

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Determinasi dan Diferensiasi Seks

Seks merupakan kriteria biologis yang membedakan pria dan wanita, yang dipengaruhi oleh kromosom individu, gonad, morfologi (internal dan eksternal) serta karakteristik hormon. Kromosom seks yang terbentuk pada individu mendasari terjadinya diferensiasi seks. Pada saat fertilisasi, yaitu fusi sel ovum dan sel sperma, terjadi determinasi seks embrio. Sel ovum mempunyai komponen kromosom 23, X, sedangkan sel sperma mempunyai komponen kromosom 23, X atau 23,Y.²² Fusi sel ovum dan sel sperma menghasilkan sel diploid dengan kariotipe 46, XX (kromosom wanita) atau 46, XY (kromosom pria).²³

Pada 6 minggu pertama perkembangan embrio, terbentuk sepasang bubungan longitudinal (*gonadal ridge*), sel germinativum, duktus internal, dan genitalia eksterna yang berpotensi menjadi embrio dengan kariotipe 46, XX atau 46, XY. *Gonadal ridge* terbentuk dari proliferasi epitel dan pepadatan mesenkim. Berdasarkan determinasi seks pada embrio, *gonadal ridge* berdiferensiasi menjadi ovarium atau testis, sedangkan sel germinativum berkembang menjadi oosit atau spermatosit. Sedangkan salah satu dari dua duktus internal akan berkembang dan yang lain akan mengalami regresi. Genitalia eksterna akan berkembang sesuai dengan determinasi seks pada embrio, menjadi genitalia pria atau genitalia wanita.

Gonadal ridge berada di pertengahan *urogenital ridge* yang dapat dideteksi 5 minggu setelah gestasi.²⁴⁻²⁶ Sel germinativum primordial muncul pada

tahap awal perkembangan di antara sel – sel endoderm di dinding *yolk sac* dekat alantois. Sel – sel ini bermigrasi dengan gerakan amoboid di sepanjang mesenterium dorsal usus belakang, kemudian sampai ke gonad primitif pada awal minggu kelima dan menginvasi *genital ridge* pada minggu keenam. Sel germinativum mempunyai kariotipe 46,XX atau 46, XY.^{24,27} Apabila sel germinativum tidak mencapai *gonadal ridge*, maka gonad tidak akan terbentuk. Oleh karena itu, sel germinativum mempunyai pengaruh induktif pada perkembangan gonad menjadi ovarium atau testis.

Sesaat sebelum dan setibanya sel – sel germinativum primordial, epitel *genital ridge* berploriferasi. Kemudian terbentuklah sejumlah korda yang ireguler yaitu korda seks primitif. Pada embrio pria dan wanita, korda akan berhubungan dengan epitel permukaan, sehingga gonad pria dan wanita sulit dibedakan. Oleh karena itu, gonad tersebut disebut dengan gonad indiferen.

Embrio pria dan wanita mempunyai dua pasang duktus genitalia yaitu duktus mesonefrikus (*wolfii*) dan duktus paramesonefrikus (*mülleri*). Duktus *wolfi* dapat terdeteksi pada saat umur gestasi 4 minggu.^{24,28} Sedangkan duktus *mülleri* muncul setelah gestasi berumur 6 minggu.²⁴ Duktus *wolfii* akan membentuk struktur epididimis, *vas deferens* dan vesikula seminalis, sedangkan duktus *mülleri* akan berkembang menjadi tuba falopi, uterus dan portio posterior vagina.^{24,28}

Apabila embrio secara genetik adalah pria, 46, XY, maka korda seks primitif akan berploriferasi dan menembus ke dalam medula, membentuk testis atau korda medularis. Perkembangan tersebut dipengaruhi oleh gen SRY pada

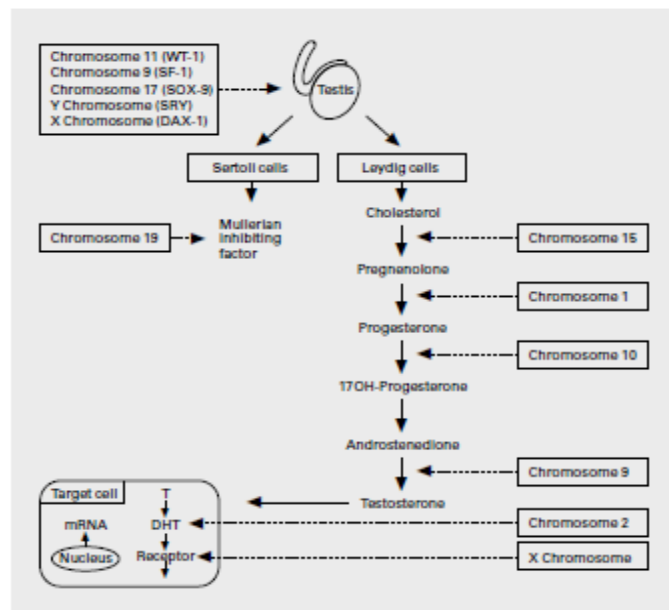
kromosom Y, yang mengandung *testis determining factor*. Selain itu dipengaruhi juga oleh gen *Steroidogenic Factor-1* (SF-1) dan SOX-9.²⁸ Ke arah hilus kelenjar, korda terurai menjadi jalinan untaian halus, yang kemudian membentuk tubulus rete testis. Selanjutnya terbentuk suatu lapisan fibrosa padat yang memisahkan korda testis dari epitel permukaan yang disebut *tunica albuginea*.

Pada bulan keempat, ujung korda testis bersambungan dengan rete testis. Korda testis terdiri dari sel germinativum dan sel sustentakular sertoli yang berasal dari epitel permukaan kelenjar. Sel sertoli berada di dalam tubulus seminiferus dan mengelilingi sel germinativum serta menghasilkan *Müllerian Inhibiting Substance (MIS)* yang berfungsi menghambat perkembangan duktus *mülleri*.²⁹ Diantara korda – korda testis terdapat sel Leydig interstitial yang berasal dari mesenkim *gonadal ridge*, yang mulai berkembang setelah terjadi diferensiasi korda.³⁰ Pada minggu kedelapan kehamilan, sel Leydig mulai menghasilkan hormon testosteron.^{31,32}

Di dalam testis terjadi mitosis dari sel germinativum dan membentuk spermatogonium. Terdapat dua mekanisme yang mampu menjelaskan berhentinya proses mitosis pada sel germinativum laki – laki yaitu, kontak fisik antara sel germinativum dan sel sertoli, dan adanya substansi inhibitor yang menghambat proses mitosis yang dihasilkan oleh tubulus seminiferus.^{33,34} Determinasi testis dikontrol oleh faktor genetik. *Willms Tumor-1* (WT-1) merupakan faktor transkripsi untuk perkembangan gonad bipotensial menjadi testis atau ovarium.³⁵ Selain itu juga terdapat SF-1 yang dibutuhkan untuk membentuk gonad bipotensial. Peningkatan transkripsi SF-1 dan DAX-1 pada locus Xp21-p22

dibutuhkan pada awal perkembangan gonad.³⁶ Beberapa gen juga dibutuhkan untuk melengkapi determinasi testis.

Regio determinasi seks pada kromosom Y (SRY) yang mengandung *testis determining factor* berlokasi pada segmen 35-kb pada lengan pendek kromosom Y.³⁷ Apabila terjadi perkembangan fungsional gen SRY, gonad bipotensial akan mengalami determinasi menjadi testis. SF-1 tidak hanya berperan dalam determinasi testis, tetapi juga berperan dalam regresi duktus *mülleri*.³⁸ Jumlah SF-1 dan DAX-1 tinggi pada ekspresi gen SRY.



Gambar 1. Diferensiasi Testis³⁷

Kromosom 11, 9, 17, Y, dan X akan menginduksi pertumbuhan testis, sehingga testis akan menghasilkan hormon yang mengakibatkan diferensiasi testis, sehingga derivat dari duktus *mülleri* akan mengalami regresi.

Pada wanita pembentukan oosit dari sel germinativum mengawali terjadinya determinasi ovarium.²⁶ Pada embrio dengan kromosom 46, XX, gonad

bipotensial akan mengalami folikulogenesis dan perkembangan endokrin. Pada ovarium janin, terjadi peningkatan aktivitas sitokrom P450 aromatase yang mengakibatkan ovarium mengalami diferensiasi, akan tetapi tidak diketahui tempat produksi hormon seks steroidnya.³⁴ Terjadinya determinasi ovarium dikarenakan tidak adanya gen SRY pada kromosom Y. Tidak adanya gen SRY pada wanita, mengakibatkan terjadinya penurunan ekspresi SF-1, dimana reseptornya ditemukan pada regio promotor DAX-1, sehingga SF-1 berpotensi mengatur regulasi ekspresi DAX-1.³⁹

Pada minggu ketujuh gestasi, mulai terbentuk alat genitalia laki – laki. Apabila hormon androgen tidak muncul sampai minggu keduabelas gestasi, maka maskulinisasi tidak akan terjadi. Hormon testosteron menginduksi pertumbuhan duktus *wolfii*, sedangkan hormon dehidrotestosteron dibutuhkan untuk maskulinisasi alat genitalia eksterna pada laki – laki.³¹ Maskulinisasi pada alat genitalia eksterna laki – laki meliputi ; bertambahnya jarak anogenital, menyatunya lipatan uretral, dan pertumbuhan serta menyatunya garis tengah pada scrotal.²⁸ Penis terbentuk dari tuberkel genital dan terus tumbuh selama masa gestasi.

Sedangkan pada wanita, tidak adanya hormon testosteron mengakibatkan pembengkakan pada lipatan uretral membentuk labia mayor dan labia minor. Klitoris terbentuk dari tuberkel genital.

2.2 Kelainan Determinasi dan Diferensiasi Seks

Selama perkembangan embrio, gonad akan berkembang menjadi gonad bipotensial terlebih dahulu. Apabila terjadi kelainan akan mengakibatkan kelainan perkembangan seks atau yang disebut dengan *Disorders of Sex Development* (DSD).⁴⁰ Salah satu bentuk kelainan DSD adalah disgenesis gonad (DG), yaitu testis atau ovarium gagal berkembang sempurna yang diakibatkan karena kelainan jumlah atau struktur kromosom seks, atau karena adanya mutasi gen pada saat perkembangan gonad.⁴¹

Apabila terjadi kelainan perkembangan lempeng gonad (*gonad streak*) akan menghasilkan individu yang mempunyai kariotipe 46,XY dengan disgenesis gonad sempurna (*Pure Gonadal Dysgenesis* (PGD)) yang disebut dengan *swyer syndrome*.⁴² Individu dengan PGD akan berkembang menjadi individu wanita dengan organ dalam seperti wanita normal, akan tetapi terdapat kelainan pada perkembangan alat genitalia eksterna dan kariotipnya (46,XY).⁴³ Mutasi atau delesi pada gen SRY, sekitar 15 – 20% akan mengakibatkan terjadinya DG.⁴³ Insidensi terjadinya *Swyer syndrome* adalah 1:100.000 kelahiran neonatus.⁴⁴

Sedangkan apabila terjadi kelainan perkembangan lempeng gonad pada individu dengan kromosom 46, XX akan menghasilkan individu dengan kelainan PGD. Kelainan tersebut bisa dikarenakan adanya mutasi pada PSMC3IP/HOP2 yang menghilangkan koaktivator untuk transkripsi estrogen.⁴⁵ Selain karena disgenesis gonad, kelainan determinasi dan diferensiasi seks juga diakibatkan adanya kelainan kromosom. Salah satu jenis kelainan kromosom yang sering dijumpai adalah adanya kromosom mosaik. 45, X (*Turner Syndrom*),

Turner's variants ; 45,X/46,XX 45,X/46, XY. Sindrom Turner merupakan jenis kelainan kromosom yang sering dijumpai, dengan frekuensi 1 : 2500 kelahiran neonatus dengan fenotip wanita.⁴⁶ Sindrom Turner dengan kariotipe 45, X merupakan jenis kelainan yang paling sering dijumpai.⁴⁷ Monosomi kromosom X terjadi karena adanya *nondisjunction* sebagai hasil dari kegagalan kromatid seks memisah selama proses meiosis gamet orang tua.⁴⁷

2.3 Fisiologi Menstruasi

Menstruasi adalah keluarnya darah, mukus dan debris – debris seluler yang berasal dari uterus secara periodik dengan siklus teratur. Pada wanita normal siklus menstruasi berlangsung dengan teratur.^{2,3}

Menstruasi merupakan suatu proses yang kompleks, dimana terdapat keterlibatan berbagai organ, sistem endokrin, hormon – hormon reproduksi dan enzim.⁴ Siklus menstruasi terjadi melalui 3 fase baik di ovarium maupun di uterus. Di ovarium terjadi fase folikuler, ovulasi dan luteal, sedangkan, di uterus terjadi fase proliferasi, sekretori dan menstruasi.⁴ Siklus menstruasi normal berlangsung selama 25 – 30 hari, volume darah yang dikeluarkan dalam satu siklus menstruasi sebanyak 30 ml dan cairan serosa 35 ml.^{48,49} Proses menstruasi diatur oleh sistem endokrin dan perubahan hormonal yang terjadi melalui mekanisme timbal balik (*feed back mechanism*) antara hipotalamus, pituitari, ovarium dan endometrium atau yang dikenal dengan *Hipotalamus Pituitary Ovarium Axis* (HPO).

Hipotalamus menghasilkan suatu hormon dekaeptida yaitu *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH). Terdapat tiga jenis GnRH pada manusia, yaitu

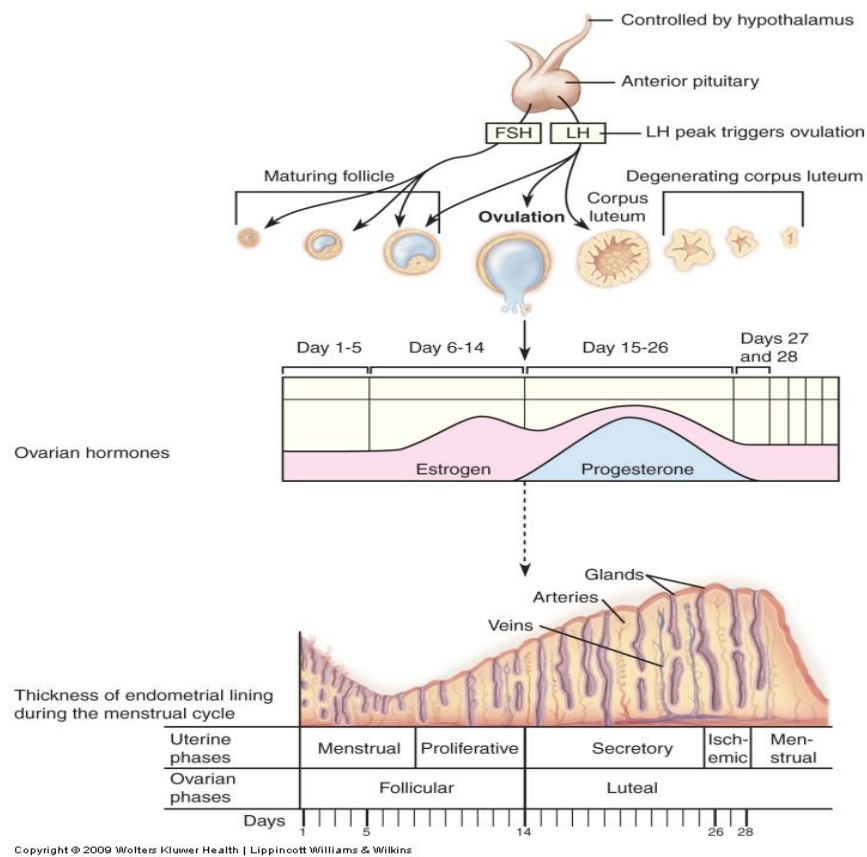
GnRH I, GnRH II, dan GnRH III.⁵⁰ Selanjutnya, GnRH akan mengirim sinyal ke hipofisis anterior untuk mensintesis hormon *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH).⁵¹

FSH dan LH yang disintesis oleh hipofisis anterior akan mempengaruhi ovarium. FSH adalah sebuah glikoprotein dimer yang terdiri dari dua subunit yaitu subunit α dan β .⁵²⁻⁵⁴ FSH yang disintesis oleh hipofisis anterior berfungsi untuk menstimulasi folikel yang berada di dalam ovarium, sehingga akan ada satu folikel dominan yang siap untuk ovulasi. FSH menginduksi pertumbuhan sel granulosa dan mengaktifasi enzim aromatase yang berfungsi mengubah androgen menjadi estrogen.⁵⁵ Sehingga sel granulosa akan menghasilkan estrogen lebih banyak. Akibat kadar estrogen yang dihasilkan oleh sel granulosa folikel, terjadi penebalan endometrium karena proliferasi sel stroma dan epitel endometrium. Kemudian terjadi penurunan kadar FSH karena produksi estrogen yang tinggi dan inhibin B yang dihasilkan oleh sel granulosa. Kadar estradiol folikel dominan yang tinggi mengakibatkan *feed back* positif ke hipofisis anterior, sehingga terjadi lonjakan LH (*LH surge*) mengakibatkan ovulasi ovum dari ovarium.⁵¹

Setelah ovum dikeluarkan dari folikel, sel granulosa dan teka interna yang tersisa menjadi sel lutein yang disebut korpus luteum. Sel granulosa yang berada di dalam korpus lutein menghasilkan hormon progesteron dan estrogen.⁵⁶ Progesteron yang dihasilkan korpus luteum mengakibatkan pembuluh darah berkelok – kelok, sitoplasma sel stroma bertambah banyak, simpanan lipid dan glikogen sangat meningkat dalam sel stroma, dan suplai darah ke endometrium meningkat sebanding dengan pembuluh darah yang semakin berkelok – kelok.⁴

Perubahan endometrium tersebut dimaksudkan untuk menghasilkan endometrium sekretorik yang mengandung suplai nutrisi pada saat terjadi implantasi ovum yang telah dibuahi.

Pada 12 hari pasca ovulasi, apabila tidak terjadi pembuahan ovum oleh sperma, korpus luteum berubah menjadi korpus albicans dan terjadi penurunan sekresi progesteron dan estrogen.⁴ Penurunan estrogen dan progesteron terutama progesteron, mengakibatkan involusi endometrium sehingga pembuluh darah yang berkelok – kelok mengalami vasospastik. Vasospasme, penurunan nutrisi ke endometrium dan hilangnya rangsangan hormonal menyebabkan endometrium mengalami nekrosis. Lapisan nekrotik pada stratum fungsional endometrium mengalami deskuamasi. Massa jaringan nekrotik yang berdeskuamasi dan darah yang berada dalam kavum uterus, ditambah dengan kontraksi dari prostaglandin mengakibatkan pengeluaran isi kavum uterus melalui vagina yang disebut menstruasi.^{4,48}



Gambar 2. Fisiologi Menstruasi⁴

Terjadinya menstruasi dikarenakan adanya mekanisme timbal balik antara hipotalamus, pituitari, ovarium dan endometrium. GnRH yang dihasilkan oleh hipotalamus akan menstimulasi sekresi LH dan FSH pada kelenjar pituitari anterior. Pada ovarium akan terjadi siklus bulanan ovarium yaitu fase folikuler, luteal dan ovulasi, yang melibatkan perubahan kadar hormon progesteron dan estrogen. Sedangkan pada endometrium terjadi siklus bulanan endometrium yaitu fase proliferaatif, fase sekretori dan fase menstrual.

2.4. Amenore Primer

2.4.1. Definisi

Amenore primer adalah tidak terjadinya menstruasi pada usia 13 tahun dengan pertumbuhan seks sekunder normal atau tidak adanya menstruasi dalam waktu lima tahun setelah pertumbuhan payudara, apabila terjadi sebelum usia 10 tahun.^{6,7}

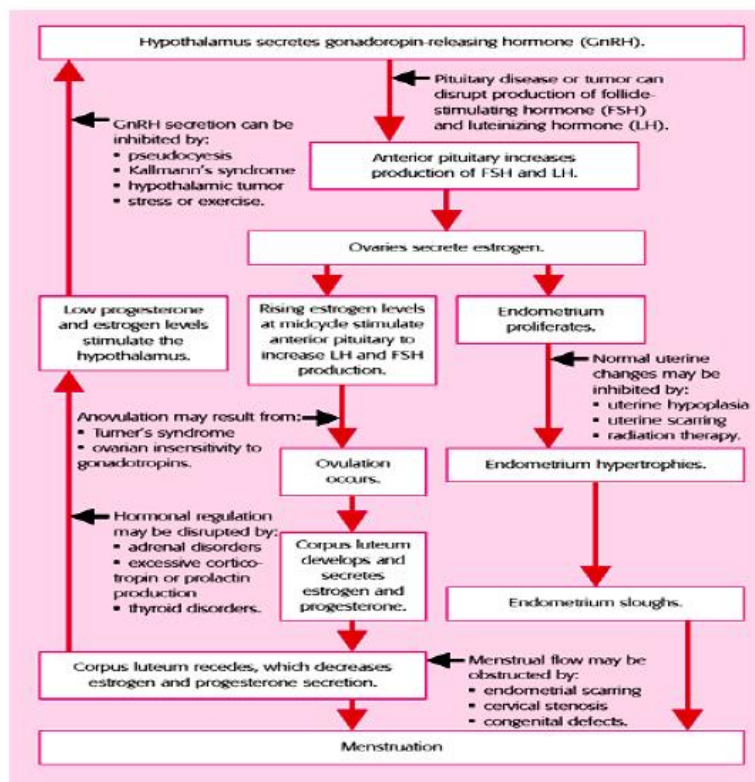
2.4.2 Insidensi

Insidensi terjadinya amenore primer di Amerika berkisar kurang dari 1%, bahkan bisa terjadi kurang dari 0,1 – 0,25% pada usia reproduktif wanita.⁹ Sedangkan insidensi terjadinya amenore primer di Semarang berkisar 11,8%.¹⁰

2.4.3 Patofisiologi

Amenore merupakan suatu gangguan yang terjadi pada siklus menstruasi normal wanita usia reproduktif.⁵⁶ Pengetahuan dasar mengenai mekanisme fisiologis terjadinya menstruasi merupakan dasar untuk melakukan evaluasi terhadap gangguan terjadinya menstruasi, yaitu amenore primer. Menstruasi merupakan suatu proses yang kompleks dimana melibatkan berbagai organ, sistem endokrin, sistem hormonal dan enzim – enzim.⁴ Proses menstruasi diatur oleh sistem endokrin dan perubahan hormonal yang terjadi melalui mekanisme timbal balik (*feed back mechanism*) antara hipotalamus, pituitari, ovarium dan endometrium atau yang dikenal dengan *Hipotalamus Pituitary Ovarium Axis* (HPO).⁵

Apabila terdapat kelainan pada sistem pengatur menstruasi yang normal, akan terjadi amenore primer. Dimana patofisiologi amenore primer ini dapat terjadi pada tingkatan – tingkatan sistem yang mengatur menstruasi. Berdasarkan kelainan pada tingkatan axis HPO, terdapat beberapa macam amenore yaitu : amenore akibat kelainan hipotalamus, pituitari, ovarium, kelainan kongenital dan kelainan struktur traktus genitalia, serta adanya defek pada enzim dan reseptornya.



Gambar 3. Patofisiologi Menstruasi⁵⁶

Apabila terjadi ketidaknormalan pada setiap tingkat yang meregulasi terjadinya menstruasi akan terjadi suatu amenore. Kelainan pada tingkat hipotalamus yang mempengaruhi terjadinya kejadian amenore antara lain adanya sindrom Kallmann, tumor hipotalamus, stress dan olahraga berlebihan. Pada pituitari, tumor pituitari dan adanya mutasi sel pada pituitari akan mengakibatkan terjadinya kejadian amenore. Selain itu, penyebab terjadinya amenore primer adalah sindrom Turner dan adanya Sindrom Insensitivitas Androgen. Penyebab lain yang dapat mengakibatkan terjadinya amenore primer adalah adanya abnormal pada saluran genitalia wanita seperti MRKH, himen imperforata dan septum transversal vagina.

2.3.4 Etiologi

Amenore primer dapat disebabkan oleh berbagai sebab, apabila penyebab terjadinya amenore primer pada individu diketahui, maka penatalaksanaan dan pengobatan yang tepat efisien dapat dilakukan. Etiologi amenore primer dapat diklasifikasikan berdasarkan letak kelainannya, meliputi :

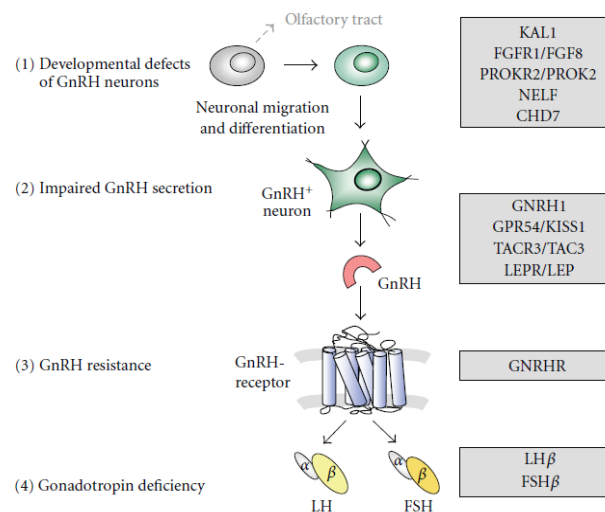
a. Kelainan pada Hipotalamus

Disfungsi hipotalamus mengakibatkan penurunan atau penghambatan sekresi GnRH yang akan berakibat pada terganggunya irama sekresi LH dan FSH dari kelenjar pituitari. Gangguan pada irama sekresi hormon tersebut akan mengakibatkan terjadinya anovulasi.

Selain dikarenakan adanya defek pada sekresi GnRH, amenore karena kelainan hipotalamus juga dapat dikarenakan adanya gangguan makan, olahraga yang berlebihan atau stress berkepanjangan yang dapat mengakibatkan terjadinya penghambatan sekresi GnRH.⁵⁶

Kelainan sekresi GnRH ditandai dengan adanya penurunan sekresi hormon gonadotropin, kadar LH yang menurun atau normal, tidak adanya *LH surge*, tidak adanya folikel yang berkembang, kadar serum estradiol yang rendah dan kadar FSH serum dalam batas normal dengan rasio FSH LH yang tinggi.⁵⁷

Kelainan pada hipotalamus penyebab terjadinya amenore primer yang tidak diketahui penyebabnya dan merupakan kelainan kongenital defisiensi GnRH biasa disebut dengan hipogonadotropik hipogonadism idiopatik (*idiopathic hypogonadotropic hypogonadism*).^{58,59} Insidensi terjadinya hipogonadotropik hipogonadism idiopatik sekitar 40%.⁵⁹ Karakteristik dari hipogonadotropik hipogonadism idiopatik adalah tidak terjadinya pubertas dan infertilitas, menyebabkan terjadinya defek sekresi GnRH dari hipotalamus atau kelainan fungsi GnRH di kelenjar pituitari.^{58,59} Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terjadinya beberapa mutasi pada gen pada penghasil GnRH maupun reseptor GnRH akan mengakibatkan terjadinya kelainan idiopatik tersebut.⁶⁰



Gambar 4. Penyebab amenore primer pada tingkat hipotalamus⁶¹

Adanya mutasi pada saat perkembangan neuron GnRH dapat mengakibatkan terjadinya amenore primer, seperti adanya mutasi pada gen KAL-1. Ketidakseimbangan sekresi dari GnRH yang mengakibatkan terjadinya amenore primer adalah adanya mutasi pada gen GNRH1, LEPR/LEP. Selain itu adanya mutasi pada reseptor GnRH juga bisa mengakibatkan terjadinya amenore primer, yaitu mutasi pada GNRHR. Sedangkan adanya defisiensi gonadotropin bisa diakibatkan karena adanya mutasi pada gen LH β dan FSH β .

Kelainan genetik lain yang merupakan penyebab terjadinya amenore primer adalah Sindrom Kallmann yang berhubungan dengan hipogonadotropik hipogonadisme dan anosmia.⁶¹ Sindrom Kallman merupakan kelainan genetik yang disebabkan oleh satu atau lebih mutasi pada gen KAL pada Xp22.3.⁶² Insidensi terjadinya diperkirakan 1 : 10.000 kelahiran neonatus laki – laki dan 1 : 50.000 pada neonatus wanita.⁶¹ Saraf olfaktorius dan sel penghasil GnRH berasal dari sistem saraf pusat yang disebut *Olfactory placode*.⁶¹ Pada keadaan normal, sel penghasil GnRH bermigrasi menuju area preoptik di daerah hipotalamus, sedangkan pada Sindrom Kallman terjadi kelainan proses migrasi dari saraf

olfaktorius dan sel penghasil GnRH. Pada wanita dengan Sindrom Kallman akan mengalami kegagalan perkembangan seks dan terjadi amenore primer.⁶¹

b. Kelainan pada Kelenjar Pituitari

Beberapa mutasi genetik yang mempengaruhi pituitari dapat menyebabkan terjadinya amenore. Disgenesis gonad merupakan salah satu faktor penyebab amenore primer. Disgenesis gonad merupakan kelainan kongenital berupa hilangnya atau tidak berkembangnya gonad selama organogenesis. Pada wanita penyebab terbanyak disgenesis gonad adalah sindrom Turner (45, X), dimana kadar gonadotropin terutama FSH tinggi pada masa kanak – kanak dan setelah usia 9 – 10 tahun.

Amenore primer terjadi pada disgenesis gonad murni 46, XX dan disgenesis gonad pada individu dengan kariotipe 46, XY.⁵⁷ Individu tersebut akan mengalami peningkatan kadar FSH karena tidak adanya folikel dalam ovarium dan terjadi penurunan *feedback* negatif FSH karena estradiol dan inhibin α dan β .⁵⁷

Selain itu, pada wanita dengan defisiensi FSH dan LH kemungkinan disebabkan adanya mutasi pada reseptor GnRH. Kelainan genetik lain yang menyebabkan amenore pada wanita adalah adanya mutasi gen FSH. Selain itu, mutasi pada PROP-1, faktor transkripsi pituitari, menyebabkan defisiensi gonadotropin, TSH, dan GH. Manifestasi klinis dapat berupa perawakan pendek, hipotiroidisme, keterlambatan pubertas, serta amenore. Amenore primer juga dapat disebabkan karena hiperprolaktinemia yang berkaitan dengan supresi GnRH

dari hipotalamus serta inhibisi LH dan FSH, menekan fungsi gonad, serta terjadi galaktore.⁶³

c. Kelainan Anatomis Uterus dan Vagina

Salah satu bentuk kelainan anatomis uterus dan vagina adalah *Mayer Rokitansky Kauster Hauser* (MRKH). MRKH adalah aplasia kongenital uterus dan 2/3 bagian atas vagina, dimana perkembangan seks sekunder normal dengan kariotipe normal, 46,XX dan amenore primer merupakan gejala utama dari MRKH.^{64,65}

Insidensi terjadinya MRKH diperkirakan 1: 4.000 – 5000 kelahiran neonatus wanita.^{64,65} MRKH merupakan penyebab amenore primer terbanyak kedua setelah disgenesis gonad.⁶⁶ Kelainan organ reproduksi pada MRKH disebabkan karena perkembangan duktus *mülleri* yang tidak lengkap. Penyebab terjadinya kelainan perkembangan duktus *mülleri* tidak diketahui etiologinya secara pasti. Manifestasi klinis dapat berupa status endokrin yang normal, uterus dan tuba falopi tidak ada atau hipoplasi, perkembangan seks sekunder yang normal, ovarium berfungsi sesuai dengan fungsinya, akan tetapi tidak mengalami menstruasi.⁶⁶

Berdasarkan keterlibatan sistem organ yang lain, MRKH diklasifikasikan menjadi 3 golongan, yaitu tipe I dimana adanya kelainan hanya terbatas pada organ reproduksi, tipe II merupakan kelainan yang berupa uterus remnan unilateral dan tuba uterina yang tidak normal. Kelainan tipe II ini mungkin berhubungan dengan penyakit ovarium, kelainan kongenital ginjal, kelainan tulang dan defek pada pendengaran. Tipe III biasa disebut dengan tipe MURCS,

yaitu hipoplasi atau aplasi utero vaginal, dan malformasi dari ginjal, tulang dan jantung.^{64,65,66}

Congenital Obstruction Outflow Defect seperti septum transvaginal dan hymen imperforate termasuk kelainan anatomis struktural yang menyebabkan nyeri siklik perut bagian bawah dan amenore. Pada pemeriksaan fisik didapatkan vagina pendek atau tertutup. Akan tetapi, berbeda dengan agenesis *mülleri*, organ pelvis pada kasus ini masih ada. Septum transversal vagina terjadi karena kegagalan kelengkapan kanalisasi dari *vaginal plate*.¹¹ Hymen menunjukkan hubungan antara bulbus sinovaginal dan sinus urogenital yang pada perkembangan fetus akan terjadi perforasi hymen.

d. Kelainan pada Reseptor dan Enzim

Defek pada reseptor dan enzim dapat mengakibatkan terjadinya amenore primer, salah satunya yaitu hiperplasi adrenal kongenital yang disebabkan oleh defisiensi *17 – alpha – hidroksilase* (CYP17).⁶⁷ Defisiensi CYP17 mengakibatkan peningkatan produksi *deoxycortisone* serta defisiensi kortisol dan hormon seks.⁶⁷

Selain itu, terdapat pula sindrom insensitivitas androgen yang disebabkan karena adanya defek pada reseptor androgen. Pasien dengan sindrom tersebut mempunyai kariotipe 46, XY dan mampu menghasilkan testosteron, akan tetapi testosteron tersebut tidak aktif, sehingga pasien mempunyai alat genitalia wanita.⁶⁸ Pada sebagian besar kasus diakibatkan oleh adanya kelainan pada *X-linked*.⁶⁹ Testis biasanya terdapat pada labia atau area inguinal. Pada sindrom ini, MIH tetap diproduksi, sehingga mengakibatkan struktur derivat duktus *mülleri* tidak terbentuk, seperti tuba falopi, uterus dan 1/3 bagian atas vagina.^{64,70}

Selain itu penyebab terjadinya amenore primer karena kelainan pada reseptor dan enzim adalah adanya resistensi gonadotropin dan defisiensi aromatase yang berfungsi untuk mengubah androgen menjadi estrogen.^{71,72} Defisiensi aromatase terjadi karena adanya mutasi pada CYP19A1.⁷³

2.5 Analisis Sitogenetika

Analisis sitogenetika adalah suatu pemeriksaan dari bahan genetik pada tingkat sel (kromosom) yang dapat diperiksa dengan mikroskop cahaya. Pemeriksaan sitogenetika merupakan faktor utama dalam evaluasi diagnosis pasien amenore primer. Pemeriksaan ini berperan dalam deteksi kelainan bahan genetik yang dibawa (baik yang diturunkan maupun yang terjadi secara *de novo*) dan kelainan yang didapat (*acquired*) akibat proses dalam tubuh, seperti keganasan.⁷⁴ Deteksi kelainan kromosom pada penyakit genetik akan membantu dalam pencegahan, penanganan, intervensi dan program pendidikan, pemberian konseling genetik.⁷⁵

Indikasi pemeriksaan kromosom pada pasien tersebut adalah adanya amenore primer, keterlambatan perkembangan dan adanya riwayat keluarga yang mengalami kelainan kromosom serta masalah fertilitas.⁷⁵ Kariotyping merupakan standart diagnosis untuk identifikasi aberasi kromosom pada amenore primer.⁷⁵

Terdapat beberapa jenis pemeriksaan pada pemeriksaan sitogenetika, yaitu pemeriksaan sitogenetika pada penyakit/gangguan genetik, sitogenetika pada keganasan darah dan sitogenetika untuk diagnosis prenatal.⁷⁴ Pemeriksaan sitogenetika pada penyakit/gangguan genetik digunakan untuk mendeteksi adanya

kelainan jumlah kromosom pada sel limfosit dari darah tepi, sampel yang digunakan adalah darah tepi vena berheparin.⁷⁴

Sedangkan pemeriksaan sitogenetika pada keganasan darah bertujuan untuk mendeteksi adanya kelainan struktur maupun jumlah kromosom pada sel leukosit dari sumsum tulang yang mempunyai indeks mitosis tinggi. Pada pemeriksaan jenis ini, sampel darah tidak diperbolehkan menggunakan PHA karena akan mengakibatkan false positif yang sangat besar. Jenis kelainan kromosom pada keganasan sel darah sulit dideteksi dengan darah tepi, karena jumlah metafase yang sedikit.⁷⁴

Pemeriksaan sitogenetika untuk diagnosis prenatal digunakan untuk mendiagnosa keadaan bayi di dalam kandungan ibu hamil yang berusia 8 – 12 minggu. Pengambilan sampel pada pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan biopsi plasenta (*vili chorialis*) melalui servik uteri yang dipandu dengan USG pada usia kehamilan > 8 minggu. Selain itu pengambilan sampel juga dapat dilakukan dengan amniocentesis yang dilakukan pada usia kehamilan 12 – 16 minggu.⁷⁴

Dewasa ini, penelitian mengenai diagnosis prenatal untuk mendiagnosa kelainan kromosom telah dikembangkan karena pemeriksaan sitogenetika dengan biopsi plasenta dan amniocentesis mempunyai resiko tinggi.⁷⁶ Saat ini telah dikembangkan pemeriksaan *Non Invasive Prenatal Detection* (NIPD) yang menggunakan sampel darah perifer ibu untuk mendeteksi adanya kelainan kromosom pada fetus.⁷⁶

Pada analisis sitogenetika pasien amenore primer, dilakukan dengan menggunakan sampel darah perifer pasien. Mengambil darah vena sebanyak 3 ml.

Kemudian meneteskan 10 tetes darah vena atau 7 tetes “*buffy coat*” kedalam 2 tube yang masing – masing berisi 5 ml RPMI 1640 dan 5 ml dan mengandung 10% FBS (dimana jumlah 10% merupakan jumlah 10% dari total media yang digunakan) serta PHA-M (*phytohemagglutinin Mixture*) setelah itu diinkubasi pada suhu 37° C selama 72 – 96 jam dengan sudut kemiringan sebesar 45°. Setelah 96 jam kemudian ditambahkan 3 tetes *colcemid* pada setiap tabung, diinkubasi selama 30 menit, lalu dipusingkan selama 10 menit pada kecepatan 1000 RPM, kemudian supernatan yang terbentuk dibuang, meresuspensikan endapan (pelet) dan menambahkan larutan hipotonik hangat KCL 0,075 M. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C dalam *waterbath* selama 15 – 30 menit, lalu dipusingkan selama 10 menit pada 1000 RPM.

Kemudian supernatan yang terbentuk dibuang dan menambahkan 5 ml larutan fiksasi Carnoy’s secara pelan – pelan melalui dinding tabung dan dikocok. Larutan fiksasi ditambahkan sampai didapatkan presipitat yang jernih. Mensuspensikan residu dengan larutan *Carnoy’s* secukupnya sesuai dengan banyaknya pelet. Setelah itu menyebarkan pada gelas obyek dengan meneteskan 2 tetes suspensi pada lokasi yang berbeda.

Melakukan pengecatan preparat dengan giemsa 10% dalam larutan buffer fosfat pH 6,8 selama 1 menit. Membiarkan slide yang terbentuk selama 3 hari atau lebih, kemudian slide dicelupkan kedalam larutan *Trypsin* 0,1% yang dilarutkan dengan PBS pH 6,8 dan mencucinya 2x dengan *giemsa* 10% dalam buffer fosfat. Setelah semua proses selesai, dilakukan pengamatan hasil dibawah mikroskop.⁷⁴