

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1. Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini mencakup bidang Histologi dan Genetika.

#### **4.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2015 di *Center of Biomedical Research (CEBIOR)*.

#### **4.3. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah deskriptif prospektif dan retrospektif dengan desain penelitian *cross sectional* yang bertujuan untuk menilai angka kejadian sindrom Down berdasarkan analisis sitogenetik di laboratorium CEBIOR Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada bulan Januari 2006-April 2015.

#### **4.4. Populasi dan Sampel**

##### 4.4.1 Populasi target

Populasi target adalah pasien yang dirujuk dengan diagnosis sindrom Down.

##### 4.4.2 Populasi terjangkau

Populasi terjangkau adalah pasien yang dirujuk dengan diagnosis sindrom Down yang datang ke laboratorium CEBIOR

untuk melakukan pemeriksaan kromosom pada bulan Januari 2006-April 2015.

#### 4.4.3 Sampel

Pengambilan sampel penelitian didasarkan pada kriteria berikut ini :

4.4.3.1 Kriteria inklusi : data pasien yang dirujuk ke laboratorium CEBIOR dengan diagnosis sindrom Down untuk melakukan pemeriksaan kromosom pada bulan Januari 2006-April 2015.

4.4.3.2 Kriteria eksklusi :

1. Bukan data pasien yang dirujuk dengan diagnosis sindrom Down.
2. Pasien yang tidak diketahui usia ibunya saat melahirkan.

#### 4.4.4 Besar sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh data pasien yang dirujuk ke laboratorium CEBIOR untuk melakukan pemeriksaan kromosom pada bulan Januari 2006-April 2015 yang memenuhi kriteria penelitian.

#### 4.4.5 Cara Sampling

Cara sampling adalah dengan menggunakan total sampling semua data pasien yang dirujuk dengan diagnosis sindrom Down pada bulan Januari 2006-April 2015.

#### 4.5. Variabel Penelitian

- a. Kejadian sindrom Down
- b. Analisis sitogenetik

#### 4.6. Definisi Operasional

**Tabel 3.** Definisi operasional

No.	Variabel	Skala
1	Sindrom Down: terdapatnya jumlah kromosom yang berlebih pada kromosom 21 dalam bentuk trisomi 21 klasik, translokasi kromosom 21 dengan kromosom lainnya, dan mosaik kromosom 21.	Nominal
2	Analisis sitogenetik: untuk mendeteksi adanya kelainan struktur maupun jumlah kromosom pada sel limfosit dari darah tepi. Meliputi pengambilan bahan, penanaman, pemanenan, pengecatan, laporan, dan analisis data.	Nominal

#### 4.7. Cara Pengumpulan Data

1. Mengumpulkan data – data klinik pasien sindrom Down yang diambil dari catatan medik CEBIOR Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada bulan Januari 2006–April 2015.
2. Mengikuti dan mencatat analisis sitogenetik berdasarkan prosedur kerja yang berlaku di laboratorium CEBIOR Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

#### 4.7.1. Bahan

1. Darah vena / kapiler berheparin
2. TC 199 (medium rendah asam folat yang cocok untuk ekspresi “fragile site”)
3. MEM (medium dengan sedikit asam amino dan vitamin)
4. Bahan pemacu mitosis yaitu PHA (Phytohaemagglutinin).  
Ada 2 jenis, yaitu PHA-M (mixture) dan PHA-P (pure)
5. Fetal Bovine Serum (FBS) atau Fetal Calf Serum (FCS) sebagai suplemen
6. Colchicine 500  $\mu\text{gr}/5$  ml atau Colcemid sebagai *spindle inhibitor* yang akan menghentikan proses mitosis (*metaphase*)
7. KCL 0,075M sebagai larutan hipotonik untuk memecah sel
8. Larutan Carnoy's (3 metanol : 1 asam asetat glasial) sebagai larutan fiksasi sel
9. Catatan medik pasien dengan diagnosis sindrom Down

#### 4.7.2. Alat

1. Spuit untuk mengambil darah
2. Tabung falcon
3. Inkubator
4. Pipet
5. Sentrifuge
6. Waterbath

7. Obyek glass
8. Chamber
9. Mikroskop
10. Laminar air flow

#### 4.7.3. Jenis Data

Jenis data pada penelitian ini adalah data sekunder yang diperoleh dari catatan medik laboratorium CEBIOR.

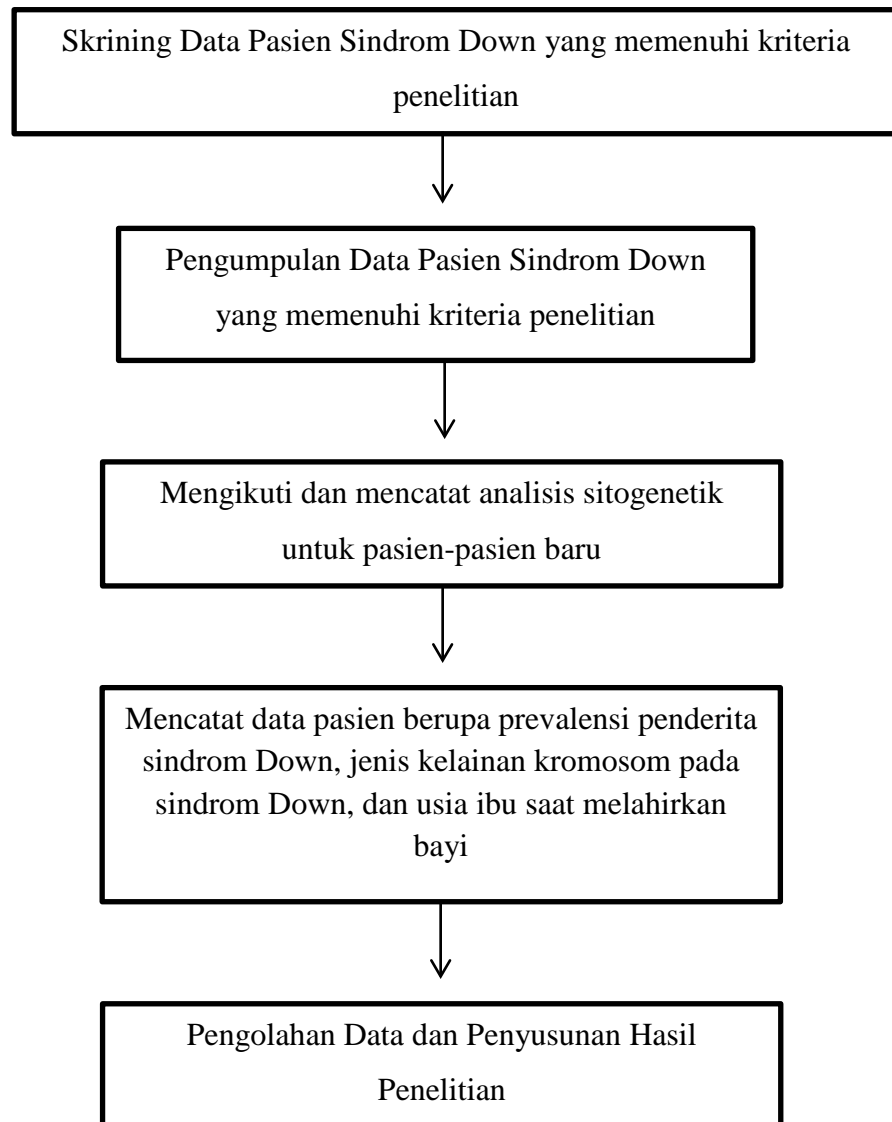
#### 4.7.4. Cara Kerja

1. Membuka file yang berisi data-data pasien yang dirujuk ke laboratorium CEBIOR untuk melakukan pemeriksaan kromosom pada bulan Januari 2006-April 2015.
2. Skrining data-data pasien yang masuk kedalam kriteria inklusi dan menyingkirkan data-data pasien yang masuk kedalam kriteria eksklusi
3. Mengumpulkan serta menulis data pasien yang masuk kedalam kriteria inklusi
4. Mengikuti dan mencatat analisis sitogenetik pada pasien dengan diagnosis sindrom Down. Analisis sitogenetik dilakukan dengan cara mengambil sampel darah vena penderita sindrom Down. Kemudian petugas akan menambahkan 5% FBS dari total media dan 100  $\mu$ l PHA-M kedalam masing-masing media. Selanjutnya petugas akan meneteskan 10 tetes darah kedalam media MEM dan TC199. Kemudian

menginkubasinya pada suhu 37° selama 72-96 jam. Pada saat pemanenan, petugas menambahkan 3 tetes colchicines atau colcemid dan menginkubasinya selama 30 menit. Lalu membuang supernatan dan menambahkan larutan hipotonik hangat KCl 0,075M, kemudian meresuspensi homogen dan menginkubasinya dalam waterbath selama 15-30 menit. Langkah selanjutnya adalah memusingkan 1000 RPM selama 10 menit kemudian memfiksasi dengan 5 ml larutan Carnoy's (metanol dan asam asetat dengan perbandingan 3:1) hingga larutan menjadi jernih. Terakhir, meneteskan 2 tetes suspensi pada lokasi yang berbeda di dua gelas objek yang berbeda. Setelah semua proses selesai dilakukan, dapat dilakukan pembacaan preparat dibawah mikroskop.

5. Melakukan pengolahan data pasien sindrom Down dengan menggunakan program *SPSS for windows*
6. Menganalisis data yang telah diolah
7. Membuat kesimpulan dari hasil analisis.

#### 4.8. Alur Penelitian



**Gambar 6.** Alur penelitian

#### 4.9. Analisis Data

Data yang terkumpul telah diproses dan diolah dengan menggunakan program *SPSS for windows* kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan diagram. Selanjutnya, telah dilakukan analisis dengan cara deskriptif untuk mengetahui prevalensi penderita sindrom Down,

jenis kelainan kromosom pada sindrom Down, dan usia ibu saat bayi lahir. Data output dan analisisnya telah dibahas dan disimpulkan pada artikel berdasarkan referensi dari jurnal maupun sumber lainnya.

#### **5.0. Etika Penelitian**

*Ethical clearance* telah diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang atau RS Dr. Kariadi pada tanggal 06 April 2015. Identitas dan nama subjek penelitian dirahasiakan dan tidak akan dipublikasikan.