

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup

Penelitian ini mencakup bidang ilmu Genetika Dasar, Obstetri Ginekologi, dan Endokrinologi.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Pusat Riset Biomedik (*Center for Biomedical Research/CEBIOR*) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang. Waktu penelitian ini dilaksanakan dalam periode 3 bulan yaitu Februari 2015 sampai April 2015 dan data pasien yang dikumpulkan dimulai dari Januari 2005 – April 2015.

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Berdasarkan tujuan yang hendak dicapai, maka desain penelitian yang digunakan adalah deskriptif prospektif dan retrospektif untuk mengetahui hasil analisis kromosom dan distribusi kelainan kromosom pasien amenore primer yang terdata di Pusat Riset Biomedik (*Center for Biomedical Research/CEBIOR*) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang sejak periode Januari 2005 – April 2015. Pada penelitian yang dilakukan sekarang, peneliti tidak melakukan intervensi terhadap objek penelitian.

4.4 Populasi dan Sampel

4.4.1 Populasi Target

Populasi target dalam penelitian ini adalah semua pasien dengan diagnosis awal amenore primer.

4.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah pasien dengan diagnosis awal amenore primer yang diperiksa di laboratorium Pusat Riset Biomedik (*Center for Biomedical Research/CEBIOR*) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang sejak periode Januari 2005 – April 2015.

4.4.3 Sampel

Sampel adalah populasi terjangkau yang memenuhi kriteria inklusi.

4.4.3.1 Kriteria Inklusi

- Pasien dengan identitas jenis kelamin/gender wanita dengan amenore primer.
- Pasien wanita yang telah memasuki *menarche* reproduktif yaitu > 13 tahun.
- Pasien amenore primer yang telah memeriksakan diri ke Pusat Penelitian Biomedik (*Center for Biomedical Research/CEBIOR*).

4.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- Pasien di bawah usia reproduktif <13 tahun.
- Pasien yang menderita penyakit metabolik kronik, seperti diabetes melitus.

4.4.4 Cara Sampling

Cara pengambilan sampel adalah jenis *non-propability sampling* dengan metode *concecutive sampling*.

4.4.5 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah semua pasien amenore primer yang memeriksakan diri ke Laboratorium Pusat Riset Biomedik FK UNDIP mulai periode Januari 2005 sampai dengan April 2015.

4.5 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
1	Amenore Primer	Amenore primer adalah tidak terjadinya menstruasi pertama kali (<i>menarche</i>) pada usia 13 tahun.		Nominal
2	Dismorfologi	Ditemukan adanya kelainan – kelainan fisik meliputi <i>hypogonadism webbed neck, shield chest, high arched palate, low hair line on the neck, low position of the ears cubitus valgus short IV dan V metacarpal</i> (seperti pada sindrom Turner), disproporsi rasio tinggi badan dengan panjang ekstremitas superior dan inferior.		Nominal
3	Derajat perkembangan genitalia eksterna menurut <i>Quigley stage</i>	<i>Quigley stage</i> adalah skala yang digunakan untuk membagi derajat perkembangan organ kelamin menjadi 7 derajat untuk menilai derajat perkembangan eksternal genitalia.		Ordinal
4	Derajat perkembangan pubertas/karakteristik seks sekunder pada wanita yang diklasifikasikan menurut <i>Tanner Stage</i>	<i>Tanner Stage</i> terbagi atas 5 derajat yang digunakan untuk menilai derajat virilisasi. Meliputi perkembangan payudara, genitalia laki – laki (penis, skrotum) dan rambut pubis.		Ordinal

5	Pemeriksaan Kromosom	Pemeriksaan kromosom yang dilakukan oleh pasien di Pusat penelitian biomedik (CEBIOR) untuk menilai ada/tidaknya kelainan kromosom pada pasien tersebut.	Nominal
---	----------------------	--	---------

4.6 Cara Pengumpulan Data

1. Mengumpulkan data – data klinik pasien dengan amenore primer yang diambil dari catatan medik Pusat Riset Biomedik FK UNDIP Semarang sejak periode Januari 2005 – April 2015.
2. Data sekunder yang didapat berupa hasil dari anamnesis, pemeriksaan klinik dan analisis sitogenetika dari pasien di Laboratorium Pusat Riset Biomedik FK UNDIP Semarang.

4.7.1 Bahan

Pada penelitian ini, bahan yang digunakan untuk pemeriksaan sitogenetika terhadap pasien dengan amenore primer adalah bahan yang telah tercantum pada lampiran. 3.

4.7.2 Alat

Pada penelitian ini, alat yang digunakan untuk pemeriksaan sitogenetika terhadap pasien dengan amenore primer adalah alat yang telah tercantum pada lampiran. 3.

4.7.3 Jenis Data

Jenis data yang digunakan adalah data sekunder yaitu usia pasien, usia ibu dismorfologi, derajat pertumbuhan genitalia eksternal, derajat pertumbuhan seks sekunder dan hasil pemeriksaan kromosom pasien.

4.7.4 Cara Kerja

1. Anamnesis

Anamnesis penting dilakukan pertama kali dalam evaluasi amenore primer dan untuk mengkonfirmasi riwayat klinis. Anamnesis penderita amenore primer dilakukan oleh dokter RSUP Dr. Kariadi, dokter perujuk pasien dan Tim Penyesuaian Kelamin CEBIOR FK UNDIP Semarang.

2. Pemeriksaan Fisik

Pemeriksaan fisik penting dilakukan dalam evaluasi amenore primer. Pemeriksaan fisik penderita amenore primer dilakukan oleh Tim Penyesuaian Kelamin Cebior Semarang. Peneliti dalam hal ini menggunakan data sekunder dari pemeriksaan tersebut.

3. Pemeriksaan Kromosom

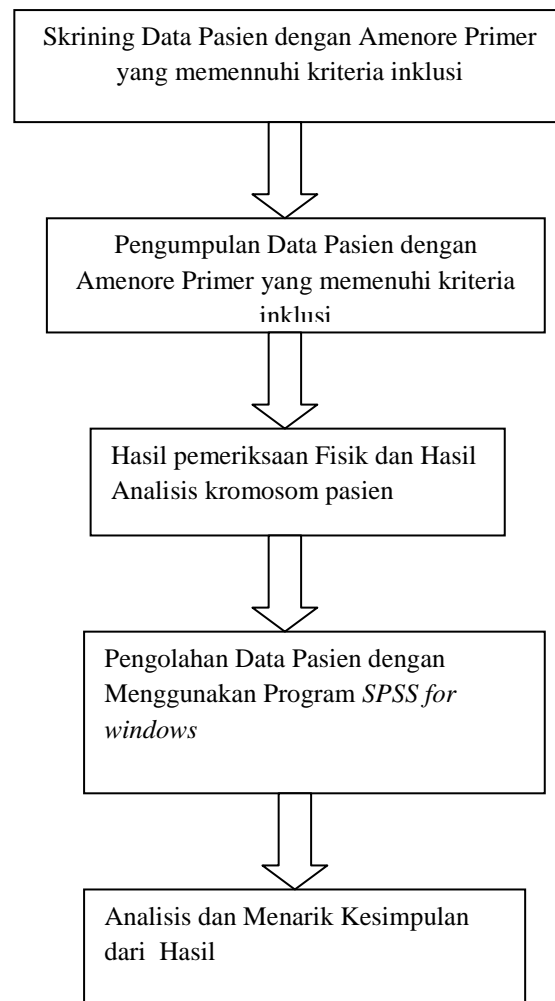
Pemeriksaan kromosom dan analisis terhadap kasus pasien amenore ini dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Biomedik FK UNDIP Semarang. Peneliti dalam hal ini menggunakan data hasil pemeriksaan sebagai data sekunder dalam melakukan analisis selanjutnya.

Analisis sitogenetika ini dilakukan dengan menggunakan sampel darah vena pasien amenore primer. Darah vena diambil 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*) dan diinkubasi pada suhu 37° 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. Membuang supernatan, meresuspensikan endapan (pelet) dan menambahkan larutan hipotonik hsgat 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. Kemudian 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.

4.8 Alur Penelitian

Gambar 7. Diagram alur penelitian



4.9 Analisis Data

Data yang terkumpul akan diproses dan diolah dengan menggunakan program *SPSS For Windows* kemudian akan disajikan dalam bentuk tabel dan diagram serta dilakukan analisis dengan cara deskriptif untuk mengetahui distribusi hasil analisis kromosom dan distribusi hasil kelainan kromosom pasien

amenore primer di Semarang. Data output dan analisisnya akan dibahas dan disimpulkan pada artikel berdasarkan referensi dari jurnal maupun sumber lainnya.

4.10 Etika Penelitian

Ethical clearance diperoleh dari KEPK Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang atau RS. Dr. Kariyadi.

Pada penelitian ini digunakan data sekunder pasien dengan amenore primer yang memeriksakan diri dengan pemeriksaan sitogenetika di Pusat Riset Biomedik FK UNDIP (CEBIOR) Semarang. Data yang digunakan berupa data tinggi badan, berat badan, usia, dismorfologi, dan hasil pemeriksaan kromosom pasien yang dilakukan di Pusat Riset Biomedik FK UNDIP (CEBIOR). Kemudian data yang didapatkan, diolah dengan program *SPSS For Windows*, dianalisis serta disimpulkan.

4.11 Jadwal Penelitian

Tabel 3. Jadwal penelitian

Kegiatan	Bulan 1				Bulan 2				Bulan 3				Bulan 4				Bulan 5			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Studi Literatur	■																			
Penyusunan Proposal	■																			
Seminar Proposal								■												
Pengumpulan Data								■	■											
Penelitian								■	■	■	■	■	■	■	■	■				
Analisis Data dan Evaluasi																	■	■	■	■
Penulisan Laporan																	■	■	■	■
Seminar Hasil																				■