxide*), dan *proteases* (*matrix metalloproteinases*, *elastase*, *cathepsin G*, *proteinase 3*) (Qiu YM *et al.*, 2021). Pada pasien stroke iskemik, jumlah neutrofil yang bersirkulasi meningkat dalam beberapa jam pertama setelah timbulnya stroke. Peningkatan ini dikaitkan dengan tingkat keparahan stroke, volume infark, dan hasil fungsional yang lebih buruk (Jickling GC *et al.*, 2015).

Neutrofilia adalah kondisi di mana jumlah neutrofil dalam darah melebihi batas normal nilai referensi absolut. Keadaan ini dapat terjadi pada infeksi, inflamasi, maupun proses neoplastik. *Absolute Neutrophil Count* (ANC) merupakan ukuran jumlah neutrofil dalam sirkulasi darah, dan pada orang dewasa normalnya berada di kisaran 2500 hingga 7000 sel/mm<sup>3</sup>. Bila ANC melebihi 7700 sel/mm<sup>3</sup>, maka dikategorikan sebagai neutrofilia. Baik persentase neutrofil maupun nilai ANC dapat meningkat pada kondisi inflamasi, namun ANC dianggap sebagai indikator yang lebih langsung dan akurat untuk menilai respons inflamasi tubuh karena menghitung jumlah neutrofil secara absolut. Oleh karena itu, ANC sering digunakan sebagai parameter pilihan untuk mengevaluasi inflamasi, terutama dalam menilai tingkat keparahannya (Tahir N *et al.*, 2023).

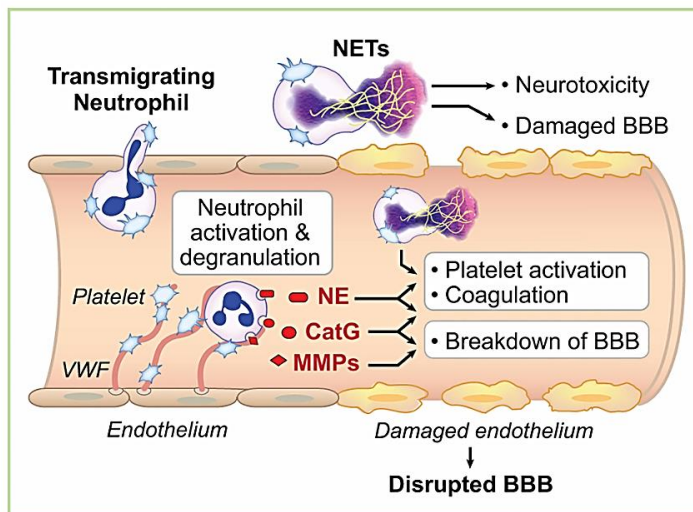


**Gambar 3.** Aktivasi dan adhesi neutrofil pada stroke iskemik akut. Setelah stroke iskemik akut, cedera otak iskemik memicu pelepasan mediator inflamasi (sitokin dan DAMP). Mediator inflamasi ini menarik dan mengaktifkan neutrofil, yang kemudian melepaskan spesies oksigen reaktif, protease, dan sitokin. Neutrofil menempel pada endotelium melalui molekul adhesi, kemudian masuk ke jaringan otak, dan selanjutnya menyebabkan kerusakan sawar darah otak dan parenkim otak. *CCL*, *CC-chemokine ligand*; *CXCL*, *CXC-chemokine ligand*; *CCR*, *CC-chemokine receptor*; *CXCR*, *CXC chemokine receptor*; *DAMPs*, *damage-associated molecular patterns*; *IL*, *interleukin*; *ILR*, *interleukin receptor*; *FPR*, *formyl peptide receptor*; *HMGB1*, *high mobility group box 1*; *HSP72*, *heat-shock protein 72*; *ICAM-1*, *intracellular adhesion molecule-1*; *MAC-1*, *macrophage 1 antigen*; *MMP-9*, *matrix metalloproteinase 9*; *PSGL-1*, *P-selectin glycoprotein ligand-1*; *TLR*, *toll-like receptor*; *TNF $\alpha$* , *tumor necrosis factor alpha* (Jickling GC *et al.*, 2015)

#### 1.5.4 Trombosit

Trombosit memiliki peran penting dalam pembentukan thrombus obstruktif yang menyebabkan stroke iskemik, sehingga kombinasi terapi antiplatelet seperti aspirin dan clopidogrel dapat menurunkan rekurensi dari stroke iskemik. Trombosit dapat melepaskan beberapa kemokin dan sitokin, yang berperan penting dalam beberapa proses seperti hemostasis dan perbaikan luka, serta proses proinflamasi. Trombosit yang teraktivasi melepaskan kemokin dan sitokin seperti CXCL1, CXCL4, CXCL5, CXCL7, IL-8 (CXCL8), CXCL12, *macrophage inflammatory protein-* (MIP-) 1  $\alpha$ , CCL3, dan RANTES (CCL5) (Chen Y *et al.*, 2020). Pada tahun-tahun terakhir ini, terjadi pergeseran fokus penelitian dari transmigrasi neutrofil dan interaksi neutrofil-endotel, ke penelitian interaksi trombosit-neutrofil serta kaitannya dengan komplikasi mikrovaskular. Sama seperti neutrofil, trombosit juga dapat berinteraksi dengan endothelium saat teraktivasi dan terjadi adhesi pada matrik subendotelial. Trombosit memiliki peran penting dalam merekrut neutrofil ke lokasi cedera dan berperan sebagai jembatan untuk melewati endothelium. Setelah proses adhesi, neutrofil berikatan dengan trombosit melalui *P-selectin* dan *glycoprotein Iba*. Interaksi trombosit dan neutrofil secara signifikan

berkontribusi terhadap patofisiologi kerusakan otak pada stroke iskemik (Denorme F *et al.*, 2021).



**Gambar 4.** Formasi agregasi trombosit-neutrofil dan kondisi prokoagulan setelah stroke iskemik. Selama stroke iskemik, *endothelial von Willebrand factor* (VWF) berikatan dengan trombosit dan terjadi pelepasan *platelet alpha granule*, termasuk *P-selectin*. Selanjutnya terjadi aktivasi dari platelet integrins dan ekspresi dari *platelet ligand phosphatidylserine* (PS). Kombinasi pelepasan platelet alpha granule, aktivasi intergrins dan ekspresi PS akan membentuk formasi agregasi trombosit-neutrofil. Ikatan dengan trombosit akan mengaktifasi neutrofil melepaskan *cathepsin G* (CatG), *neutrophil elastase* (NE), dan *matrix metalloproteases* (MMPs) yang akan mempengaruhi koagulasi dan dan aktivasi trombosit dan kerusakan blood-brain barrier (BBB). Sebagai tambahan, trombosit dapat menginduksi *intravascular neutrophil extracellular traps* (NETs) menyebabkan rekrutmen trombosit dan neutrofil ke lokasi iskemik otak. Trombosit yang berikatan dengan neutrofil, juga menginduksi transmigrasi dari neutrofil ke lokasi jaringan otak iskemik (Denorme F *et al.*, 2021)

#### 1.5.5 Penilaian Tingkat Severitas Stroke Iskemik

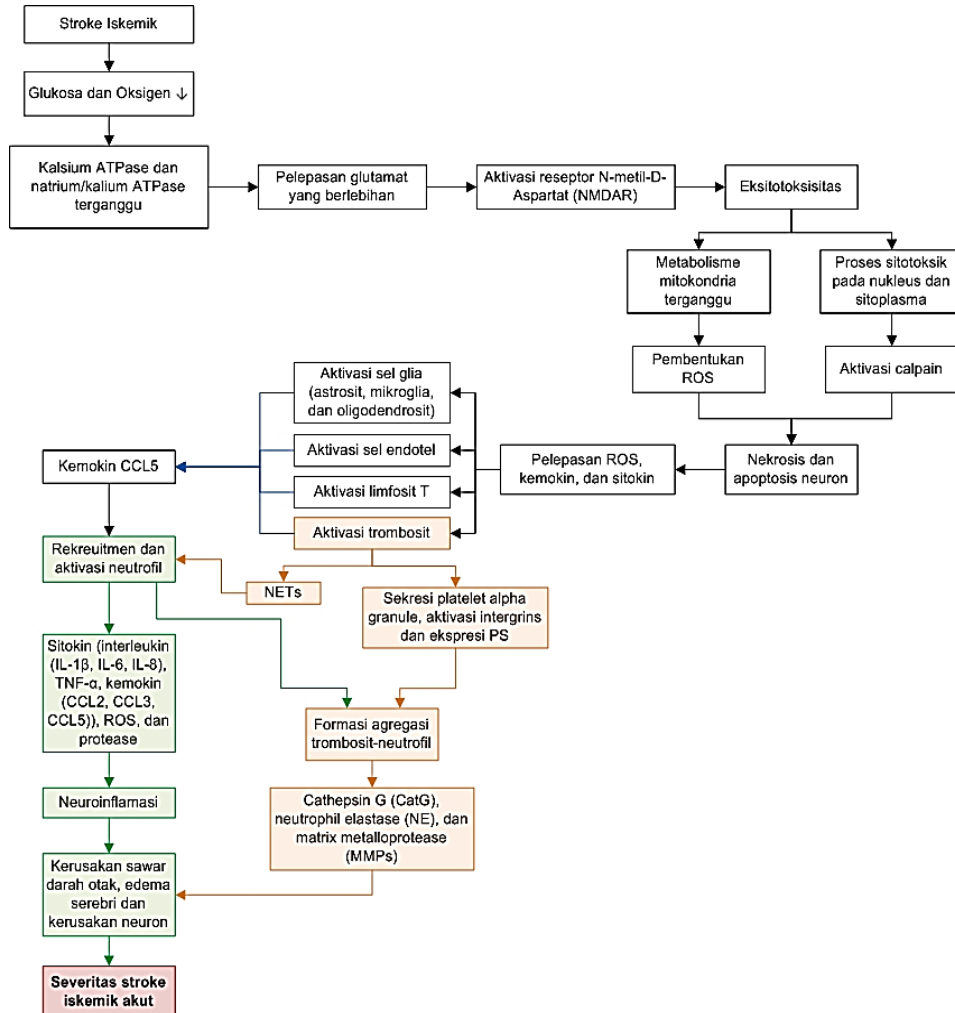
Skala penilaian tingkat severitas atau derajat keparahan pada pasien stroke iskemik akut yaitu *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS). NIHSS adalah skala pengukuran kuantitatif dari defisit neurologis yang terjadi akibat stroke. Skoring ini telah digunakan secara luas dan dapat dinilai secara cepat pada fase akut yang hanya memakan waktu sekitar lima sampai enam menit. Penilaian NIHSS terdiri dari 15 hal, yaitu tingkat kesadaran, deviasi tatapan (*deviation conjugee*), fungsi bahasa, gangguan lapang pandang, pergerakan bola mata, simetrisitas otot wajah, kekuatan motorik, fungsi sensoris dan koordinasi. Total nilai berkisar antara 0-42. Semakin tinggi nilai yang didapatkan merefleksikan beratnya keparahan. Keparahan stroke berdasarkan nilai NIHSS dikategorikan menjadi empat, yaitu 0 = tidak ada gejala stroke; 1-4 = defisit neurologis ringan; 5-15 = sedang; 16-20= sedang-berat; dan 21-42= berat (Cummock *et al.*, 2023).

Secara singkat dari teori yang telah dipaparkan di atas, penjelasan peran kemokin CCL5 terhadap severitas dari stroke iskemik, dimulai dari kondisi penurunan aliran darah pada suatu area otak menyebabkan kegagalan produksi energi, gangguan fungsi pompa ion ( $Na^+/K^+$  dan  $Ca^{2+}$ -ATPase), dan akumulasi kalsium intraseluler yang memicu pelepasan glutamat berlebihan. Hal ini menyebabkan eksitotoksisitas, pembentukan radikal bebas (ROS), disfungsi mitokondria, dan akhirnya menyebabkan nekrosis dan apoptosis neuron. Kemudian terjadi pelepasan ROS, kemokin, dan sitokin yang memicu proses inflamasi dengan melibatkan aktivasi limfosit T, trombosit, sel endotel, sel otot polos, dan sel glial yang akan melepaskan kemokin CCL5. Proses selanjutnya terjadi rekrutmen dari neutrofil yang merupakan peran dari kemokin CCL5 dan trombosit melalui induksi. Neutrofil kemudian melepaskan sitokin proinflamasi dan membentuk formasi agregasi trombosit–neutrofil yang akan menyebabkan kerusakan sawar darah otak, edema serebri dan kematian neuron dengan hasil akhir peningkatan severitas stroke iskemik.

## 1.6 Kerangka Teori dan Kerangka Konsep

### 1.6.1 Kerangka Teori

Berdasarkan kajian teori yang telah dibahas, berikut kerangka teori dari penelitian ini.



**Gambar 5.** Kerangka Teori

Keterangan:

ATP: *adenosine triphosphate*

ROS: *reactive oxygen species*

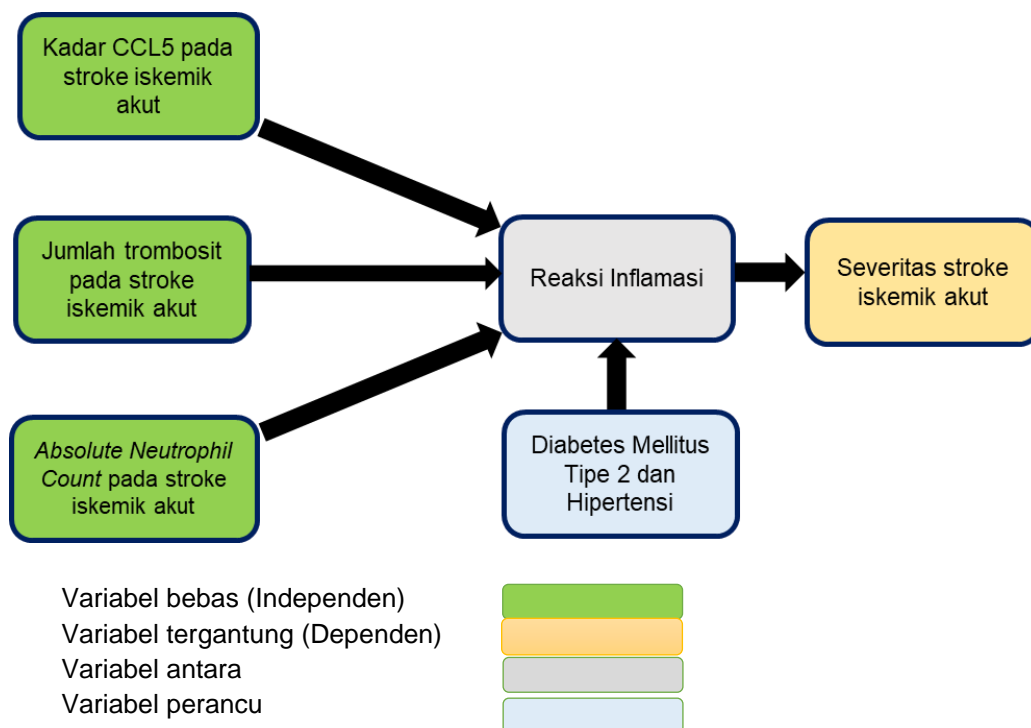
NETs: *neutrophil extracellular traps*

IL: *interleukins*

CCL: *Chemokine (C-C motif) ligand*

TNFα: *tumor necrosis factor alpha*

### 1.6.2 Kerangka konsep



**Gambar 6.** Kerangka Konsep

## 1.7 Manfaat Penelitian

### 1.7.1 Manfaat di bidang ilmu pengetahuan

Penelitian ini akan memberikan kontribusi di bidang ilmu pengetahuan kedokteran neurologi, untuk menganalisis hubungan kadar CCL5 dengan *absolute neutrophil count* (ANC) dan jumlah trombosit terhadap severitas stroke iskemik akut.

### 1.7.2 Manfaat dalam aplikasi klinis

Penelitian ini dapat menjadi referensi studi target terapi untuk menurunkan severitas stroke terkait kadar CCL5 dengan *absolute neutrophil count* (ANC) dan jumlah trombosit.

### 1.7.3 Manfaat bagi pengembangan penelitian

Penelitian ini dapat menjadi sumber referensi bagi peneliti lain dalam melakukan penelitian selanjutnya terkait hubungan kadar CCL5 dengan *absolute neutrophil count* (ANC) dan jumlah trombosit terhadap severitas stroke iskemik akut.

## **BAB II METODOLOGI PENELITIAN**

### **2.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional dengan desain *cross sectional* yang membandingkan hubungan kadar CCL5 dengan jumlah neutrofil absolut dan jumlah trombosit terhadap severitas stroke iskemik akut.

### **2.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan Rumah Sakit jejaring di Kota Makassar mulai bulan Juli 2025 sampai jumlah sampel terpenuhi.

### **2.3 Populasi Penelitian**

#### **2.3.1 Populasi Target**

Populasi target adalah pasien yang terdiagnosis stroke iskemik fase akut berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang, yang dirawat inap selama kurun waktu penelitian di Kota Makassar.

#### **2.3.2 Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau penelitian ini adalah semua penderita stroke iskemik fase akut yang masuk rawat inap di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan Rumah Sakit Jejaring Pendidikan.

### **2.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

#### **2.4.1 Kriteria Inklusi**

1. Pasien merupakan stroke iskemik akut yang masuk rawat inap dengan onset 1-7 hari, merupakan stroke serangan pertama dan telah dilakukan pemeriksaan CT Scan kepala tanpa kontras.
2. Berusia 18 sampai 75 tahun.
3. Subjek atau keluarga kooperatif dan menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*) bersedia ikut dalam penelitian.

#### **2.4.2 Kriteria eksklusi**

1. Pasien dengan hasil CT scan kepala stroke hemoragik
2. Pasien dengan riwayat penyakit tumor otak.
3. Pasien dengan riwayat penyakit immunodefisiensi.
4. Pasien dengan klinis infeksi akut atau kronik.
5. Pasien dengan riwayat penyakit autoimun.
6. Pasien yang sedang mengkonsumsi kortikosteroid atau obat imunosupresan.
7. Subjek atau keluarga tidak bersedia menandatangani persetujuan bersedia ikut dalam penelitian

### **2.5 Perkiraan Besar Sampel**

Sampel penelitian ini adalah pasien dari populasi penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Teknik pengambilan sampel adalah *consecutive sampling*. Estimasi besaran sampel minimum yang dibutuhkan untuk mencari perbedaan ekspresi pada setiap kelompok, sebagai berikut:

$$n = \left\{ \frac{(Z\alpha + Z\beta)}{0,5 \ln \left[ \frac{1+r}{1-r} \right]} \right\}^2 + 3$$

$$n = \left\{ \frac{(1,64 + 0,84)}{0,5 \ln \left[ \frac{1+0,4}{1-0,4} \right]} \right\}^2 + 3n = 51$$

Keterangan :

N = Besar sampel

Z $\alpha$  = Nilai standar alpha 1,64

Z $\beta$  = Nilai standar beta 1,28

r = korelasi 0,4

Berdasarkan rumus diatas diperoleh 51 subjek penelitian.

## 2.6 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ditentukan dengan cara *consecutive sampling* yaitu semua subjek yang datang dan memenuhi kriteria penelitian dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah subjek yang diperlukan terpenuhi. Sampel diambil dari populasi penelitian berdasarkan urutan masuknya ke Rumah Sakit (*Consecutive sampling*) dan telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

## 2.7 Variabel Penelitian

### 2.7.1 Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah kadar CCL5, *absolute neutrophil count* (ANC) dan kadar trombosit.

### 2.7.2 Variabel Terikat (*Dependent*)

Variabel dependen pada penelitian ini adalah stroke iskemik akut severitas ringan dan sedang-berat yang dinilai dengan NIHSS.

### 2.7.3 Variabel Antara

Variabel Antara pada penelitian ini adalah reaksi inflamasi.

### 2.7.4 Variabel Perancu

Variabel perancu dalam penelitian ini adalah: Diabetes mellitus tipe 2 dan Hipertensi

## 2.8 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Stroke iskemik akut	Stroke iskemik akut mengacu pada disfungsi neurologis yang muncul secara tiba-tiba akibat infark fokal pada otak, medula spinalis, atau retina yang disebabkan oleh oklusi vaskular, dan terjadi dalam rentang waktu 1 hingga 7 hari sejak onset gejala. Diagnosis ditegakkan melalui pemeriksaan CT-scan kepala tanpa kontras	Anamnesis, pemeriksaan fisik, dan hasil CT scan kepala tanpa kontras	Stroke iskemik akut: onset 1-7 hari	Interval

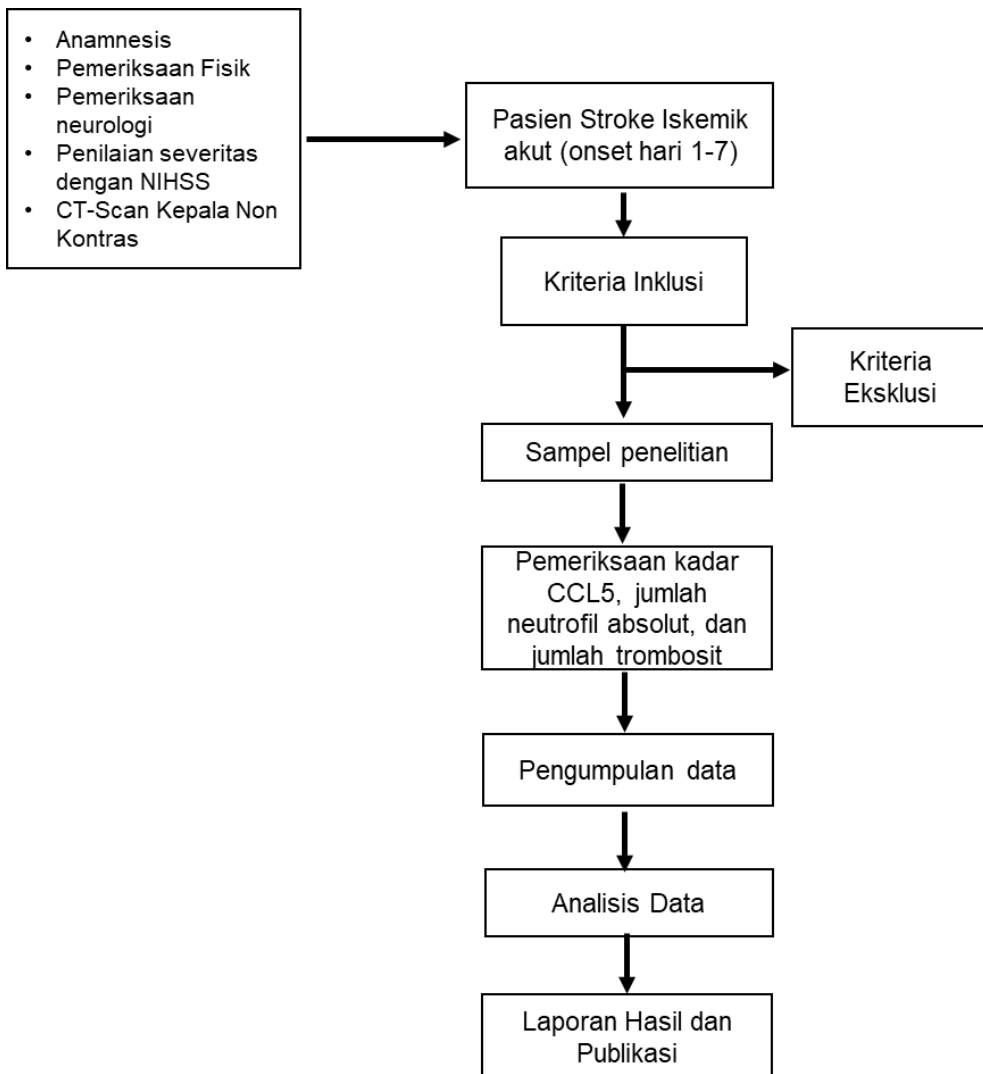
		(Sacco RL <i>et al.</i> , 2013, Osa Garcia A <i>et al.</i> , 2022).			
2.	Severitas stroke iskemik akut	<p>Severitas stroke iskemik akut dinilai dengan formulir penilaian <i>National Institutes of Health Stroke Scale</i> (NIHSS).</p> <p>NIHSS adalah instrumen yang digunakan untuk menilai severitas atau kehilangan fungsi akibat defisit neurologis yang terjadi saat serangan stroke iskemik (Cummock <i>et al.</i>, 2023).</p> <p>NIHSS diukur pada onset admisi antara hari ke1-7.</p>	Formulir penilaian NIHSS	<p>1. Severitas ringan (0-4)</p> <p>2. Severitas sedang–berat (&gt;4)</p>	Ordinal
3.	Kadar Human CCL5/ <i>Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted</i> (RANTES)	<p>CCL5 adalah salah satu biomarker kemokin yang berperan dalam migrasi leukosit ke jaringan yang rusak atau mengalami inflamasi setelah cedera iskemik (Zhang Z <i>et al.</i>, 2020).</p> <p>Diperoleh dengan pengambilan darah vena pada onset 1-7 hari stroke iskemik, kemudian dilakukan sentrifugasi dan didapatkan serum darah.</p>	Sampel darah vena 5 cc diperiksa dengan Metode <i>ELISA</i> .	Satuan kadar CCL5 dalam pg/mL.	Numerik
4.	Jumlah Trombosit	<p>Trombosit, juga dikenal sebagai <i>platelet</i>, merupakan komponen penting dalam sirkulasi darah yang berperan krusial dalam mempertahankan hemostasis dan mencegah perdarahan berlebihan (Tyagi T <i>et al.</i>, 2022).</p> <p>Rentang normal jumlah trombosit pada manusia adalah 150.000–400.000 sel per milimeter kubik (mm<sup>3</sup>) darah (Daly ME., 2011).</p> <p>Jumlah trombosit diperoleh dari pemeriksaan darah rutin yang mengukur kadar trombosit.</p>	Sampel darah vena 3 cc diperiksa menggunakan Hematoanalyzer.	<p>Nilai Normal kadar trombosit (150.000–400.000 sel/mm<sup>3</sup>).</p> <p>Satuan kadar trombosit dalam sel/mm<sup>3</sup>.</p>	Numerik
5.	<i>Absolute Neutrophil Count</i> (ANC)	<p>Jumlah neutrofil absolut (<i>Absolute Neutrophil Count/ANC</i>), yang secara normal berkisar antara 2.500–7.000 sel/mm<sup>3</sup> pada orang dewasa, dikatakan mengalami neutrofilia apabila melebihi 7.700 sel/mm<sup>3</sup>. ANC dapat dihitung dengan rumus: ANC = (persentase neutrofil total x jumlah leukosit total)/100.</p> <p>Neutrofilia didefinisikan sebagai peningkatan jumlah neutrofil di atas rentang referensi absolut normal, yang umumnya ditemukan pada kondisi infeksi,</p>	Sampel darah vena 3 cc diperiksa menggunakan Hematoanalyzer.	<p>Nilai Normal kadar neutrofil 60-70% leukosit.</p> <p>Nilai <i>absolute neutrophil count</i> (ANC): 2.500-7000 sel/mm<sup>3</sup>, yang dapat dihitung dengan rumus ANC = (% neutrofil total) x leukosit/100.</p> <p>Satuan kadar ANC dalam sel/mm<sup>3</sup>.</p>	Numerik

		<p>inflamasi, atau proses neoplastik.</p> <p>Baik persentase neutrofil maupun nilai ANC dapat meningkat pada kondisi inflamasi, namun ANC dianggap sebagai indikator yang lebih langsung dan akurat untuk menilai respons inflamasi tubuh karena menghitung jumlah neutrofil secara absolut. Oleh karena itu, ANC sering digunakan sebagai parameter pilihan untuk mengevaluasi inflamasi, terutama dalam menilai tingkat keparahannya (Tahir N et al., 2023).</p>			
6.	<i>Computed tomography</i> (CT)	<i>Computed tomography</i> (CT) scan kepala tanpa kontras adalah prosedur pencitraan otak non invasif dengan menggunakan sinar X untuk menghasilkan gambar 3 dimensi dari otak. CT scan berfungsi sebagai penunjang diagnosis cedera otak, penyakit pada otak dan kondisi lainnya.	Hasil gambar CT scan	Untuk kasus stroke: 1. Stroke Iskemik 2. Stroke perdarahan	Nominal
7.	Jenis kelamin	Jenis kelamin adalah identitas diri sampel penelitian sesuai biologis dan fisiknya. Jenis kelamin penderita dan subjek kontrol sesuai dengan data pada rekam medis yang dicatat sesuai dengan tanda pengenal (KTP atau KK). Jenis kelamin di kelompokkan laki-laki dan perempuan.	Kuesioner	1. Laki-laki 2. Perempuan	Nominal
8.	Usia	<p>Usia adalah umur sampel penelitian dihitung sejak tanggal lahir tercantum pada kartu identitas atau rekam medis.</p> <p>Usia yang semakin lanjut merupakan faktor risiko tidak dapat dimodifikasi terhadap kejadian stroke, di mana risikonya meningkat dua kali lipat setiap dekade setelah usia 55 tahun (Yousufuddin M et al., 2019).</p> <p>Pasien berusia di &lt;75 tahun dilaporkan mengalami stroke dengan derajat keparahan yang lebih ringan serta luaran klinis yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok usia ≥75 tahun. Usia ≥75 tahun memiliki faktor risiko yang lebih kompleks (penyakit vaskular perifer, denyut jantung yang lebih cepat, dan tekanan darah</p>	Kuesioner	1. Usia 18-55 th 2. Usia > 55 th	Interval

		<p>sistolik lebih tinggi) dan risiko komplikasi saat perawatan yang lebih tinggi (Reddy H et al., 2019, Edrissi C et al., 2022).</p> <p>Dibagi berdasarkan batas usia yang menjadi faktor risiko stroke yaitu di atas 55 tahun. Usia dikelompokan usia 18-55 tahun dan usia &gt; 55 tahun.</p>			
9.	Diabetes Mellitus	<p>Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit kronis yang ditandai dengan kadar gula darah yang tinggi. Berdasarkan <i>American Diabetes Association</i> (ADA), kriteria diagnosis DM bila memenuhi salah satu kondisi dibawah ini:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• kadar HbA1C <math>\geq</math> 6,5% atau</li> <li>• kadar gula darah puasa &gt; 126 mg/dL atau</li> <li>• kadar gula darah 2 jam post prandial <math>\geq</math> 200 mg/dL atau</li> <li>• kadar gula darah sewaktu <math>\geq</math> 200 mg/dL dengan gejala hiperglikemia klasik (poliuri, polidipsi, penurunan berat badan yang tidak diketahui penyebabnya)</li> </ul> <p>Hasil beberapa studi melaporkan diabetes mellitus berkaitan dengan inflamasi kronik (Jaaban M et al., 2021)</p>	Anamnesis, riwayat penyakit dan hasil pemeriksaan penunjang (Gula Darah Puasa atau HbA1C)	<p>1. Ada DM</p> <p>2. Tidak ada DM</p>	Nominal
10.	Hipertensi	<p>Menurut <i>The American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)</i> 2017, hipertensi didefinisikan sebagai tekanan darah yang konsisten mencapai <math>\geq</math>130 mmHg sistolik dan/atau <math>\geq</math>80 mmHg diastolik.</p> <p>Kategori tekanan darah menurut ACC/AHA 2017:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Normal: &lt;120/&lt;80 mmHg</li> <li>• Elevated: 120–129/&lt;80 mmHg</li> <li>• Hipertensi stadium 1: 130–139 sistolik atau 80–89 diastolik</li> <li>• Hipertensi stadium 2: <math>\geq</math>140 sistolik atau <math>\geq</math>90 diastolik (Flack JM et al., 2020)</li> </ul> <p>Hipertensi merupakan faktor risiko utama terjadinya stroke dan sering berkaitan dengan luaran klinis yang lebih buruk serta derajat stroke yang lebih berat (Maier B et al., 2022).</p>	Anamnesis, riwayat penyakit dan hasil pemeriksaan tekanan darah	<p>1. Ada hipertensi</p> <p>2. Tidak ada hipertensi</p>	Nominal
11.	Tumor otak	Tumor otak adalah kondisi tumbuhnya jaringan abnormal di otak yang dapat mengganggu	Kuesioner dan pemeriksaan fisik serta riwayat	<p>1. Ada</p> <p>2. Tidak ada</p>	Nominal

		fungsi otak, dibuktikan dengan anamnesa dan riwayat pemeriksaan penunjang.	hasil pemeriksaan penunjang		
12.	Penyakit Autoimun	Penyakit autoimun adalah kondisi sistem imun dari tubuh menyerang sel, jaringan dan organ sehat. Penyakit autoimun dibuktikan dengan anamnesa dan riwayat pemeriksaan penunjang	Kuesioner dan pemeriksaan fisik serta riwayat hasil pemeriksaan penunjang	1. Ada 2. Tidak ada	Nominal
13.	Penyakit Imunodefisiensi	Kondisi defisiensi imun akibat kegagalan atau tidak adanya elemen sistem imun, termasuk limfosit, fagosit, dan sistem komplemen. Kondisi ini menyebabkan penderita menjadi rentan tertular infeksi.	Kuesioner dan pemeriksaan fisik serta riwayat hasil pemeriksaan penunjang	1. Ada 2. Tidak ada	Nominal
14.	Infeksi akut atau kronik	<p>Infeksi akut adalah infeksi yang terjadi secara tiba-tiba, bersifat jangka pendek (beberapa hari hingga beberapa minggu) dan umumnya memiliki gejala yang jelas dan berat. Gejala muncul dengan cepat dengan gejala demam tinggi, nyeri, kemerahan, atau pembengkakan.</p> <p>Infeksi kronik adalah infeksi yang berlangsung &gt; 6 bulan hingga bertahun-tahun, seringkali sulit untuk diobati dan dapat muncul kembali. Gejala muncul perlahan dan ringan tetapi persisten, berupa kelelahan, nyeri ringan, demam berkepanjangan, penurunan berat badan, keringat malam, dan lain-lain bergantung pada penyakit yang mendasari.</p>	Anamnesis keluhan saat ini dan riwayat penyakit infeksi serta hasil pemeriksaan fisik	1. Ada 2. Tidak ada	Nominal
15.	Lembar <i>Informed Consent</i>	Lembar <i>informed consent</i> adalah catatan persetujuan pasien atau keluarganya setelah mendapatkan penjelasan mengenai tindakan medis atau hal lain yang akan dilakukan.	Persetujuan dari pasien/keluarga	1. Bersedia 2. Tidak bersedia	Nominal

## 2.9 Alur Penelitian



**Gambar 7.** Alur Penelitian

## 2.10 Cara Kerja Penelitian

### 1. Persiapan Penelitian

Peneliti melakukan persiapan alat dan bahan sebelum penelitian dilakukan berupa:

- a. Lembar skor NIHSS
- b. Instrument *reagen* CCL5
- c. Formulir *Informed Consent* Penelitian
- d. Alat tulis

## 2. Pengambilan sampel

- a. Pasien masuk di ruang perawatan RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RS jejaring dengan diagnosis stroke iskemik akut (onset 1-7 hari) berdasarkan anamnesis, pemeriksaan neurologi, dan pemeriksaan penunjang, yaitu CT scan kepala non kontras.
- b. Seluruh pasien stroke iskemik akut dilakukan penilaian severitas stroke iskemik dengan NIHSS dari awal masuk.
- c. Seluruh pasien stroke iskemik akut yang memenuhi syarat dalam kriteria inklusi dimasukkan ke dalam penelitian.
- d. Peneliti menjelaskan mengenai prosedur penelitian dan meminta *informed consent* dari pasien/keluarga.
- e. Peneliti mengambil data jumlah neutrofil absolut dan trombosit dari hasil laboratorium darah rutin pasien stroke iskemik onset 1-7 hari. Melalui pengambilan sampel darah vena sebanyak 3 cc saat pasien pertama kali masuk di instalasi gawat darurat, yang selanjutnya diperiksakan di laboratorium menggunakan Hematoanalyzer.
- f. Peneliti mengambil sampel darah vena sebanyak 5 cc dalam tabung plain untuk pemeriksaan kadar CCL5 di laboratorium HUMRC RSP Universitas Hasanuddin pada subjek pasien stroke iskemik onset 1-7 hari. Sampel diperiksa dengan Metode *ELISA*.

## 3. Pengumpulan data

Peneliti mengumpulkan data hasil laboratorium (kadar CCL5, jumlah neutrofil absolut dan trombosit) dan lembar hasil pemeriksaan NIHSS dari sampel.

## 4. Analisis data

Setelah data terkumpul, peneliti kemudian mengolah dan menganalisis data menggunakan SPSS versi 26.

## 5. Penyajian data

Data disajikan dalam bentuk tabel/gambar disertai narasi tentang tabel/gambar terkait.

### 2.11 Analisis Data Dan Uji Statistik

- Data yang telah dikumpulkan kemudian diolah dan dianalisis menggunakan aplikasi SPSS Statistik 26 dan *Microsoft Excel*.
- Data disajikan dalam bentuk narasi, tabel dan grafik.
- Data diolah menggunakan metode uji statistik yang sesuai dengan jenis data yang diperoleh.
- Hubungan kadar CCL5, jumlah neutrofil absolut, trombosit dan interpretasi skor NIHSS awalnya dianalisis frekuensi dan deskriptif untuk menilai distribusi kedua kelompok variabel (dependen dan independen) tersebut.
- Dilakukan *Uji Chi-Square* untuk menilai hubungan kategorik antara kadar CCL5, jumlah neutrofil absolut, dan jumlah trombosit dengan severitas stroke iskemik.
- Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* (sampel > 50).

- Kemudian analisis Uji t Independen bila data berdistribusi normal atau Uji Mann Whitney bila data berdistribusi tidak normal untuk menganalisis apakah ada perbedaan signifikan antara kadar CCL5, jumlah neutrofil absolut dan trombosit dengan severitas stroke iskemik dengan skor NIHSS.
- Dilakukan juga Uji Korelasi Spearman untuk menguji hubungan numerik antara variabel kadar CCL5, jumlah neutrofil absolut, trombosit dan nilai NIHSS.
- Dilakukan analisis regresi linear untuk menilai variabilitas nilai NIHSS yang dipengaruhi oleh variable kadar CCL5, jumlah neutrofil absolut, dan jumlah trombosit.
- Analisis *Receiver Operating Characteristic* (ROC) dan perhitungan *Area Under the Curve* (AUC) untuk menilai kemampuan kadar CCL5, ANC dan jumlah trombosit dalam membedakan antara severitas stroke iskemik akut ringan dan sedang-berat.

### **2.12 Izin Penelitian Dan Kelayakan Etik**

Protokol penelitian ini telah disetujui Komisi Etik Penelitian Kesehatan. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar dengan nomor surat 561/UN4.6.4.5.31/PP36/2025 dan nomor protokol UH25070569. Semua subjek penelitian diberi penjelasan tentang maksud, tujuan dan kegunaan penelitian, termasuk risiko yang dapat terjadi. Setelah mendapat penjelasan, penderita/walinya menandatangani Surat Persetujuan Peserta Penelitian dan setiap tindakan dilakukan atas seizin serta sepengetahuan penderita atau wali melalui lembar *informed consent*.