

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berdasarkan *American Heart Association/American Stroke Association* (AHA/ASA, 2019), stroke didefinisikan sebagai sindrom defisit neurologis yang bersifat akut akibat jejas pada otak, medulla spinalis, dan retina yang dapat dijelaskan dengan etiologi vaskular (Powers et al., 2019). Angka kejadian stroke di Amerika Serikat pada tahun 2011 hingga 2021 meningkat 8,4%, dari 37,9 menjadi 41,1 per 100.000 penduduk. Peningkatan ini disertai dengan lonjakan signifikan dalam jumlah total kematian akibat stroke yang naik 26,3% dari 128.932 menjadi 162.890 kematian (Martin et al., 2024).

Stroke merupakan penyebab kematian kedua dan penyebab utama kecacatan secara global. Stroke memengaruhi individu dari segala usia, tetapi beban yang lebih tinggi terjadi pada populasi lanjut usia. Setiap tahun, sekitar 15 juta orang di seluruh dunia mengalami stroke. Selain itu, terdapat sekitar 50 juta orang yang menjadi penyintas stroke dan hidup dengan tingkat kecacatan tertentu (*World Health Organization*, 2023).

Menurut data *World Stroke Organization* (WSO) 2019, Stroke adalah penyebab kematian kedua tertinggi, dengan 11,6% total kematian pada tahun 2019. Setiap tahun terdapat 12,2 juta kasus stroke baru, dan secara global, 1 dari 4 orang yang berusia di atas 25 tahun akan mengalami stroke dalam hidupnya. Setiap tahun lebih dari 62% dari semua kasus stroke terjadi pada usia dibawah 70 tahun, dengan perbandingan 53% perempuan, dan 47% laki-laki. Secara global, 62,4% dari semua kasus stroke adalah stroke iskemik, dan terdapat 7,6% juta kasus stroke iskemik baru setiap tahun (Pu et al., 2023).

Data stroke dari survei Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) yang dilakukan tiap 5 tahun, terlihat bahwa prevalensi stroke di Indonesia mengalami kenaikan dari 1,5% pada Riskesdas 2007 menjadi 2,2% pada Riskesdas 2013 dan kemudian menjadi 2,8% pada Riskesdas 2018 dengan angka kematian akibat stroke sebesar 8,3%. Hal ini menunjukkan bahwa masalah stroke semakin meningkat di Indonesia. Faktor risiko, gejala, dan penanganan stroke hampir sama antara survei Riskesdas yang berbeda. Sebagian besar pasien stroke di Indonesia mendapatkan penanganan di rumah sakit. Namun, terdapat juga sejumlah pasien yang tidak mendapatkan penanganan yang adekuat atau terlambat mendapatkan penanganan yang memengaruhi mortalitas dan morbiditas pada pasien stroke (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Stroke iskemik terjadi setelah adanya sumbatan pembuluh darah oleh karena otak mengalami gangguan metabolisme karena tidak mendapat suplai darah, oksigen dan energi. Proses ini diawali oleh cedera endotel dan inflamasi yang mengakibatkan terbentuknya plak pada dinding pembuluh darah. Plak dapat berkembang semakin tebal dan sklerotik, trombosit kemudian dapat melekat pada plak serta menginisiasi kaskade koagulasi dan pembentukan trombus. Trombus dapat lepas menjadi emboli atau tetap pada lokasi asal dan menyebabkan oklusi pembuluh darah. Setelah iskemia, neuron gagal mempertahankan gradien ion transmembran dan homeostasisnya. Hal ini dapat menyebabkan proses kematian sel yaitu proses eksitotoksitas, stress oksidatif dan nitratif, inflamasi dan apoptosis (Kuriakose and Xiao, 2020).

Penurunan suplai darah pada stroke iskemik, akan memicu eksitotoksisitas dan stress oksidatif pada neuron daerah penumbra. Kedua kaskade ini akan mengaktifkan mikroglia untuk melepaskan sitokin proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), *interleukin-1 beta* (IL-1 β), *interleukin-6* (IL-6). Sitokin ini meningkatkan proses inflamasi dengan menginfiltrasi neutrofil, monosit dan sel T ke dalam lesi cerebral. Selain itu TNF- α juga dikeluarkan oleh sel Natural Killer (NK) yang menyebabkan terjadinya hiperaktivitas dan eksitotoksisitas neuron (Kuriakose and Xiao, 2020).

Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) merupakan salah satu sitokin proinflamasi utama yang memainkan peran penting dalam respons inflamasi akut dan kronis. TNF- α diproduksi oleh berbagai jenis sel, termasuk neutrofil, makrofag, dan sel endotel, sebagai respons terhadap kerusakan jaringan. Pada stroke iskemik, peningkatan kadar TNF- α telah dikaitkan dengan disfungsi endotel, kerusakan sawar darah otak (*blood-brain barrier*), dan aktivasi kaskade inflamasi yang memperburuk cedera iskemik (Tirandi, 2023).

Sebuah penelitian yang dilakukan di China membahas TNF- α sebagai biomarker yang menunjukkan keparahan stroke melalui respon inflamasi dan mempengaruhi transmisi neurotransmitter dan respons seluler seperti apoptosis sel, dan studi yang berfokus pada inhibitor TNF- α menunjukkan kurangnya respon inflamasi sehingga kerusakan otak berkurang (Huo et al., 2021).

Penelitian tentang TNF- α dalam *Post-Stroke Neuroinflammation* (PSN) terus meningkat dari tahun 2003 hingga 2021. China memimpin dalam jumlah publikasi terbanyak, sementara Amerika Serikat unggul dalam jumlah sitasi, menunjukkan kontribusi global yang signifikan dalam penelitian ini. Terapi pasca-stroke menjadi fokus utama dalam beberapa tahun terakhir, dengan perkembangan signifikan dalam modulasi jalur dan penemuan target terapeutik setelah tahun 2015. Hal ini menunjukkan kemajuan yang substansial dalam pemahaman dan penanganan neuroinflamasi setelah stroke, yang membuka peluang baru dalam potensial terapi (Zhao et al., 2022).

Neutrophile to Lymphocyte Ratio (NLR) adalah biomarker yang sedang berkembang untuk menilai status inflamasi sistemik seseorang, termasuk pada pasien dengan penyakit kardiovaskular, penyakit pembuluh darah perifer, dan kanker. NLR juga dikaitkan dengan prognosis pasien dengan stroke iskemik akut. Sebagai contoh, NLR yang lebih tinggi telah dikaitkan dengan tingkat keparahan stroke akut yang lebih besar dan tingkat kematian jangka pendek yang lebih tinggi, serta hasil fungsional jangka pendek yang lebih buruk dan peningkatan risiko stroke iskemik berulang (Giede-Jeppe et al., 2020). NLR yang lebih tinggi juga dikaitkan dengan beberapa komplikasi pasca-stroke, termasuk risiko yang lebih tinggi dari transformasi hemoragik simtomatik dan perdarahan intracerebral simtomatik (Świtońska et al., 2020).

Inflamasi dapat memberikan dampak baik maupun buruk terhadap hasil neurologis. Iskemia otak dapat menyebabkan trauma sekunder berupa inflamasi sebagai respons terhadap kematian sel yang diikuti oleh pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Neutrofil adalah sel pertama yang memasuki area iskemik otak, biasanya muncul dalam 4-6 jam dan menetap setelah 12 jam. Penelitian menunjukkan bahwa menghentikan infiltrasi neutrofil ke dalam otak dapat memperbaiki defisit neurologis pada pasien stroke, yang mengindikasikan bahwa neutrofil memiliki efek negatif pada hasil

stroke. Penelitian juga menunjukkan bahwa neutrofil mulai menginfiltrasi area iskemik dalam waktu 1 hingga 3 hari. Sebaliknya, limfosit melakukan infiltrasi ke area iskemik lebih lambat, dengan puncaknya pada hari ke-3 hingga ke-6 setelah stroke (Kawabori and Yenari, 2015).

Dalam beberapa tahun terakhir, parameter hematologis sederhana seperti *Neutrophile to Lymphocyte Ratio* (NLR) telah menjadi perhatian dalam penelitian terkait stroke iskemik. NLR, yang mencerminkan keseimbangan antara proses inflamasi (neutrofil) dan regulasi imun (limfosit), ditemukan sebagai penanda inflamasi sistemik yang berhubungan dengan berbagai kondisi klinis, termasuk penyakit kardiovaskular dan stroke iskemik. Inflamasi memainkan peran kunci dalam patofisiologi stroke iskemik, dengan neutrofil yang berkontribusi pada kerusakan jaringan iskemik melalui pelepasan sitokin proinflamasi dan enzim proteolitik (Gong et al., 2024).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa NLR dapat digunakan sebagai prediktor luaran klinis pasien stroke iskemik. Nilai NLR yang tinggi berhubungan dengan tingkat keparahan stroke yang lebih besar, berdasarkan skala *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS), serta peningkatan risiko mortalitas. Selain itu, nilai NLR juga dikaitkan dengan luaran fungsional yang buruk, seperti yang diukur dengan *Modified Rankin Scale* (mRS) 30 hari dan 90 hari pasca-stroke (Li et al., 2021).

Neutrofil dapat memproduksi berbagai kemokin dan sitokin yang bersifat proinflamasi dan proaterogenik, seperti *Interleukin-1 alfa* (IL-1 α), *Interleukin-1 beta* (IL-1 β), *Interleukin-3* (IL-3), *Interleukin-6* (IL-6), *Interleukin-10* (IL-10), *Interleukin-12* (IL-12), *Interleukin-18* (IL-18), dan *Tumor Necrotic Factor-Alpha* (TNF- α) dan *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1), yang berfungsi sebagai kemokin proinflamasi, yang merangsang pengerahan monosit, proliferasi dan migrasi sel otot polos, serta bersifat proaterogenik. Selain itu, neutrofil juga melepaskan *Growth Regulated Oncogen* (GR)-alfa, -beta, dan -gamma, yang memicu proliferasi sel endotel dan sel otot polos, serta bersifat proaterogenik (Herz et al., 2015).

Di sisi lain, NLR adalah parameter hematologi sederhana yang mencerminkan keseimbangan antara respon inflamasi (neutrofil) dan imunoregulatori (limfosit). Penelitian menunjukkan bahwa NLR meningkat secara signifikan pada kondisi inflamasi sistemik, termasuk stroke iskemik akut, dan dapat menjadi indikator non-invasif untuk menilai tingkat keparahan stroke serta luaran klinis pasien (Li et al., 2021). Hubungan antara TNF- α dan NLR pada mekanisme inflamasi yang sama, di mana TNF- α memicu aktivasi dan rekrutmen neutrofil ke lokasi cedera, sehingga meningkatkan NLR.

Beberapa studi telah menemukan korelasi positif antara kadar TNF- α dan NLR pada pasien stroke iskemik. Peningkatan kedua parameter ini tidak hanya mencerminkan tingkat inflamasi sistemik tetapi juga berhubungan dengan keluaran klinis yang buruk, termasuk defisit neurologis yang berat, komplikasi pasca-stroke, dan mortalitas (Gong et al., 2024). Oleh karena itu, TNF- α dan NLR dapat digunakan sebagai biomarker potensial untuk memprediksi keparahan dan prognosis stroke iskemik.

Meskipun peran TNF- α sebagai mediator inflamasi utama dan NLR sebagai penanda inflamasi sistemik dalam patogenesis stroke iskemik telah banyak didokumentasikan. Sebagian besar penelitian hanya menilai masing-masing biomarker secara terpisah, tanpa mengeksplorasi apakah TNF- α dan NLR memiliki kekuatan prediktif yang berbeda atau saling melengkapi dalam menentukan tingkat keparahan

(severitas) dan luaran klinis pasien stroke iskemik. Selain itu, belum ada konsensus apakah salah satu biomarker lebih superior atau lebih praktis untuk prognosis klinis pada fase akut stroke iskemik. Padahal, pemahaman mengenai hubungan ini sangat penting untuk mengidentifikasi biomarker yang lebih *cost-effective*, mudah diakses, namun tetap akurat dalam praktik klinis sehari-hari. Dengan demikian, kesenjangan pengetahuan ini menegaskan perlunya penelitian yang secara langsung membandingkan TNF- α dan NLR dalam kaitannya dengan severitas dan luaran klinis stroke iskemik. Dengan demikian, Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi perbandingan antara kadar TNF- α dan NLR pada pasien stroke iskemik akut, serta menentukan peran kedua biomarker ini sebagai prediktor severitas dan luaran klinis.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru tentang mekanisme inflamasi pada stroke iskemik dan mendukung pengembangan pendekatan diagnostik berbasis biomarker yang lebih efektif. Oleh karena itu, untuk mengetahui lebih banyak terkait masalah ini, kami mencoba melihat perbandingan antara kadar serum TNF- α dan NLR dengan severitas dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana gambaran kadar serum TNF- α dan NLR pada pasien stroke iskemik akut?
2. Bagaimana gambaran rerata severitas (NIHSS) dan luaran klinis (mRS) pasien stroke iskemik akut?
3. Bagaimana hubungan kadar serum TNF- α dengan severitas dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut?
4. Bagaimana hubungan kadar NLR dengan severitas dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut?
5. Bagaimana perbandingan antara TNF- α dan NLR dengan luaran klinis pasien stroke iskemik akut?
6. Bagaimana analisis kurva ROC dalam menilai kemampuan prediktif TNF- α dan NLR pada luaran fungsional stroke iskemik akut?

1.3 Hipotesis Penelitian

1.3.1 Hipotesis Nol

Tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar serum TNF- α dan NLR dengan severitas dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut.

1.3.2 Hipotesis Alternatif

Terdapat perbedaan yang signifikan kadar serum TNF- α dan NLR dengan severitas dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut.

- Semakin tinggi kadar TNF- α pada pasien stroke iskemik akut, semakin buruk severitas dan luaran klinis pasien.
- Semakin tinggi NLR pada pasien stroke iskemik akut, semakin buruk severitas dan luaran klinis pasien.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbandingan *prognostic performance* kadar TNF- α dan NLR serum terhadap luaran klinis pasien stroke iskemik akut.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur nilai kadar TNF- α dan NLR serum subjek stroke iskemik akut.
2. Mengukur rerata severitas (NIHSS) dan luaran klinis (mRS) pasien stroke iskemik akut.
3. Menetapkan hubungan kadar TNF- α dengan severitas dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut.
4. Menetapkan hubungan kadar NLR dengan severitas dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut.
5. Menetapkan perbandingan kadar TNF- α dan NLR dengan luaran klinis pasien stroke iskemik akut.
6. Menganalisis kurva ROC untuk menilai kemampuan prediktif TNF- α dan NLR.

1.5 Teori

1.5.1 Stroke Iskemik

Stroke menurut *World Health Organization* (WHO) didefinisikan sebagai tanda-tanda klinis yang terjadi secara cepat atau mendadak berupa defisit fokal (atau global) pada fungsi otak, dengan gejala yang berlangsung selama 24 jam atau lebih atau menyebabkan kematian, tanpa penyebab yang jelas selain penyebab vaskular. Stroke menjadi peringkat kedua penyebab kematian di dunia pada tahun 2016. Di Indonesia, stroke merupakan penyebab utama kematian dan disabilitas sejak tahun 2013. Menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018, angka kejadian stroke meningkat dari 7 per juta pada tahun 2013 menjadi 10,9 per juta pada tahun 2018. Insidens stroke iskemik di Indonesia antara tahun 2012 dan 2014 adalah 67 % dari keseluruhan stroke (Salim Harris et al., 2022).

Berdasarkan *American Heart Association/American Stroke Association* (AHA/ASA, 2019), stroke didefinisikan sebagai sindrom defisit neurologis yang bersifat akut akibat jejas pada otak, medulla spinalis, dan retina yang dapat dijelaskan dengan etiologi vascular (Powers et al., 2019). Angka kejadian stroke di Amerika Serikat pada tahun 2011 hingga 2021 meningkat 8,4%, dari 37,9 menjadi 41,1 per 100.000 penduduk. Peningkatan ini disertai dengan lonjakan signifikan dalam jumlah total kematian akibat stroke yang naik 26,3% dari 128.932 menjadi 162.890 kematian (Martin et al., 2024).

Secara global, 68% dari semua stroke disebabkan oleh iskemik, sedangkan 32% disebabkan oleh perdarahan (Chugh C, 2019). Pada populasi Indonesia, faktor risiko stroke iskemik yang paling umum adalah hipertensi, diikuti oleh faktor-faktor seperti usia lanjut, dislipidemia, diabetes, penyakit jantung, merokok, kurangnya aktivitas fisik, riwayat keluarga, serta obesitas (Akbar et al., 2018).

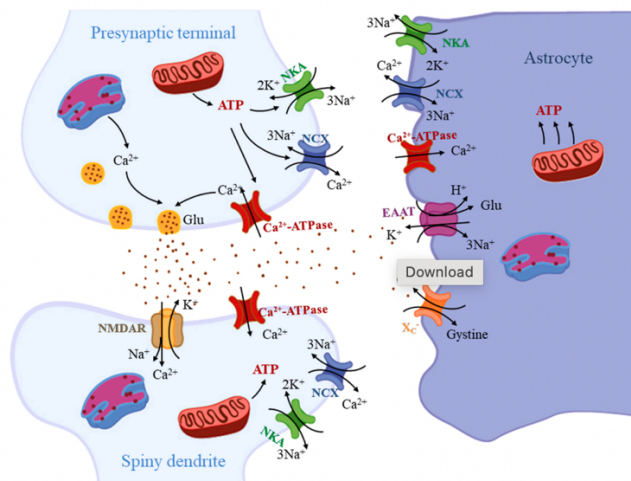
1.5.2 Patofisiologi Stroke Iskemik

Stroke iskemik diawali oleh sumbatan pembuluh darah yang disebabkan oleh trombus atau emboli sehingga suplai darah, oksigen dan energi ke otak berkurang. Segera setelah iskemia, neuron gagal untuk mempertahankan gradien ion transmembran dan homeostasisnya. Hal ini menyebabkan terjadinya proses yang mengarah pada terjadinya kematian sel, yaitu 1) Eksitotoksitas, 2) Stres Oksidatif, 3) Inflamasi, 4)

Apoptosis. Semua sel ini dapat merusak neuron, glia, sel endotel, dan semuanya saling berhubungan yang pada akhirnya menyebabkan destruksi neuronal (Salaudeen et al., 2024).

1) Eksitotoksisitas

Suplai oksigen ke otak harus cukup untuk menghasilkan ATP melalui rantai transport elektron di mitokondria agar keseimbangan ion otak tetap terjaga. Pada tingkat seluler, iskemia menyebabkan terjadinya kegagalan fosforilasi oksidatif dan sintesis ATP. Hal ini akan memberikan efek pada pompa Na^+/K^+ ATPase, sehingga terjadi depolarisasi membran plasma, kalium keluar ke ruang ekstraseluler, dan natrium masuk ke ruang intraseluler. Selain itu juga terjadi kegagalan pompa Ca^{2+} yang menyebabkan peningkatan dramatis kalsium intraseluler, yang mengaktifkan protein penanda kematian sel, seperti calcium dependent protease, lipase, dan DNase yang menyebabkan kematian sel. Jaringan otak mengandung kadar glutamat yang tinggi dan banyak neuron di otak yang diaktifkan oleh reseptor glutamat. Glutamat berperan dalam neurodegenerasi saat terjadi stroke iskemik, karena glutamat merupakan neuron eksitatorik neurotoksik melalui pathogenesis eksitotoksisitas (Shen et al., 2022). Aktivasi reseptor glutamat tipe *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) dan *α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid* (AMPA) menyebabkan depolarisasi membran, sehingga memfasilitasi terjadi influks kalsium ke dalam sel neuron, sehingga terjadi eksitotoksisitas. *NMDA receptor* merupakan reseptor ionotropik glutamate yang paling permeable terhadap kalsium. Peningkatan kalsium mitokondria akan menghasilkan *Reactive oxygen species* (ROS). *NMDAR* merupakan reseptor glutamate yang paling permeable terhadap kalsium, sehingga inhibisi reseptor NMDAR dan AMPA mencegah kalsium masuk ke dalam sel, sehingga memberikan efek neuroprotektif (Salaudeen et al., 2024).



Gambar 1. Keseimbangan konsentrasi ion dan glutamat di ruang sinaptik diatur dengan oleh pompa ion dan protein reseptor, yang masing-masing memiliki peran penting (Salaudeen et al., 2024)

2) Stress Oksidatif dan Nitratif

Proses ini terjadi setelah terbentuk radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS), radikal bebas ini dibentuk didalam

mitokondria dan memberikan sinyal dilepaskannya sitokrom c, sitokrom c kemudian berikatan dengan *apoptotic protease activating factor-1* (Apaf-1) dan diikuti dengan caspase-9 yang membentuk kompleks yang mengaktifasi caspase-3 dan caspase lain seperti 2,6,8,10. Caspase-3 yang teraktivasi dapat memakan banyak enzim yang dapat memperbaiki DNA, menyebabkan kerusakan inti DNA tanpa adanya mekanisme perbaikan, dan berujung pada apoptosis. Aktivasi NMDAR dan pembentukan superoxide anion (O_2^-) dan NO oleh *Neuronal Nitric Oxide Synthase* (nNOS) akan secara langsung menyebabkan pelepasan sitokrom c dan formasi *peroxynitrite* ($ONOO^-$), dan produksi OH^- akan secara langsung merusak protein, lemak, dan DNA yang dapat menyebabkan apoptosis. Efek radikal bebas dapat dihambat oleh enzim antioksidan, yaitu *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GSHPx), *glutathione reductase*, dan *glutathione-S-transferase* (GST) (Salaudeen et al., 2024).

3) Inflamasi

Penurunan suplai darah setelah stroke iskemik memicu terjadinya eksitotoksisitas dan stress oksidatif pada neuron daerah penumbra. Kedua kaskade ini akan mengaktifkan mikroglia untuk melepas sitokin pro inflamasi seperti $TNF-\alpha$, *Interleukin 1 beta* ($IL-1\beta$), *Interleukin 6* ($IL-6$), Sitokin ini menginfiltrasi neutrofil, monosit, dan sel T ke dalam lesi stroke iskemik. Sel natural killer terutama mengeluarkan $TNF-\alpha$ yang selanjutnya menyebabkan terjadinya hiperaktivitas dan eksitotoksisitas neuron. Intergrin pada permukaan neutrofil seperti *Macrophage-1* (Mac-1) dan *Lymphocyte Function-Associated antigen-1* (LFA-1), berikatan kuat dengan ICAM-1, ICAM-2, dan *Vascular Cell Adhesion Protein-1* (VCAM-1). Astrosit, makrofag, dan mikroglia dari jaringan otak yang iskemik melepaskan *cytokine-induced neutrophil chemoattractant* (CINC) dan *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1). Kemokin ini akan membuat neutrofil berdiapedesis dan bermigrasi ke parenkim otak, sehingga menyebabkan kerusakan jaringan (Pawluk et al., 2020).

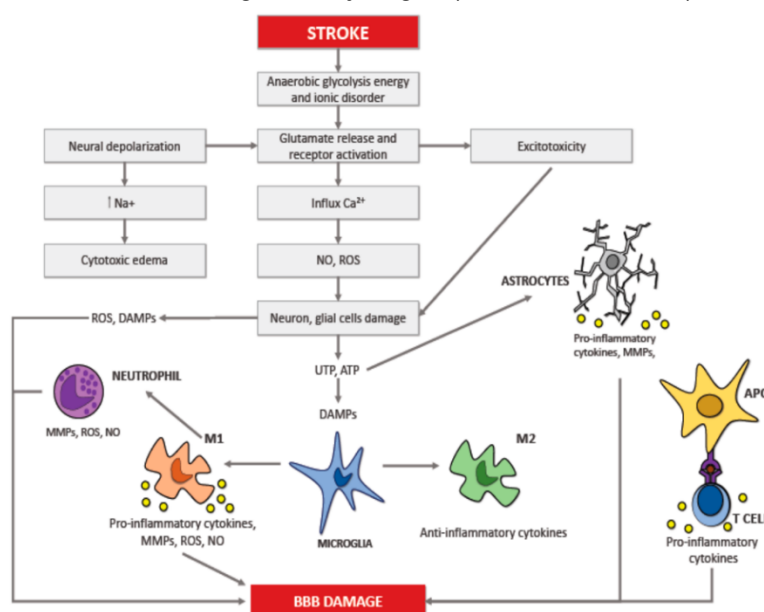
4) Apoptosis

Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram, terdiri dari stimulus intrinsik dan ekstrinsik, stimulus intrinsik diaktivasi oleh jalur sinyal mitokondria, sedangkan jalur ekstrinsik merangsang reseptor seperti $TNF-\alpha$, Fas (*Cluster of Differentiation 95*(CD95) (*Antigen Apoptosis 1* (APO1)), dan reseptor *TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand* (TRAIL), yang selanjutnya akan menyebabkan teraktivasinya *caspase-8* dan *caspase-10*, dan pada akhirnya akan mengaktifasi *caspase 3* yang menyebabkan permeabilitas membran (Pawluk et al., 2020).

1.5.3 Tumor Necrosis Factor- α ($TNF-\alpha$)

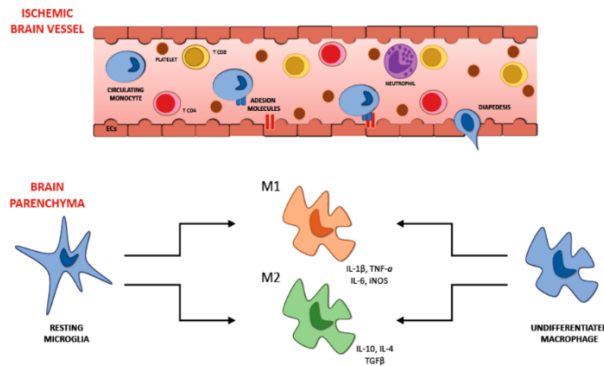
Inflamasi merupakan mekanisme yang terjadi setelah iskemia cerebral, neuron, dan astrosit yang rusak mengaktifkan mikroglia dan menarik sel-sel imun dari daerah perifer, seperti neutrofil dan limfosit T ke parenkim cerebral. Mikroglia yang teraktivasi melepaskan sitokin proinflamasi, seperti $TNF-\alpha$, *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Nitric Oxide* (NO), yang dapat merusak jaringan otak lebih lanjut meskipun juga memiliki peran protektif melalui produksi faktor pertumbuhan. Inflamasi setelah stroke iskemik bersifat kompleks karena dapat memperburuk kerusakan otak melalui siklus umpan balik yang melibatkan pelepasan sitokin dan rekrutmen leukosit lebih lanjut, yang meningkatkan luas area infark dan memburuknya hasil neurologis. Namun, inflamasi juga memiliki fungsi protektif dalam mendukung proses regenerasi jaringan (Gambar 2).

Setelah iskemia cerebral, proses inflamasi dimulai dengan ekspresi faktor-faktor proinflamasi. Proses ini mencakup aktivasi berbagai jenis sel seperti sel glial cerebral seperti mikroglia dan astrosit, adalah yang pertama kali diaktifkan sebagai respons terhadap cedera iskemik. Leukosit dan monosit adalah sel-sel imun dari sirkulasi darah bermigrasi ke jaringan cerebral yang iskemia. Aktivasi sel imun dan glial memicu pelepasan sitokin proinflamasi, enzim proteolitik, dan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Hal ini dapat menyebabkan edema cerebral, Inflamasi meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, menyebabkan pembentukan edema di jaringan cerebral. Molekul inflamasi dan ROS yang dihasilkan oleh sel-sel ini memperburuk kerusakan neuron dan memperluas area infark. Fase awal Iskemia Aktivasi awal mikroglia dan infiltrasi leukosit cenderung bersifat merugikan, menyebabkan peradangan akut yang memperparah kerusakan jaringan. Pada fase Lanjutan sel-sel ini dapat memainkan peran protektif dengan mendukung proses penyembuhan, seperti fagositosis jaringan apoptosis dan produksi *Growth Factor* untuk regenerasi jaringan (Pawluk et al., 2020).



Gambar 2. Patomekamisme kerusakan jaringan pada stroke iskemik (Pawluk et al., 2020)

Mikroglia melepaskan *Matrix Metaloproteinase* (MMP) yang dapat meningkatkan permeabilitas *Blood Brain Barrier* (BBB), sehingga leukosit dari sirkulasi sistemik dapat masuk ke parenkim cerebral. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan faktor proinflamasi sehingga memperburuk iskemia cerebral. Mikroglia terdiri dari 2 jenis, yaitu M1 yang bersifat proinflamasi menghasilkan seperti $\text{TNF-}\alpha$, IL-6, IL-1 β dan NO, dan M2 yang bersifat antiinflamasi yang menghasilkan *Transforming Growth Factor* (TGF- β), IL-4 dan IL-10 (Gambar 3) (Pawluk et al., 2020).

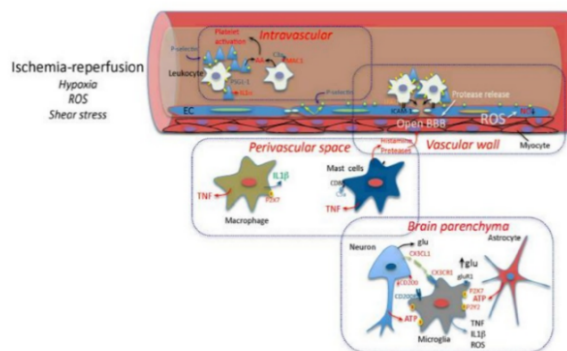


Gambar 3. Migroglia terdiri dari 2 bentuk yaitu M1 (proinflamasi) dan M2 (antiinflamasi) (Pawluk et al., 2020)

TNF- α dikenal sebagai sitokin pleiotropik karena memiliki banyak efek biologis pada berbagai jenis sel. Selain mengaktifkan endotel vaskular dan meningkatkan ekspresi molekul adhesi (ICAM-1, VCAM-1), TNF- α juga menginduksi produksi mediator sekunder seperti IL-1 β , IL-6, dan MMP-9, yang memperburuk kerusakan BBB. TNF- α juga dapat memicu apoptosis neuron melalui jalur reseptor TNFR1, sekaligus mengaktifkan astrosit dan mikroglia sehingga memperpanjang respon inflamasi. Dengan sifat ini, TNF- α menjadi pemicu awal kaskade inflamasi yang lebih luas dibandingkan sitokin lainnya. Secara temporal, TNF- α dilepaskan paling awal, yaitu dalam 3–6 jam pertama setelah iskemia, dengan puncak peningkatan dalam 6–24 jam dan mulai menurun dalam 48 jam. Sebaliknya, IL-6 dan IL-1 β meningkat sedikit lebih lambat namun bertahan lebih lama hingga fase sub-akut (2–7 hari). Hal ini menunjukkan TNF- α lebih merepresentasikan fase inisiasi inflamasi akut. Karena sifatnya sebagai inisiator awal dan pemicu mediator sekunder, TNF- α lebih relevan digunakan sebagai biomarker inflamasi fase akut stroke iskemik. Meskipun beberapa interleukin lain seperti IL-1 β dan IL-6 juga meningkat pada fase yang berdekatan, TNF- α dipilih memiliki signifikansi klinis yang lebih kuat terhadap kerusakan BBB, volume infark, dan luaran neurologis. Selain itu, sifat pleiotropiknya memungkinkan TNF- α menjadi target yang lebih representatif untuk menilai inflamasi dini. Dengan demikian, pengukuran TNF- α diharapkan dapat memberikan gambaran lebih awal tentang severitas stroke iskemik serta potensi luaran klinisnya (Lambertsen et al., 2019).

Reaksi kerusakan jaringan dan inflamasi merupakan patofisiologi penyakit cerebrovascular terutama stroke yang disebabkan oleh oklusi arteri atau stroke iskemik. Proses inflamasi dimulai dengan kompartemen intravaskular ketika terjadi hipoksia, perubahan shear stress dan produksi ROS sesaat setelah oklusi arteri hingga memacu kaskade koagulasi, aktivasi komplemen, trombosit dan sel endotel (Gambar 4). Pembentukan fibrin intravaskular, terperangkapnya trombosit dan leukosit menyebabkan oklusi mikrovaskular beberapa menit setelah stroke iskemik. Translokasi *p-selectin* ke permukaan membrane trombosit dan sel endotel yang menurunkan bioavailabilitas NO, yang merupakan vasodilator kuat dan inhibitor agregasi trombosit serta adhesi leukosit, sehingga memperburuk kejadian iskemia dengan menurunnya aliran darah pada daerah iskemik. Stress oksidasi menyebabkan vasokonstriksi sehingga terjadi oklusi

microvascular. Stress oksidasi dan mediator inflamasi juga mengubah *Blood Brain Barrier* (BBB). Peningkatan vesikel pinositotik dalam sitoplasma sel endotel meningkatkan transport trans-endotel, leukosit melepaskan protease, protein junctional yang menutup celah dan sel endotel menurun sehingga terjadi ekstrasvasi protein dan sel paracellular. Di ruang perivaskular, iskemia reperfusi mengaktifkan makrofag perivaskular dan sel mast. Degranulasi sel mast melepaskan mediator vasoaktif (histamin), protease, dan TNF- α sedangkan makrofag teraktivasi melepaskan sitokin-sitokin proinflamasi. Mediator proinflamasi berperan pada ekspresi molekul adhesi endotel dan kerusakan BBB yang disebabkan infiltrasi leukosit (netrofil, limfosit, dan monosit) (Kuriakose and Xiao, 2020).

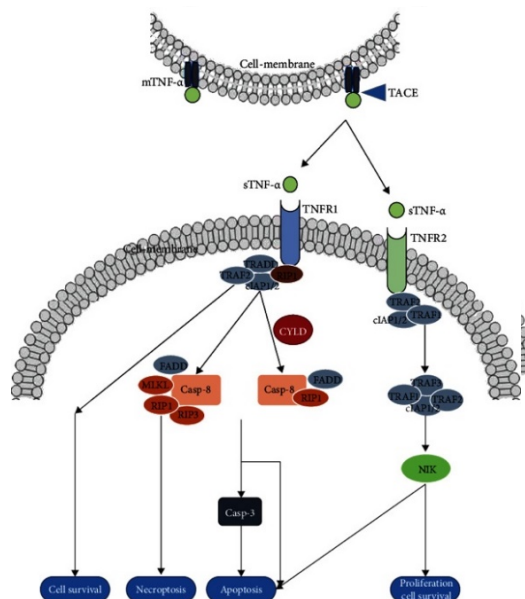


Gambar 4. Mekanisme awal vaskular, perivaskular dan parenkim cerebral ketika stroke iskemik (Kuriakose and Xiao, 2020)

TNF- α adalah molekul jenis sitokin pleiotropik sebagai faktor pengatur utama sistem kekebalan tubuh yang dapat diproduksi oleh berbagai jenis sel dan terlibat dalam berbagai proses patologis. TNF- α memainkan peran dalam homeostasis dan patofisiologi di sistem saraf pusat. Dalam kondisi patologis, mikroglia melepaskan sejumlah besar TNF- α , yang merupakan komponen penting dari respon neuroinflamasi yang terkait dengan berbagai penyakit neurologis. Berdasarkan beberapa bukti yang kuat, perubahan pada TNF- α berhubungan dengan cedera dan pemulihan stroke. Misalnya, Tuttolomondo et al. melaporkan bahwa ekspresi TNF- α meningkat setelah stroke, yang merangsang ekspresi faktor jaringan dan molekul adhesi leukosit serta menghambat sistem fibrinolitik. Meskipun beberapa penelitian melaporkan hasil yang berlawanan, penggunaan TNF- α sebagai penanda stroke tetap menjanjikan (Tuttolomondo et al, 2008). Selain peran TNF- α dalam stroke, terapi anti-TNF- α untuk stroke telah mendapatkan perhatian yang semakin meningkat dari para peneliti. Dalam sebuah studi praklinis, inhibitor reseptor TNF- α mengurangi kerusakan otak dengan mengurangi respons inflamasi pada model tikus dengan stroke iskemik (Yin et al, 2021).

TNF- α merupakan protein yang berperan dalam semua proses imunitas dan inflamasi. Protein ini diproduksi oleh sel mast, keratinosit, makrofag, dan fibroblast. TNF- α dapat diamati dalam berbagai tipe, yaitu transmembran dimana jenis ini mampu memodulasi inflamasi secara lokal dengan cara komunikasi antara sel. Tipe lainnya adalah tipe TNF- α yang bisa larut dan aktif secara biologis yaitu sTNF- α . sTNF- α diproduksi oleh enzim *Tumor Necrosis Factor-Alpha Converting Enzyme* (TACE). TNF- α jenis ini beroperasi secara sistemik dengan memicu fagositosis dan proses sitotoksik oleh

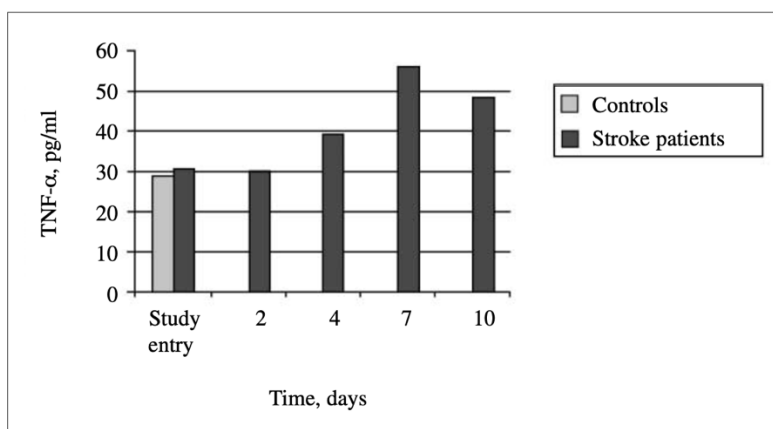
Kedua reseptor ini diekspresikan secara berbeda dalam berbagai sel dan memiliki fungsi yang berbeda. Tidak seperti TNFR1, yang dimiliki secara luas pada semua jenis sel, TNFR2 hanya dimiliki oleh beberapa sel imun dan secara selektif oleh beberapa sel Treg, beberapa sel endotel, dan sel jaringan saraf. Struktur kompleks sinyal TNF memungkinkan TNF- α untuk menginduksi peradangan dan kematian sel atau menginduksi toleransi terhadap iskemia setelah stroke. Peran utama TNFR1 adalah memulai apoptosis melalui domain kematiannya dan juga menginduksi mekanisme kelangsungan hidup sel. Aktivasi jalur TNFR2 oleh TNF- α berkontribusi pada respons kekebalan dan peradangan. Ini dapat memengaruhi aktivasi banyak jalur pensinyalan intraseluler dan akhirnya mengarah pada kelangsungan hidup sel, migrasi sel, apoptosis, dan nekrosis (Doll, Barr & Simpkins, 2014).



Gambar 5. Skema Aktivasi Reseptor TNF- α , TNF- α mengikat resptor dan mempengaruhi transduksi sinyal intraseluler. mTNF- α dihidrolisis oleh TACE untuk menghasilkan sTNF- α . sTNF- α mengikat TNFR1 dan TNFR2 melalui jalur sinyal yang berbeda, yang pada akhirnya mengarah pada serangkaian hasil, termasuk nekrosis, apoptosis, kelangsungan hidup, dan proliferasi (Xue et al., 2022)

TNFR2 tidak memiliki *dead domain* dan hanya diaktifkan sepenuhnya oleh mTNF- α . TNFR2 membentuk trimer dan secara langsung merekrut TRAF2, TRAF1, atau TRAF3. TNF- α yang sebelumnya disebut sebagai "*differentiation factor*" atau "*cachectin*", adalah protein yang terlibat dalam hampir semua proses imun dan inflamasi. Sitokin ini dapat dihasilkan oleh berbagai jenis sel, termasuk sel mast, monosit, sel T, neutrofil, keratinosit, makrofag, dan fibroblas. TNF- α memiliki dua bentuk utama yaitu *Transmembran TNF- α* (tmTNF- α) bentuk ini dapat memodulasi peradangan secara lokal melalui komunikasi antar sel. Dan *Soluble TNF- α* (sTNF- α), bentuk aktif biologis yang diproduksi oleh enzim *tumor necrosis factor-alpha converting enzyme* (TACE). Bentuk ini bekerja secara sistemik dengan merangsang fagositosis oleh makrofag dan meningkatkan aksi sitotoksik mereka, sekaligus memicu produksi sitokin lain seperti IL-1 dan IL-6. Selain berfungsi secara sistemik, TNF- α juga memiliki peran lokal dalam sistem saraf pusat. Aktivitasnya dilakukan melalui pengikatan pada reseptor TNFR-1 dan TNFR-2, yang memiliki tingkat glikosilasi dan afinitas berbeda terhadap TNF- α . Bentuk sTNF- α memiliki afinitas lebih tinggi terhadap TNFR-1, sedangkan tmTNF- α memiliki afinitas untuk TNFR-2 dan TNFR-1 (Xue et al., 2022).

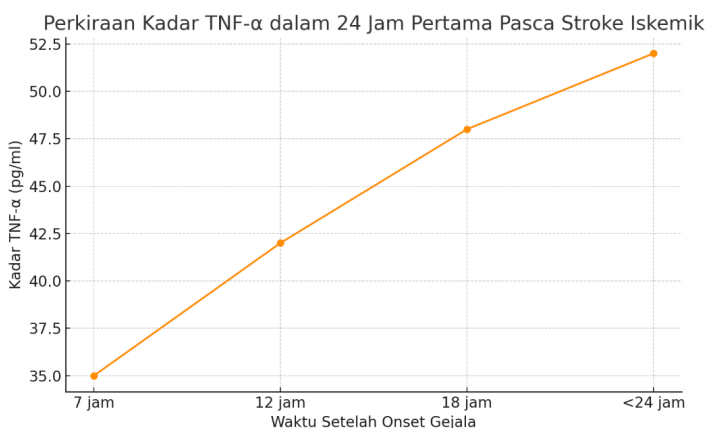
Pada kondisi normal, kadar TNF- α dalam serum atau plasma biasanya sangat rendah, sering kali berada di bawah 8 pg/mL (Rezaeitalab et al., 2020). Sebaliknya, pada saat terjadi stroke iskemik akut, TNF- α meningkat secara signifikan karena respon inflamasi, dengan nilai rata-rata yang dilaporkan berkisar 7–24 pg/mL pada hari pertama, dan dapat meningkat lebih tinggi tergantung keparahan stroke (Rahmig et al., 2024a).



Gambar 6. Kadar TNF- α pada pasien stroke iskemik akut dan kontrol (Intiso et.al, 2019)

Berdasarkan bagan di atas perubahan kadar serum TNF- α (pg/ml) pada pasien stroke iskemik dibandingkan dengan kelompok kontrol selama 10 hari observasi. TNF- α merupakan sitokin proinflamasi utama yang berperan dalam proses neuroinflamasi setelah cedera otak akibat iskemia. Pada hari masuk studi, kadar TNF- α pada pasien stroke relatif mirip dengan kelompok kontrol (sekitar 30 pg/ml). Namun, mulai hari ke-4, terjadi peningkatan yang signifikan, memuncak pada hari ke-7 (sekitar 56 pg/ml). Setelah itu, meskipun terjadi sedikit penurunan pada hari ke-10, kadar TNF- α tetap lebih tinggi dibandingkan awal studi dan kontrol. Pola ini mencerminkan aktivasi respons inflamasi

sistemik yang berkepanjangan akibat kerusakan jaringan iskemik. Meskipun kadar TNF- α meningkat secara signifikan, penelitian menunjukkan bahwa tingginya kadar TNF- α tidak berkorelasi langsung dengan ukuran lesi iskemik atau derajat defisit neurologis, menandakan bahwa TNF- α lebih mencerminkan reaksi tubuh terhadap cedera daripada keparahan lesi. Kenaikan TNF- α juga berasosiasi dengan peningkatan biomarker lain seperti fibrinogen, CRP, dan leukosit, yang mendukung keterlibatannya dalam fase akut inflamasi pasca stroke (Intiso et.al, 2019).



Gambar 7. Kadar TNF- α dalam 24 jam setelah stroke iskemik (Rahmig et al., 2024b)

Grafik di atas menunjukkan perkiraan peningkatan kadar TNF- α (pg/ml) dalam 24 jam pertama setelah terjadinya stroke iskemik:

- Pada 7 jam setelah onset: sekitar 35 pg/ml
- Pada 12 jam: naik menjadi sekitar 42 pg/ml
- Pada 18 jam: meningkat lagi hingga 48 pg/ml
- Mendekati 24 jam: mencapai puncak sekitar 52 pg/ml

Kadar TNF- α menunjukkan peningkatan yang progresif dalam 24 jam pertama setelah terjadinya stroke iskemik. Peningkatan ini mencerminkan aktivasi dini dari respons inflamasi sistemik sebagai bagian dari reaksi tubuh terhadap cedera otak. TNF- α memiliki peran penting dalam mengatur proses peradangan, termasuk peningkatan permeabilitas pembuluh darah, perekrutan leukosit, serta aktivasi sistem imun perifer. Meskipun kadar TNF- α terbukti meningkat selama fase akut stroke, hingga saat ini belum ditemukan hubungan yang konsisten antara kadar TNF- α dengan luas area infark atau tingkat keparahan gangguan neurologis. Oleh karena itu, TNF- α lebih tepat digunakan sebagai penanda inflamasi akut daripada sebagai indikator utama untuk memprediksi luaran klinis (Rahmig et al., 2024b).

1.5.4 Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR)

Peningkatan jumlah neutrofil pada stroke iskemik berhubungan positif dengan skor NIHSS yang tinggi, volume infark yang luas pada CT scan/ MRI kepala, prognosis yang buruk dan risiko kematian yang tinggi. Adanya *Adhesion Molecule* (AM) seperti integrin, immunoglobulin, dan selectin pada permukaan neutrofil membuat neutrofil dapat melekat pada sel endotel. *Adhesion Molecule* (AM) utama seperti *Lymphocyte Function-*

associated Antigen (LFA-1) (CD11a/CD18) dan *Macrophage Antigen-1* (MAC-1) (CD11b/CD18) mendukung adhesi dan transmigrasi neutrofil ke jaringan otak cerebral yang rusak. *Intracellular Cell Adhesion Molecule-1* (ICAM-1) merupakan mediator utama adhesi seluler, ditemukan dalam mikrovaskular pada area infark cerebral (Gong et al., 2024).

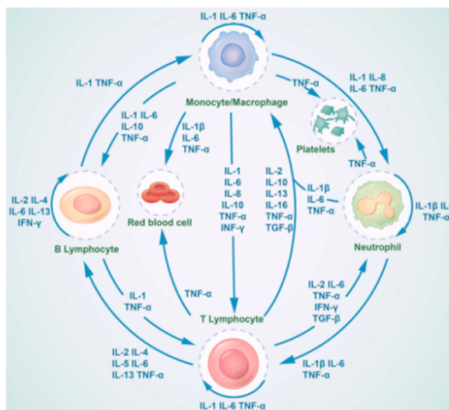
Limfosit dibagi menjadi 2 kelompok berdasarkan asal, struktur morfologi, penanda permukaan, dan fungsi imun sel T mengontrol imunitas seluler, sel B mengontrol imunitas hormonal. *Sel Natural Killer* (NK) memiliki kemampuan membunuh nonspesifik tanpa perlu sensitisasi sebelumnya. Pada pasien stroke jumlah sel limfosit T di daerah perifer menurun, termasuk *regulatory T* (Treg) *cell*, *helper T* (Th) *cells*, dan *cytotoxic T lymphocytes*. Meskipun jumlah sel limfosit T menurun, presentasi sel limfosit T yang aktif meningkat, menunjukkan peran penting sel limfosit T dalam pathogenesis stroke. Sel Th menurun setelah stroke dan beralih dari respon Th1 (proinflamasi) ke Th2 (antiinflamasi). Penurunan produksi TNF- α dan IFN- γ menunjukkan peran penting sel limfosit T dalam patogenesis stroke. Sel Treg diketahui meningkat pada hari ke 7 setelah stroke. Sel ini mengeluarkan sitokin antiinflamasi seperti IL-10 dan memiliki peran protektif terhadap jaringan cerebral, meningkatkan aktivitas mikroglia, dan mempromosikan regenerasi *white matter*. Sel limfosit B menurun setelah stroke, namun tidak menunjukkan peningkatan aktif dari sel limfosit B dan Sel NK memiliki peran terbatas dalam patologi stroke langsung tetapi penting dalam melawan infeksi terkait stroke (Gong et al., 2024).

Sitokin dan kemokin dalam respon inflamasi setelah stroke iskemik dihasilkan oleh leukosit dan trombosit yang teraktivasi baik di sirkulasi maupun pada lesi iskemik. Peran neutrofil yaitu menghasilkan sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8, dan TNF- α untuk meningkatkan aktivasi dan migrasi sel limfosit T, meningkatkan aktivasi dan migrasi sel limfosit T, meningkatkan ekspresi *Adhesion Molecule* (AM), mempengaruhi penyerapan glutamate oleh trombosit. Menghasilkan ROS dan MMPs, dan zat lain yang mempercepat cedera reperfusi iskemik. Sel T Helper (Th) diantaranya Th-1 menghasilkan proinflamasi Interferon (IFN- γ) yang bersifat proinflamasi, Th2 menghasilkan IL-4, IL5, IL-9, IL-13, dan IL-25 yang bersifat antiinflamasi, Th17 menghasilkan IL-17A, IL-17F, dan IL-22 yang bersifat proinflamasi. Treg menghasilkan TGF-b, IL-10, IL-35, STAT6, dan FOXP3 yang bersifat antiinflamasi. Sel T sitotoksik setelah teraktivasi akan melepaskan TNF- α dan IFN- γ yang bersifat antiinflamasi. Sel limfosit B tergantung bentuk diferensiasi dan aktivasi menghasilkan sitokin seperti IL-6, IL-10, TGF-b, IL-4, IFN- γ , IL-12 (Gambar 6) (Gong et al., 2024).

Penelitian yang dilakukan Xue et al. (2022) mempelajari 280 pasien dengan stroke iskemik akut menemukan bahwa nilai NLR pada saat masuk rumah sakit memiliki korelasi positif dengan tingkat severitas stroke iskemik akut, dan dibandingkan dengan pasien *Transient Ischemic Attack* (TIA) pasien stroke iskemik memiliki nilai NLR yang lebih tinggi.

Penelitian Gong et.al., menunjukkan bahwa pasien dengan nilai NIHSS yang lebih tinggi juga memiliki nilai NLR yang lebih tinggi (Gong et al., 2024). NLR adalah biomarker yang sedang berkembang untuk menilai status inflamasi seseorang, termasuk pada pasien dengan penyakit kardiovaskular, penyakit pembuluh darah perifer, dan keganasan. NLR juga dikaitkan dengan prognosis pasien dengan stroke iskemik akut. Sebagai contoh, NLR yang lebih tinggi telah dikaitkan dengan tingkat keparahan stroke awal yang lebih besar dan tingkat kematian jangka pendek yang lebih tinggi, serta

hasil fungsional jangka pendek yang lebih buruk dan peningkatan risiko stroke iskemik berulang (Giedde-Jeppe et al, 2020). NLR yang lebih tinggi juga dikaitkan dengan beberapa komplikasi pasca-stroke, termasuk risiko yang lebih tinggi dari transformasi hemoragik simptomatik dan perdarahan intracerebral simptomatik (Świtońska et al, 2020).



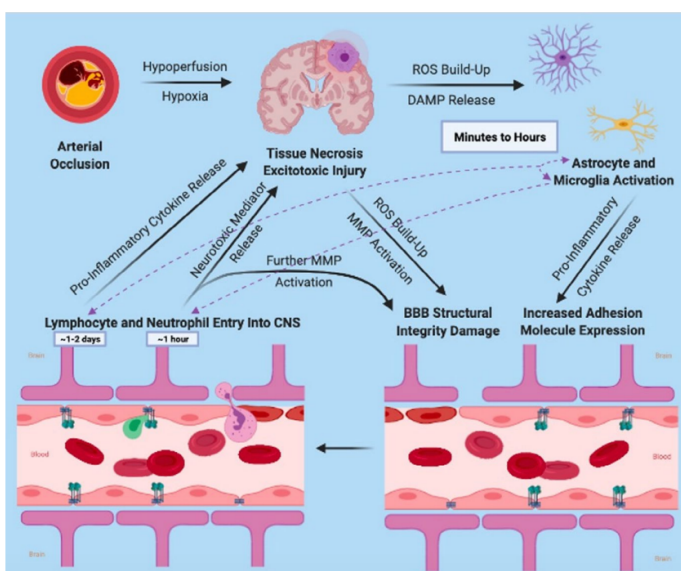
Gambar 8. Kadar TNF-α dalam 24 jam setelah stroke iskemik (Gong et al., 2024)

Inflamasi dapat memberikan dampak baik maupun buruk terhadap hasil neurologis. Iskemia otak dapat menyebabkan trauma sekunder berupa inflamasi sebagai respons terhadap kematian sel yang diikuti oleh pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) (Kawabori et al, 2015). Neutrofil adalah sel pertama yang memasuki area iskemik otak, biasanya muncul dalam 4-6 jam dan menetap setelah 12 jam. Penelitian menunjukkan bahwa menghentikan infiltrasi neutrofil ke dalam otak dapat memperbaiki defisit neurologis pada pasien stroke, yang mengindikasikan bahwa neutrofil memiliki efek negatif pada hasil stroke. Penelitian juga menunjukkan bahwa neutrofil mulai menginfiltrasi area iskemik dalam waktu 1 hingga 3 hari. Sebaliknya, limfosit melakukan infiltrasi ke area iskemik lebih lambat, dengan puncaknya pada hari ke-3 hingga ke-6 setelah stroke (Giede-Jeppe et al., 2020).

Akumulasi neutrofil di area infark serebri berhubungan dengan tingkat kerusakan jaringan otak dan hasil neurologis yang buruk setelah stroke iskemik. Ini dapat dinilai melalui NLR sebagai indikator efek negatif dari peningkatan kadar neutrofil yang menunjukkan inflamasi akut dan penurunan kadar limfosit yang menandakan adanya stres fisiologis. NLR bisa menjadi prediktor risiko stroke, menggambarkan respons imun bawaan dan adaptif dari darah perifer. Peningkatan NLR menunjukkan peningkatan kadar neutrofil dan penurunan kadar limfosit, yang mengindikasikan ketidakseimbangan antara inflamasi sentral yang diinduksi oleh stroke dan inflamasi perifer. Target utama inflamasi adalah kerusakan BBB, yang menyebabkan infiltrasi berbagai sel inflamasi, terutama neutrofil, ke dalam lesi, serta induksi stres oksidatif dan kerusakan sawar darah otak (Gong et al., 2024).

Gambaran imunopatogenesis pada stroke iskemik akut menunjukkan bahwa cedera otak akibat oklusi arteri tidak hanya disebabkan oleh gangguan aliran darah, tetapi juga oleh respon imun yang kompleks dan bertahap. Setelah terjadi hipoperfusi dan hipoksia, sel-sel otak mengalami nekrosis dan melepaskan radikal bebas seperti *Damage-Associated Molecular Peptides* (DAMP) dan *Reactive Oxygen species* (ROS)

yang memicu aktivasi sel-sel glial, terutama astrosit dan mikroglia. Mikroglia tipe M1 akan memproduksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 dan TNF- α yang kemudian menarik masuk sel-sel imun perifer seperti neutrofil, monosit, dan limfosit ke sistem saraf pusat. Neutrofil merupakan sel pertama yang menembus BBB dalam waktu sekitar satu jam setelah serangan iskemik, dan menyebabkan kerusakan struktural melalui pelepasan enzim MMP-9 serta peningkatan ROS. Hal ini memperparah inflamasi dan meningkatkan permeabilitas BBB, memungkinkan lebih banyak sel imun masuk ke jaringan otak. Selain itu, ekspresi molekul adhesi pada dinding pembuluh darah meningkat, memperkuat proses inflamasi. Mikroglia dan astrosit memperumit respon ini, dengan keduanya saling memengaruhi fungsi dan mengatur produksi sitokin pro maupun antiinflamasi. Pada tahap selanjutnya, mikroglia dapat beralih menjadi M2 yang bersifat antiinflamasi dengan menghasilkan IL-4 dan TGF- β . Respon sel T juga beragam diantaranya CD8+, Th1, dan sel T cenderung bersifat merusak, sedangkan Treg dan Th2 justru lebih menunjukkan sifat proteksi. Sementara itu, peran sel B dalam proses ini masih belum sepenuhnya dipahami. Kompleksitas respon imun ini memperkuat alasan mengapa NLR menjadi indikator penting yang menggambarkan dinamika inflamasi pada pasien stroke iskemik akut (Sharma et al., 2021).



Gambar 9. Immunopathogenesis stroke iskemik akut (Sharma et al., 2021)

NLR merupakan salah satu indikator biomarker inflamasi sistemik yang digunakan secara luas dalam menilai prognosis pasien dengan stroke iskemik akut. NLR dihitung dari rasio jumlah neutrofil terhadap limfosit dalam darah, dan mencerminkan keseimbangan antara respon imun proinflamasi dan antiinflamasi dalam tubuh. Berdasarkan penelitian Kim et al. (2023), nilai NLR pada pasien stroke iskemik akut dapat dikategorikan menjadi tiga kelompok, yaitu rendah ($<1,84$), sedang ($1,84-2,71$), dan tinggi ($>2,71$). Hasil studi tersebut menunjukkan bahwa pasien dengan NLR $>2,71$ memiliki risiko yang lebih tinggi terhadap hasil fungsional yang buruk, baik dalam aspek kognitif maupun kemampuan aktivitas harian. Analisis lebih lanjut dengan kurva ROC

menghasilkan nilai ambang batas optimal NLR sebesar 2,05 hingga 2,09, yang berkorelasi signifikan dengan keparahan stroke (NIHSS ≥ 5). Dengan demikian, NLR tidak hanya menjadi indikator inflamasi yang praktis dan ekonomis, tetapi juga berpotensi digunakan sebagai prediktor dini terhadap prognosis jangka pendek pada pasien stroke iskemik akut (Kim et al., 2023).

NLR mudah dihitung dari hasil hitung leukosit saat masuk rumah sakit, dapat menjadi penanda regulasi imunitas dan berpotensi sebagai penanda prognostik pada penderita stroke akibat oklusi pembuluh darah besar (Forget et al, 2017). Untuk mengukur tingkat keparahan defisit neurologis (severitas) dan perbaikan klinis pasien stroke iskemik menggunakan *Gold Standard* yakni *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS) (Larsen et al, 2022). Nilai NIHSS awal berkorelasi dengan luaran klinis awal dan jangka panjang, respon terhadap terapi, perburukan neurologi, dan mortalitas (Maglinger et al., 2021).

1.5.5 *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS)

Patomekanisme terjadinya stroke ini sangat berpengaruh terhadap berat ringannya gejala klinis yang terjadi dan luaran pasien yang dirawat di rumah sakit. Telah banyak penelitian yang mengukur proses yang terlibat dalam mekanisme ini dan penelitian-penelitian tersebut menggunakan sistem skoring yang berbeda-beda. Beberapa sistem skoring yang banyak dipakai dalam penelitian tersebut antara lain *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS), *Scandinavian Stroke Scale* (SSS), *Canadian Neurological Stroke Scale* (CNSS) dan lain-lain. Pada penelitian skoring yang digunakan adalah NIHSS.

National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) (Lampiran 1) adalah alat penilaian yang valid untuk tingkat severitas awal stroke pada saat masuk dan membantu memprediksi mortalitas pada pasien stroke iskemik akut. Prediksi mortalitas memainkan peran penting untuk membantu menentukan tingkat prognosis dan hasil klinis. Skala ini merupakan skala konvensional non-linear yang sangat sugestif terhadap pemulihan fungsional awal dan dampak klinis jangka panjang. Skala ini dapat dengan mudah dilakukan oleh para peneliti, perawat, dan dokter dan telah menunjukkan adanya reliabilitas *intra-rater* dan *inter-rater* yang membutuhkan waktu sekitar lima hingga delapan menit untuk menyelesaikannya. Tes ini menilai berbagai karakteristik neurologis pasien mulai dari tingkat kesadaran, bicara dan bahasa, pengabaian, komunikasi, lapang pandang, gerakan mata, kesimetrisan wajah, kekuatan motorik, sensori, dan koordinasi pasien (Farooque et al., 2020; Zöllner et al., 2020).

NIHSS merupakan skala yang menjadi standar baku emas untuk menilai derajat severitas stroke. NIHSS pada awalnya digunakan untuk kepentingan penelitian, dan digunakan untuk menilai derajat defisit neurologis berdasarkan manifestasi klinis pada penelitian r-tPA oleh *National Institute of Neurological Disorders and Stroke* (NINDS). Namun sejak saat itu NIHSS mulai banyak digunakan untuk menilai defisit neurologis awal (*baseline*) dan memantau perkembangan terapi. Nilai NIHSS awal berkorelasi dengan luaran klinis awal dan jangka panjang, respon terhadap terapi, perburukan neurologi, dan mortalitas (Mohr et al., 2011).

The Joint Commission, sebagai bagian dari program sertifikasinya untuk Pusat Stroke Primer, kini mengharuskan penilaian skor NIHSS dalam 12 jam setelah admisi untuk semua pasien stroke; penilaian ini harus dilakukan oleh pemeriksa yang

bersertifikat (Patrick Lyden, 2017).

Jika dianalisis lebih lanjut, skor NIHSS menilai 4 komponen fungsional otak, yaitu fungsi kortikal dan subkortikal (motorik) dari hemisfer kanan dan hemisfer kiri. NIHSS digunakan terutama dalam *setting* penelitian klinis. Terdapat kategori skor NIHSS, dengan skor 0-4 adalah stroke minor, skor 5-15 adalah stroke sedang, 16-20 adalah stroke sedang berat, dan 21-42 adalah stroke berat. NIHSS harus dilakukan oleh dokter terlatih untuk memastikan reproduktifitas (Farooque et al., 2020; Osmani, 2010).

1.5.6 Modified Rankin Scale (mRS)

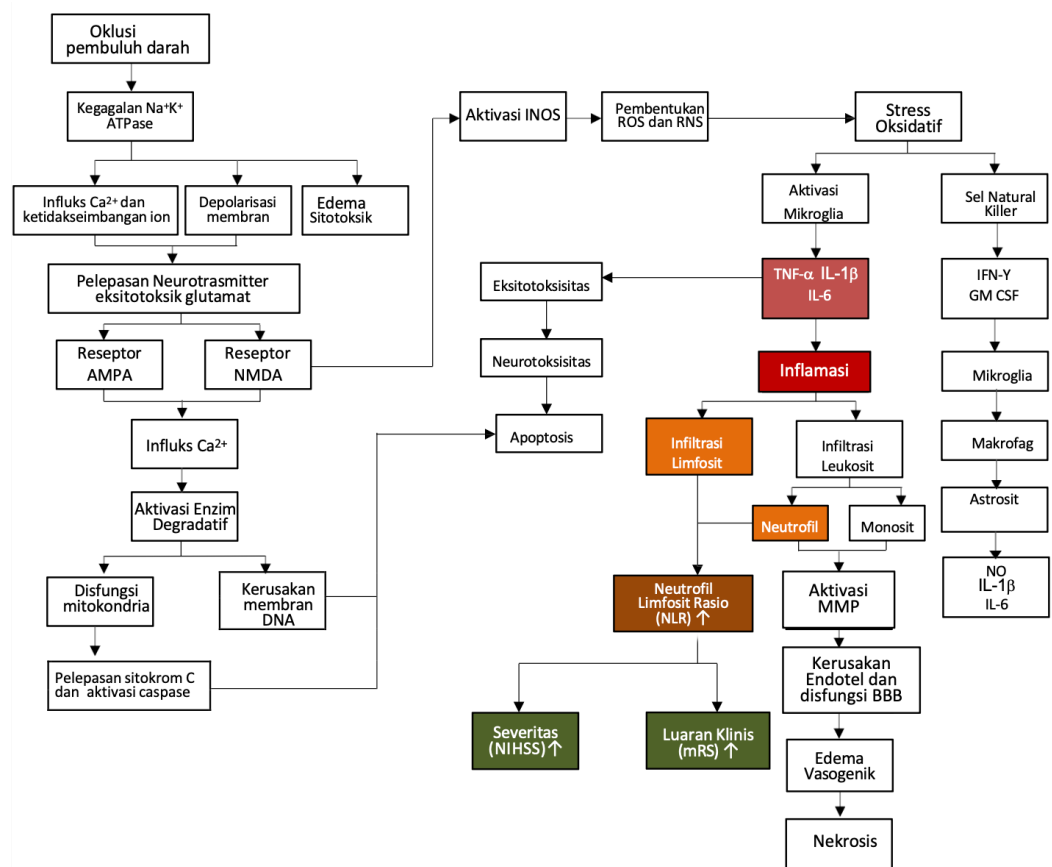
Pada luaran klinis fungsional pasien stroke terdapat beberapa sistem skoring yang biasa dipakai antara lain *Berg Balance Scale* (BBS), *Modified Rankin Scale* (mRS) dan lain-lain. Pada penelitian ini kami menggunakan *Modified Rankin Scale* (mRS). Uji *Modified Rankin Scale* (mRS) (Lampiran 2) merupakan skala yang sering digunakan untuk menilai luaran klinis fungsional dan merupakan pengukuran yang dapat dipercaya yang memberi penilaian yang lebih efektif terhadap pemulihan fungsional setelah stroke. Skala mRS lebih baik untuk mengukur ketergantungan dari pada performasi aktivitas spesifik, dalam hal ini terdiri dari 6 derajat yaitu 0-5 dimana 0 tidak ada gejala dan 5 berarti cacat/ketidakmampuan yang berat dan 6 adalah kematian. Skala mRS lebih sensitive untuk penilaian pada penderita dengan disabilitas ringan dan sedang. Nilai mRS 1-2 dikategorikan *outcome* baik, 3-6 dikategorikan *outcome* buruk (Broderick et al., 2017).

Skor mRS yang diamati selama 30 hari adalah prediktor paling kuat dalam memprediksi luaran klinis pasien stroke. Status hasil fungsional pada hari ke-30 hingga 90 telah terbukti secara baik memperkirakan luaran klinis stroke iskemik akut, dengan skor ordinal mRS pada hari ke-30 yang disesuaikan dengan kovariat ditemukan sangat terkait dengan skor pada hari ke-90 (Gardener et al., 2022).

1.6 Kerangka Teori dan Kerangka Konsep

1.6.1 Kerangka Teori

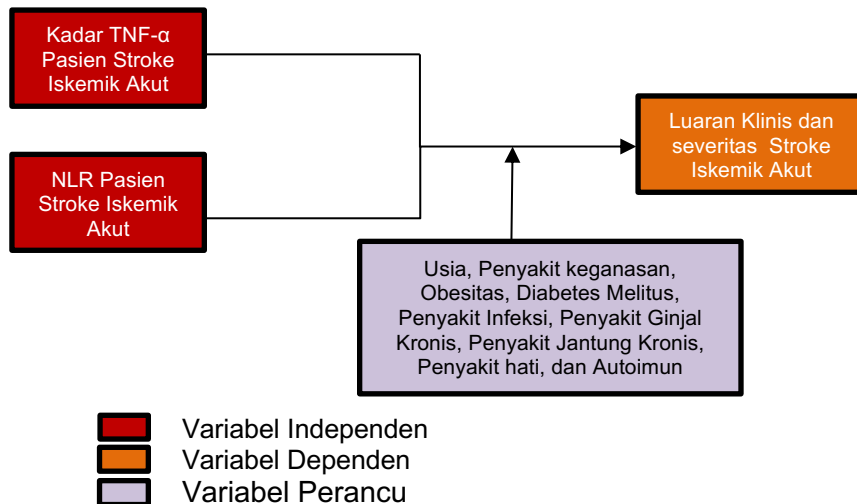
Berdasarkan kajian teori yang telah dibahas, berikut kerangka teori penelitian ini.



Gambar 10. Kerangka Teori

1.6.2 Kerangka Konsep

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



Gambar 11. Kerangka Konsep

1.7 Manfaat Penelitian

1.7.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini memberikan kontribusi dan pengetahuan di bidang neurologi mengenai perbandingan kadar serum TNF- α dan NLR dengan severitas dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut.

1.7.2 Manfaat Aplikatif

Diharapkan dapat membuka wawasan dan peluang tatalaksana untuk mengurangi derajat keparahan dan perbaikan luaran klinis pasien stroke iskemik akut.

1.7.3 Manfaat Metodologi

Sebagai sumber informasi dan referensi bagi peneliti lain untuk melakukan penelitian yang terkait selanjutnya.

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian observasional analitik dengan desain *cross sectional*.

2.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, rumah sakit jejaring pendidikan di Kota Makassar, dimulai bulan Juli 2025.

2.3 Populasi

2.3.1 Populasi Target

Populasi target penelitian ini adalah semua pasien stroke iskemik akut dirawat inap di bangsal saraf RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RS jejaring di Kota Makassar.

2.3.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau penelitian ini adalah semua yang didiagnosis stroke iskemik akut berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang, yang berobat dan dirawat inap di bangsal saraf RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RS jejaring di Kota Makassar.

2.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

2.4.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi penelitian ini:

1. Pasien stroke iskemik akut dengan onset 1-7 hari
2. Berusia 18-80 tahun dengan serangan stroke iskemik pertama
3. Pasien yang bersedia ikut serta dalam penelitian dengan menandatangani surat pernyataan persetujuan

2.4.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi penelitian ini:

1. Pasien dengan penyakit ginjal kronik
2. Pasien dengan gagal jantung kronik
3. Pasien dengan penyakit keganasan
4. Pasien dengan penyakit infeksi
5. Pasien dengan penyakit hati
6. Pasien dengan penyakit autoimun
7. Pasien dengan penyakit diabetes melitus
8. Pasien dengan obesitas

2.4.3 Kriteria Drop Out

Kriteria *drop out* penelitian ini: Pasien yang menarik diri dari penelitian.

2.5 Besaran Sampel

Besaran sampel minimum yang dibutuhkan diperoleh berdasarkan pada rumus estimasi sebagai berikut:

$$n = \left(\frac{Z_{\alpha/2} \times \sigma}{d} \right)^2$$

Keterangan:

Z_{α} = Z-score untuk tingkat signifikansi (misalnya 1,96 untuk $\alpha = 0,05$)

σ = simpangan baku dari populasi (berdasarkan studi sebelumnya atau studi pendahuluan)

d = batas kesalahan (*margin of error*) yang dapat diterima

$$n = \left(\frac{1,96 \times 3,5}{1} \right)^2 = (6,86)^2 = 47,06$$

Didapatkan jumlah sampel minimal 47,06 orang, dibulatkan menjadi 48 orang.

2.6 Cara Pengambilan Sampel

Sampel penelitian diperoleh berdasarkan urutan masuknya pasien ke Rumah Sakit (*consecutive sampling*).

2.7 Variabel Penelitian

Variabel bebas pada penelitian ini adalah kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- α) dan *Neutrophile to Lymphocyte Ratio* (NLR) Variabel terikat pada penelitian ini adalah severitas (NIHSS) dan luaran klinis pasien stroke iskemik akut (mRS).

2.8 Definisi Operasional

1. Stroke iskemik akut

Adalah defisit neurologis fokal (hemiparesis, hemianopia, disartria dan afasia) atau defisit global (kesadaran menurun, gangguan fungsi kortikal luhur) yang terjadi secara tiba-tiba dengan onset kejadian ≤ 7 hari.

Cara ukur: pemeriksaan CT scan kepala tanpa kontras

Alat ukur: interpretasi hasil CT scan kepala tanpa kontras

Hasil ukur: gambaran hipodens

Skala ukur: kategorikal Nominal

2. Usia

Adalah usia subjek penelitian.

Cara ukur: berdasarkan data rekam medis atau kartu tanda pengenal (KTP) dan dikategorikan berdasarkan WHO. Alat ukur: data rekam medis atau tanda pengenal (KTP)

Hasil ukur:

1. 25-44 tahun (Dewasa muda)
2. 45-59 tahun (Dewasa madya)
3. 60-74 tahun (Lansia awal)
4. ≥ 75 tahun (Lansia lanjut)

Skala ukur: kategorikal ordinal

3. Kadar TNF- α

Adalah kadar TNF- α dalam pg/mL yang diperoleh dari sampel darah vena penderita stroke iskemik akut. (nilai normal: <8 pg/mL)

Cara ukur: metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)

Alat ukur: KIT *Elabscience*

Hasil ukur: satuan pg/ml, nilai normal: <8 pg/mL

Skala ukur: rasio

4. NLR adalah rasio antara jumlah neutrofil terhadap jumlah limfosit. NLR dihitung dengan membagi jumlah neutrofil absolut ($\times 10^3/\mu\text{L}$) dengan jumlah limfosit absolut ($\times 10^3/\mu\text{L}$) berdasarkan hasil pemeriksaan hitung jenis leukosit pada sampel darah vena sebanyak 3cc saat pasien pertama kali masuk ke instalasi gawat darurat.

Cara ukur: pengambilan sampel darah vena 3cc

Alat ukur: Hematoanalyzer

Hasil ukur: Rasio jumlah neutrofil dibagi limfosit, Nilai rendah (<1,84), sedang (1,84–2,71), dan tinggi (>2,71).

Skala ukur: Rasio

5. NIHSS adalah instrumen yang digunakan untuk menilai severitas atau defisit neurologis yang terjadi akibat stroke iskemik onset akut 1-7 hari dan hari 30.

Cara ukur: pemeriksaan langsung pada pasien

Alat ukur: Instrumen NIHSS

Hasil ukur: 1. Ringan (0-4), 2. Sedang (5-14), Berat (15-25), Sangat berat >25

Skala ukur: kategorikal ordinal

6. mRS adalah instrumen yang digunakan untuk menilai luaran klinis pasien stroke. mRS diukur pada onset hari ke 1-7 hari dan hari 30.

Cara ukur: pemeriksaan langsung pasien

Alat ukur: instrument mRS

Hasil ukur: 1. Luaran klinis baik (0-2), 2. Luaran klinis buruk (3-6)

Skala ukur: kategorikal nominal

7. Keganasan

Merupakan riwayat kondisi pasien berupa pertumbuhan jaringan atau sel abnormal pada tubuh.

Cara ukur: anamnesis/rekam medik dan pemeriksaan penunjang

Alat ukur: riwayat rekam medis atau anamnesis dan pemeriksaan penunjang

Hasil ukur: 1. Ya; 2. Tidak

Skala ukur: kategorikal nominal

8. Penyakit infeksi

Adalah kondisi medis yang disebabkan oleh infeksi dan memiliki tingkat keparahan yang tinggi, sehingga dapat mengancam nyawa atau menyebabkan komplikasi serius

Cara ukur: anamnesis/rekam medik dan pemeriksaan penunjang

Alat ukur: riwayat rekam medis atau anamnesis dan pemeriksaan penunjang

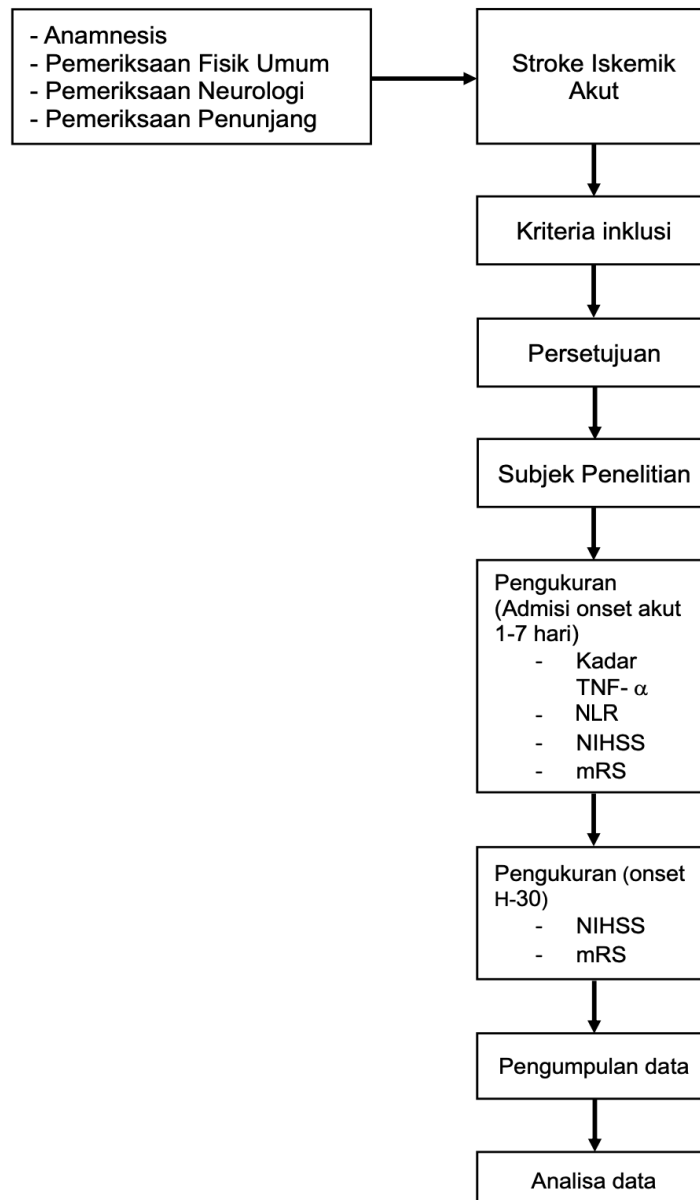
- Hasil ukur: 1.Ya; 2.Tidak
Skala ukur: kategorikal nominal
9. Penyakit ginjal kronik
Merupakan riwayat pasien dengan kondisi peningkatan fungsi ginjal diambang batas normal yang memberikan gejala gangguan sistemik.
Cara ukur: anamnesis/rekam medik dan pemeriksaan penunjang.
Alat ukur: riwayat rekam medis atau anamnesis dan pemeriksaan penunjang.
Hasil ukur: 1.Ya; 2.Tidak
Skala ukur: kategorikal nominal
10. Penyakit autoimun
Merupakan riwayat pasien dengan kondisi gangguan respon kekebalan tubuh.
Cara ukur: anamnesis/rekam medik dan pemeriksaan penunjang.
Alat ukur: riwayat rekam medis atau anamnesis dan pemeriksaan penunjang.
Hasil ukur: 1.Ya; 2.Tidak
Skala ukur: kategorikal nominal
11. Penyakit Diabetes Melitus
Pasien yang memiliki riwayat diagnosis Diabetes Melitus (DM) berdasarkan rekam medis atau hasil pemeriksaan penunjang seperti kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL, tes toleransi glukosa ≥ 200 mg/dL, atau HbA1c $\geq 6,5\%$.
Cara ukur: Telaah rekam medis, serta hasil pemeriksaan penunjang laboratorium.
Alat ukur: riwayat rekam medis atau anamnesis dan pemeriksaan penunjang.
Hasil ukur: 1.Ya; 2.Tidak
Skala ukur: kategorikal nominal
12. Obesitas
Pasien dengan indeks massa tubuh (IMT) ≥ 25 kg/m² sesuai klasifikasi obesitas untuk populasi Asia berdasarkan pengukuran tinggi badan dan berat badan, atau berdasarkan riwayat diagnosis obesitas di rekam medis.
Cara ukur: anamnesis/rekam medik dan pemeriksaan penunjang.
Alat ukur: Timbangan berat badan dan pengukur tinggi badan (stadiometer) yang tertera pada rekam medis.
Hasil ukur: 1.Ya; 2.Tidak
Skala ukur: kategorikal nominal
13. Penyakit hati
Merupakan riwayat pasien dengan kondisi gangguan fungsi hati yang berat, ditandai dengan penurunan kemampuan hati dalam metabolisme, detoksifikasi, dan produksi protein, yang dapat memberikan gejala sistemik atau komplikasi serius.
Cara ukur: anamnesis/rekam medik dan pemeriksaan penunjang (seperti pemeriksaan fungsi hati, USG, atau penilaian klinis)

Alat ukur: riwayat rekam medis atau anamnesis dan hasil pemeriksaan penunjang terkait fungsi hati.

Hasil ukur: 1. Ya; 2. Tidak

Skala ukur: kategorikal nominal

2.9 Alur Penelitian



Gambar 12. Alur Penelitian. (TNF- α = Tumor Necrosis Factor-Alpha, NLR=Neutrophile to Lymphocyte Ratio), NIHSS = National Institute Health Stroke Scale, mRS = Modified Rankin scale)

2.10 Cara Kerja Penelitian

1. Pasien masuk di ruang perawatan RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RS jejaring dengan diagnosis stroke iskemik akut berdasarkan anamnesis, pemeriksaan neurologi, dan pemeriksaan penunjang, yaitu CT scan kepala non kontras.
2. Peneliti menjelaskan mengenai prosedur penelitian dan meminta *informed consent* dari pasien/keluarga.
3. Peneliti mengumpulkan data NLR dari hasil laboratorium 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 diperiksa di laboratorium menggunakan *Hematoanalyzer*.
4. Dilakukan pengambilan sampel darah vena sebanyak 5 cc dalam tabung plain untuk pemeriksaan kadar TNF- α di laboratorium HUMRC RSP Universitas Hasanuddin pada subjek pasien stroke iskemik onset 1-7 hari.
5. Dilakukan penilaian severitas awal stroke iskemik dengan NIHSS pada pasien stroke iskemik onset 1-7 hari dan onset hari ke 30.
6. Dilakukan penilaian luaran klinis stroke dengan mRS pada pasien stroke iskemik onset 1-7 hari dan onset hari ke 30.
7. Semua data yang diperoleh dicatat kemudian dianalisis.

2.11 Analisis Data

1. Analisis deksriptif digunakan untuk semua variabel.
2. Data diolah dan dianalisis dengan menggunakan program Microsoft Excel dan SPSS versi 25.
3. Uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* (>50)
4. Analisis dilakukan berdasarkan hasil uji normalitas, pada penelitian ini data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), maka digunakan uji non parametrik, analisis perbedaan dua kelompok diuji dengan *Mann Whittney* dan perbedaan lebih dari dua kelompok dengan *Kruskal Wallis*.
5. Analisis perbedaan skor NIHSS dan mRS antara saat admisi dan hari ke-30 dilakukan menggunakan uji *Wilcoxon Signed-Rank Test*. Uji ini dipilih karena data bersifat berpasangan (*paired samples*), yaitu pengukuran dilakukan pada subjek yang sama pada dua waktu berbeda, serta distribusi data tidak memenuhi asumsi normalitas.
6. Kemudian uji korelasi dilakukan untuk menganalisis hubungan antara dua kelompok dengan uji korelasi *Spearman* karena data terdistribusi tidak normal.
7. Analisis *Receiver Operating Characteristic* (ROC) dilakukan untuk menentukan nilai ambang optimal dan mengevaluasi akurasi TNF- α serta NLR dalam membedakan kelompok subjek berdasarkan luaran klinis (mRS).
8. Nilai *Youden Index* dihitung dari hasil analisis ROC untuk menentukan titik potong (*cut-off point*) terbaik dengan formula $J = \text{Sensitivitas} + \text{Spesifisitas} - 1$, sehingga diperoleh keseimbangan optimal antara sensitivitas dan spesifisitas.

2.12 Izin Studi dan Kelayakan Etik

Penelitian ini telah disetujui komisi etik penelitian biomedis pada Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar dengan nomor 533/UN4.6.4.5.31/PP36/2025. Dalam penelitian ini, 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*.