



**LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH**  
**ANALISIS KROMOSOM DAN PROFIL HORMON PASIEN**  
**AMENORRHEA PRIMER DI SEMARANG**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program  
Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

**Disusun oleh:**

**DWI INTAN PUSPITASARI**

NIM: G2A 005 059

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS DIPONEGORO**  
**SEMARANG**

**2009**

## HALAMAN PENGESAHAN

Telah disetujui oleh Pembimbing dan Ketua Penguji, Laporan Hasil Penelitian Karya

Tulis ilmiah atas nama mahasiswa :

Nama : Dwi Intan Puspitasari  
NIM : G2A 005 059  
Tingkat : Program Pendidikan Sarjana (S1)  
Fakultas : Kedokteran Umum  
Universitas : Universitas Diponegoro  
Bagian : Endokrinologi dan Sitogenetika  
Judul : Analisis Kromosom dan Profil Hormon Pasien Amenorrhea  
Primer di Semarang  
Pembimbing : dr. Tri Indah Winarni, M.si.Med

Semarang, 25 Agustus 2009

Ketua Penguji,

Penguji,

dr.A.Zulfa Juniarto, Msi.Med, Sp.And  
NIP.132 163 896

Prof.dr.Sultana M H Faradz, PhD  
NIP. 19520202 197901 1 004

Pembimbing,

dr.Tri Indah Winarni, Msi.Med  
NIP.130 163 892

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	-
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
ABSTRAKSI .....	viii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Determinansi dan Differensiasi Seks .....	5
2.2 Kelainan Determinasi dan Differensiasi Seks .....	5
2.3 Amenorrhea Primer	
2.3.1. Definisi .....	7
2.3.2. Insidensi .....	7
2.3.3. Patofisiologi .....	7
2.4 Etiologi	
I. Kelainan Gonad .....	9
II. Kelainan Ekstragonadal .....	13
2.5 Evaluasi Diagnosis Amenorrhea Primer .....	18

2.6 Profil Hormon .....	
2.7 Kerangka Teori.....	24
2.8 Kerangka Konsep .....	24
BAB III METODE PENELITIAN .....	25
3.1 Ruang Lingkup Penelitian .....	25
3.2 Jenis dan Desain Penelitian .....	25
3.3 Populasi dan Sampel .....	26
3.4 Data yang dikumpulkan .....	27
3.5 Cara Pengumpulan Data .....	27
3.6 Alat dan Bahan.....	27
3.7 Cara Kerja .....	28
3.8 Analisis Data .....	28
3.9 Definisi Operasional .....	29
3.10 Alur Penelitian .....	31
BAB IV HASIL PENELITIAN .....	32
BAB V PEMBAHASAN .....	38
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....	43
UCAPAN TERIMA KASIH .....	44
DAFTAR PUSTAKA .....	45
LAMPIRAN .....	48
1. Pemeriksaan Fisik .....	48
2. Pemeriksaan Sitogenetika .....	51
3. Daftar Nilai Normal Hormon .....	55

## DAFTAR TABEL

1. Klasifikasi <i>Disorders Sexual Development</i> (DSD) .....	6
2. Diagnosis & Karyotipe pada 46 kasus dengan Amenorrhea Primer .....	35
3. Profil Hormon 28 kasus dengan Amenorrhea Primer .....	36

## DAFTAR GAMBAR

1. Bagan Patofisiologi Amenorrhea .....	8
2. Stereoidogenesis Adrenal .....	16
3. Grafik persentase Umur pasien Amenorrhea Primer .....	32
4. Grafik distribusi jumlah pasien Amenorrhea Primer pertahun di Semarang .....	33
5. Grafik distribusi Hormon pasien dengan Amenorrhea Primer .....	37
6. Quigley Stage .....	49
7. Tanner Stage .....	49

**Analisis Kromosom dan Profil Hormon Pasien dengan Amenorrhea Primer  
di Semarang**

Dwi Intan Puspitasari<sup>1</sup>, Tri Indah Winarni<sup>2</sup>

**ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Amenorrhea bukan suatu penyakit tetapi gejala dari suatu penyakit yang disebabkan oleh berbagai sebab seperti anomali differensiasi gonad, gangguan endokrin dan kelainan genetik spesifik. Amenorrhea primer merupakan salah satu indikasi dilakukan analisis kromosom untuk mengetahui abnormalitas kromosom sebagai penyebab amenorrhea primer kemudian dikonfirmasi dengan pemeriksaan hormon. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui distribusi hasil analisis kromosom dan profil hormon yang terdapat pada pasien dengan amenorrhea primer di Semarang

**Metode :** Penelitian ini merupakan studi *cross sectional* dengan rancangan deskriptif retrospektif observasional. Penelitian ini dilakukan pada pasien amenorrhea primer yang menjalani pemeriksaan klinik terbatas dan kromosom di laboratorium Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang periode Januari 2004 - Mei 2009. Selain itu, pasien juga dikonfirmasi dengan pemeriksaan hormon di laboratorium lain.

**Hasil :** Penelitian dilakukan pada 42 (11,83%) pasien dengan amenorrhea primer dari 355 kasus ambigu genitalia yang diperiksa di laboratorium Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang periode Januari 2004 - Mei 2009 terdapat 22 (53%) pasien dengan kariotipe 46,XX, 10 (23,8%) pasien dengan 46,XY, dan 10 (23,8%) pasien dengan aberasi kromosom seks baik numerik maupun struktural. Berdasarkan interpretasi data analisis hormon dari 28 pasien adalah 13 kasus (46,4%) memiliki kadar LH yang tinggi. Sedangkan untuk FSH, sekitar 13 kasus (46,4%) memiliki kadar hormon yang normal ; 11 kasus (39,2%) mengalami peningkatan. *Anti Mullerian Hormone* (AMH) juga menunjukkan peningkatan (n = 10 ; 35,7%). Progesteron, Cortisol, Dehydroepiandrosteron, Androstenedion, 17-hydroxy Progesteron, Testosteron, dan Inhibin B mayoritas menunjukkan kadar dalam batas normal.

**Kesimpulan dan Saran :** Pemeriksaan sitogenetika dan hormon sangat membantu dalam menegakkan diagnosis, meskipun dalam beberapa kasus profil hormon tidak cukup spesifik menggambarkan diagnosis suatu kelainan sehingga diperlukan pemeriksaan molekular.

**Kata kunci :** Amenorrhea primer, Pemeriksaan sitogenetika, Profil hormon

---

<sup>1</sup> Mahasiswa S1 Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

<sup>2</sup> Dosen bidang Genetik, staf Laboratorium Sitogenetika dan Pusat Penelitian Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

# Chromosomal Analysis and Hormonal Profile Patients with Primary Amenorrhea in Semarang

Dwi Intan Puspitasari<sup>1</sup>, Tri Indah Winarni<sup>2</sup>

## Abstract

**Background:** Primary amenorrhea is not a disease but a symptom that may result from several quite different causes such as gonadal anomalies, endocrinological imbalance and specific genetic disorders. Cytogenetic investigations have shown the importance of chromosomal abnormalities as a cause of amenorrhea, then confirmed with hormonal profile. The aim of this study is to know the distribution of chromosomal analysis result and hormonal profile patient with primary amenorrhea in Semarang.

**Subject and Method:** This study was a cross sectional study with descriptive observational retrospective design following limited clinical examination, chromosomal analysis and hormonal result from subject with primary amenorrhea from the cytogenetic laboratories in Semarang since January 2004 to May 2009.

**Results:** From 42 patients (11,83%) were clinically have primary amenorrhea of 355 DSD cases at CEBIOR laboratory of Medical Faculty Diponegoro University Semarang during January 2004 until May 2009, We found 22 patients (53%) have 46,XX karyotype, 10 patients (23,8 %) have 46,XY, and 10 patients (23,8%) with chromosomal sex aberrations not only numerical but also structural. Based on interpretation hormonal values of 28 patients, 13 cases (46,4%) have LH elevated, 13 cases (46,4%) and 11 cases (39,2%) showed normal and increasing FSH. *Anti Mullerian Hormone* also showed elevated (n=10 ; 35,7%) . Progesteron, Cortisol, Dehydroepiandrosteron, Androstenedion, 17-hydroxyProgesteron, Testosteron, ,dan Inhibin B mostly showed normally level.

**Conclusion:** Cytogenetic investigations and hormonal features were helpful to established the diagnose for primary amenorrhea cases although in some cases, hormonal features is not specific to explain primary amenorrhea diagnose so molecular investigations should be consider for assessment.

**Keywords :** Primary Amenorrhea, Cytogenetic investigations, Hormonal Profile

---

<sup>1</sup> Undergraduate Student, Faculty of Medicine Diponegoro University, Semarang

<sup>2</sup> Lecturer of Genetics, Staf of Molecular and Cytogenetic Unit, Medical Biotechnology Laboratory, Faculty of Medicine, Diponegoro University, Semarang



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Amenorrhea adalah tidak terjadinya menstruasi seorang wanita pada usia reproduktif. Menstruasi merupakan tanda penting terjadinya maturitas perkembangan seksual wanita. Menstruasi yang teratur membutuhkan beberapa kondisi seperti axis endokrin hipotalamus-pituitary-ovarium, endometrium yang kompeten dalam merespon stimulasi hormon steroid, serta saluran genitalia internal dan eksternal yang intak.<sup>1</sup> Amenorrhea bukan suatu penyakit tetapi gejala dari suatu penyakit yang dapat disebabkan oleh berbagai sebab seperti anomali differensiasi gonad, gangguan endokrin dan kelainan genetik yang spesifik.<sup>2</sup>

Secara umum amenorrhea dapat dibedakan menjadi primer dan sekunder. Amenorrhea primer merupakan keadaan dimana wanita yang telah mencapai usia 14 tahun tidak terlihat pertumbuhan seksual sekunder atau wanita tersebut telah mencapai usia 16 tahun dan telah terlihat pertumbuhan seksual sekunder namun menstruasi belum juga datang.<sup>3</sup> Hingga saat ini insidensi amenorrhea primer di Indonesia masih belum diketahui namun berdasarkan survey di USA terjadi sekitar < dari 1%.<sup>4</sup> Sejumlah penelitian di Amerika menyebutkan bahwa persentase frekuensi amenorrhea primer berdasarkan penyebabnya seperti abnormalitas kromosom pada agensis gonad 45%, Müllerian agensis 15% ,hymen imperforate atau septum transversal vagina 5%, ketiadaan produksi gonadotropin-releasing hormone (GnRH) oleh hypothalamus 5%, hypopituitarism 2 %.<sup>5</sup>

Sekitar 60% pasien dengan amenorrhea primer mengalami kegagalan differensiasi atau fungsi dari gonad selama awal perkembangan fetus dan neonatus seperti *Gonadal Dysgenesis*, 45/X (Sindroma Turner), *Pure Gonadal Dysgenesis*, 46/XX atau 46,XY (Sindroma Swyer), Sindroma Insensitivity Ovarium (Sindroma Savage). Anomali extragonad terhitung sekitar 40% dari kasus amenorrhea primer, seperti absensia uterus dan vagina kongenital, pseudohermaphroditisme maskulinus (46,XY DSD), pseudohermaphroditisme feminismus (46,XX DSD), serta abnormalitas fungsi hypothalamus-pituitary.<sup>6</sup>

Pemeriksaan sitogenetika mempunyai peran penting untuk menentukan abnormalitas kromosom sebagai penyebab amenorrhea primer serta mengetahui jenis kromosom kelamin penderita (genotip).<sup>7</sup> Selain itu, perlu dilakukan konfirmasi hormonal assay untuk mengetahui sumber kelainan endokrin yang terjadi. Peningkatan kadar *follicle-stimulating hormone* (FSH) atau *luteinizing hormone* (LH) mengindikasikan abnormalitas pada ovarium (hypergonadotropic hypogonadism) sedangkan normal atau rendahnya level FSH atau LH menyatakan abnormalitas pada hypothalamus (hypogonadotropic hypogonadism).<sup>3</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana distribusi hasil analisis kromosom dan profil hormon yang terdapat pada pasien dengan amenorrhea primer, sehingga diharapkan dapat bermanfaat dalam menentukan penyebab dan evaluasi pasien amenorrhea dengan tepat. Sejak tahun 1991 di Unit molekular dan sitogenetika pusat penelitian biomedik FK UNDIP Semarang telah dilakukan pemeriksaan sitogenetik terhadap lebih dari 400 kasus pasien DSD (*Disorders of Sexual Development*) termasuk diantaranya amenorrhea primer. Hal ini menunjukkan bahwa sudah cukup banyak kasus

tersebut terjadi namun masih sedikit penelitian mengenai analisis kromosom dan profil hormon amenorrhea. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengamati kasus tersebut yang terdapat di Indonesia khususnya di Semarang.

## **1.2 Perumusan Masalah**

1. Bagaimana hasil analisis / karyotipe kromosom pasien dengan amenorrhea primer ?
2. Bagaimana profil hormon pasien dengan amenorrhea primer?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui bagaimana hasil analisis kromosom dan profil hormon pasien dengan amenorrhea primer yang terdata di Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP Semarang sejak periode Januari 2004 – Mei 2009

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui distribusi hasil analisis kromosom pasien dengan amenorrhea primer yang terdata di Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP Semarang sejak periode Januari 2004 - Mei 2009
2. Untuk mengetahui distribusi profil hormon pasien dengan amenorrhea primer yang terdata di Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberi sumber informasi mengenai prevalensi pasien dengan amenorrhea primer di Indonesia khususnya Semarang
2. Sebagai dasar pertimbangan praktisi medis dalam menentukan penyebab dan evaluasi selanjutnya yang tepat kepada pasien dengan kasus amenorrhea primer
3. Sebagai masukan kepada peneliti selanjutnya mengenai studi abnormalitas kromosom dan hormon pada pasien amenorrhea primer
4. Memberi data tentang distribusi hasil analisis kromosom dan profil hormon pasien dengan amenorrhea primer

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Determinasi dan Differensiasi Seks**

Jenis kelamin seseorang dapat ditentukan berdasarkan susunan kromosom ( XX atau XY), gonad (ovarium atau testis), dan tampilan organ genitalia interna atau eksterna. Kromosom X dan Y menentukan jenis seks pada individu.<sup>8</sup> Perkembangan primordium gonad (*gonad indifferent*) menjadi ovarium dan testis ditentukan oleh ada atau tidaknya *testis-determining factor* (TDF), suatu glikoprotein yang dikode oleh gen di daerah penentu seks kromosom Y (SRY) yang terletak pada subband 11.31 kromosom Y dan berperan dalam pembentukan testis.<sup>8,9</sup> SRY diekspresikan sebelum terjadinya diferensiasi testis. SRY ini terletak pada ujung lengan pendek kromosom Y.<sup>9</sup> Pada saat gametogenesis tahap meiosis, tiap ovum berisi kromosom X tunggal dan sel sperma terdiri atas haploid kromosom X dan Y. Ketika fertilisasi, terjadi penyatuan masing-masing haploid kromosom seks sehingga terbentuklah set kromosom genetik seks (46,

XY. atau 46,XX). Pola kromosom ini menjadi permulaan kaskade perkembangan gonad yaitu testis atau ovarium. Kemudian, gonad yang sudah terbentuk menentukan pembentukan hormon seks steroid pria dan wanita, dimana hormon ini berperan dalam differensiasi perkembangan genitalia eksterna dan interna. Aksi daripada hormon seks kemudian akan mempengaruhi tampilan fenotipe .<sup>8,9</sup>

## 2.2 Kelainan pada Determinasi dan Differensiasi Seks

Abnormalitas pada determinasi dan differensiasi seksual menyebabkan infertilitas dan ambiguitas seksual.<sup>10</sup> Berdasarkan studi terakhir mengenai identifikasi abnormalitas seks, klasifikasi kelainan interseks (*intersex disorder*) diubah menjadi kelainan perkembangan seksual (*disorder of sex development/DSD*) yang dijabarkan berdasarkan kemungkinan sebab kelainan kromosom, gonad, hormon dan anatomis yang terjadi.<sup>10</sup> Interseksualitas terjadi bila berbagai macam karakteristik seks tidak terbentuk secara jelas atau kurang menonjol. Wanita (46, XX DSD) dapat menampilkan virilisasi genital akibat aksi androgen yang berlebih, sebaliknya pada pria (46, XY DSD) kemungkinan munculnya feminisasi dikarenakan defisit androgen.<sup>11</sup>

Tabel 1. Klasifikasi *Disorder Sexual Development*<sup>10</sup>

Sex chromosome DSD	46,XY DSD	46,XX DSD
(A) 45,X (Turner syndrome and variants)	(A) Disorders of gonadal (testicular) development 1. Complete gonadal dysgenesis (Swyer syndrome)	(A) Disorders of gonadal (ovarian) development 1. Ovotesticular DSD 2. Testicular DSD (eg, SRY+, dup SOX9) 3. Gonadal dysgenesis
(B) 47,XXY (Klinefelter syndrome and variants)	2. Partial gonadal dysgenesis 3. Gonadal regression 4. Ovotesticular DSD	
(C) 45,X/46,XY (mixed gonadal dysgenesis, ovotesticular DSD)	(B) Disorders in androgen synthesis or action 1. Androgen biosynthesis defect (eg, 17-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency, 5 $\alpha$ -reductase deficiency, STAR mutations) 2. Defect in androgen action (eg, CAIS, PAIS) 3. LH receptor defects (eg, Leydig cell hypoplasia, aplasia) 4. Disorders of AMH and AMH receptor (persistent müllerian duct syndrome)	(B) Androgen excess 1. Fetal (eg, 21-hydroxylase deficiency, 11-hydroxylase deficiency) 2. Fetoplacental (aromatase deficiency, POR) 3. Maternal (luteoma, exogenous, etc)
(D) 46,XX/46,XY (chimeric, ovotesticular DSD)	(C) Other (eg, severe hypospadias, cloacal extrophy)	(C) Other (eg, cloacal extrophy, vaginal atresia, MURCS, other syndromes)

Sumber : *Consensus statement on management of intersex disorders. Arch. Dis. Child*

Klasifikasi kelainan perkembangan seksual ini dapat membantu menentukan berbagai bentuk kelainan pada determinasi dan differensiasi seks berdasarkan penyebabnya, seperti *gonadal dysgenesis* akibat kelainan kromosom (45,X , 45,X/46,XY) diklasifikasikan berbeda dengan *gonadal dysgenesis* dengan kromosom normal.

## **2.3 Amenorrhea Primer**

### **2.3.1 Definisi**

Amenorrhea primer merupakan keadaan dimana wanita yang telah mencapai usia 14 tahun tidak terlihat pertumbuhan seksual sekunder (payudara dan rambut pubis) atau wanita tersebut telah mencapai usia 16 tahun dan telah terlihat pertumbuhan seksual sekunder namun menstruasi belum juga datang.<sup>3,4</sup>

### **2.3.2 Insidensi**

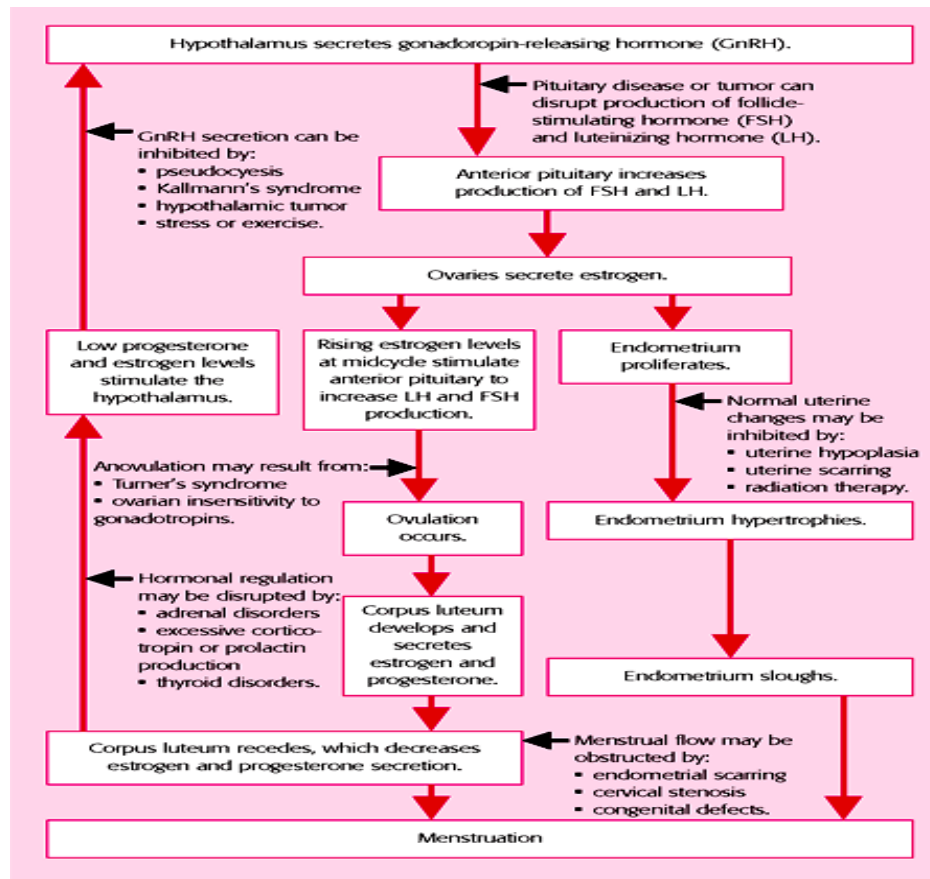
Insidensi amenorrhea primer di United States berkisar kurang dari 1%. bahkan bisa terjadi kurang dari 0,1-2,5 % pada usia reproduktif wanita. <sup>4</sup>

### **2.3.3 Patofisiologi**

Pemahaman dasar mengenai siklus menstruasi pada masa pubertas dan perubahan hormon merupakan kunci evaluasi dan penanganan terhadap gangguan menstruasi. Siklus menstruasi yang teratur dipengaruhi oleh sistem endokrin fungsional antara

hypothalamus, pituitary anterior dan ovarium yang dikenal sebagai aksis HPO (Hypothalamus-Pituitary-Ovarium) dengan regulasi hormon dan mekanisme umpan baliknya, endometrium yang kompeten dalam merespon stimulasi hormon steroid serta saluran genitalia internal dan eksternal yang sempurna. Hypothalamus yang terletak pada sistem saraf pusat menghasilkan *Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH)* kemudian di transport menuju pituitary anterior dan menstimulasi sel *gonadotroph*. Sebagai respon stimulasi, sel-sel tersebut mensekresikan hormon *Folikel-Stimulating Hormone (FSH)* , dan *luteinizing hormone (LH)*. Hormon tropik tersebut menstimulasi gonad untuk mensintesis dan mensekresi hormon seks steroid (estrogen, progesteron dan testosteron ). Hormon yang dilepas pada aksis hypothalamus-pituitary-ovarian (HPO) juga diregulasi dengan mekanisme umpan balik negatif pada gonadotroph di pituitary anterior dan inhibisi indirek pada tingkat hypothalamus. Gangguan pada aksis HPO dan traktus genitalia dapat mengakibatkan amenorrhea. Pendekatan sistematis terhadap patofisiologi amenorrhea tergantung pada level dimana disfungsi primer terjadi.<sup>4</sup>





Gambar 1. Bagan Patofisiologi Amenorrhea<sup>34</sup>

Seperti pada bagan di atas, mekanisme terjadinya amenorrhea akibat berbagai gangguan pada tingkatan seperti hypothalamus (*Kallman's syndrome*, tumor hypothalamus), pituitary (*pituitary disease/tumor*), ovarium (anovulasi akibat dysgenesis gonad; ovarian insensitivity syndrome), uterus (hypoplasia/aplasia, *scarring uteri*), obstruksi pada traktus genitalia (stenosis cerviks, congenital defect, hymen imperforata, septum vagina).

## 2.4 Etiologi

Penetapan etiologi amenorrhea diperlukan untuk penanganan yang efektif dan aman. Kelainan perkembangan gonad, *müllerian* dan *wolffian system*, sinus urogenital

saat intrauterine merupakan penyebab tersering amenorrhea primer. Pada umumnya, etiologi amenorrhea primer dapat disebabkan berdasarkan letak kelainannya :

**I. KELAINAN GONAD.** Sekitar 60% pasien dengan amenorrhea primer, disebabkan kegagalan differensiasi gonad atau ketidaksesuaian fungsi gonad selama perkembangan kehidupan awal fetus dan neonatus.<sup>6</sup> Hal ini tidak lepas dari peran kromosom X. Dua fungsional kromosom X dibutuhkan untuk pembentukan dan perkembangan ovarium secara normal. Tanpa adanya 2 kromosom X dalam tiap sel (seperti pada sindroma Turner), ovarium akan mengalami involusi dan membentuk jaringan ikat fibrous (*streak*).

12

#### **I.A. Gonadal Dysgenesis (Turner's Syndrome).**

*Turner syndrome* (TS) merupakan salah satu kelainan kromosom pada wanita dengan kehilangan satu kromosom X (monosomi X). Kelainan khas yang terdapat pada *Turner syndrome* salah satunya adalah gonadal dysgenesis. Gonadal dysgenesis akibat ketiadaan sel germ dimana ovarium diganti dengan jaringan ikat fibrous. Gonadal dysgenesis menandakan adanya gangguan dalam differensiasi gonad fetus. Insidensi berkisar 1 dari 2700 neonatus dengan fenotip wanita. Spektrum karyotipe kromosom seks mulai dari 45,X (*Classic Turner Syndrom*) ; 45,X/46,XX (*Turner's variants*) dan 45,X/46,XY (Mixed Gonadal Dysgenesis) seringkali ditemukan pada pasien ini.<sup>13</sup> 5 – 15 % Turner syndrome memiliki duplikasi (isochromosom) pada lengan panjang kromosom X [46,X,i(Xq)], Ring-46, X,r (X), Delesi-46,X,del(Xp).<sup>9</sup> Perawakan pendek (< 150 cm) merupakan tanda temuan klinis yang khas. Anomali lainnya seperti *webbed neck, shield chest, high arched palate, low hairline on the neck, low position of the ears, cubitus valgus, short IV and V metacarpal*, malformasi kardiovaskular dan ginjal.

Skrining pada semua pasien dengan gonadal dysgenesis penting dilakukan dikarenakan kemungkinan adanya komponen kromosom Y dan resiko degenerasi maligna. Penggunaan teknik molecular sitogenetika seperti FISH dapat mengidentifikasi struktur kromosom Y selain itu pemeriksaan imunologi terhadap H-Y antigen membantu mengetahui resiko tumor gonad. Wanita dengan keadaan tersebut memiliki peningkatan level FSH karena ketiadaan folikel ovarium dan reduksi mekanisme feedback negative pada FSH dari estradiol dan inhibin.<sup>14</sup> Sebagian besar kasus *Turner syndrome* tidak diwariskan. Abnormalitas kromosom (monosomy X) ini terjadi secara random sejak proses fertilisasi, hal ini diduga karena *nondisjunction* kromosom saat pembelahan meiosis sel maternal. Sehingga menghasilkan zigot dengan kombinasi yang abnormal. *Mosaic Turner syndrome* juga tidak diwariskan, terjadi secara random selama pembelahan sel pada awal perkembangan fetus.<sup>9</sup>

### ***I.B. Pure Gonadal Dysgenesis***

**46, XX gonadal dysgenesis** merupakan salah satu penyebab hypogonadism pada wanita dimana tidak berfungsinya ovarium untuk menghasilkan hormon yang dapat menginduksi perkembangan pubertas meskipun genotip seperti wanita normal yaitu 46,XX. *46,XX gonadal dysgenesis* dapat sporadik atau pun familial. *Familial XX gonadal dysgenesis* diturunkan secara *autosomal resesive*. Lokasi kelainan terletak pada lengan pendek kromosom 2, terdapat mutasi gen pada reseptor FSH. *Sporadic XX gonadal dysgenesis* terkait dengan trisomi 13 dan trisomi 18, karena kemungkinan keberadaan gen ovarium yang berlokasi pada kromosom 13 dan 18. Fenotip pada wanita ini ditandai dengan *normal stature*, *sexual infantilism*, *bilateral streak gonad*, amenorrhea, dan peningkatan konsentrasi FSH dan LH plasma.<sup>15</sup>

### **I.C. XY Gonadal Dysgenesis (Swyer's Syndrome).**

Terdapat pada seseorang yang memiliki komponen kromosom 46, XY, tetapi secara fenotip adalah wanita dengan genitalia eksterna dan interna seperti wanita normal serta *streak ovaries*. Peran gen SRVX (*Sex Reversing Locus*) pada duplikasi segmen lengan pendek kromosom X (Xp21.2-p22.11) bertanggung jawab terhadap kasus XY sex reversal dengan karyotipe 46, XY. Hal ini memblokir differensiasi *gonad indifferent* meskipun dengan keberadaan kromosom Y. Namun, keberadaan kromosom Y ini memiliki resiko degenerasi maligna yang tinggi, maka seseorang dengan XY kromosom dengan *gonadal dysgenesis* sudah seharusnya dilakukan profilaksis eksisi gonad.<sup>16</sup>

### **I.D. Mixed Gonadal Dysgenesis**

*Mixed gonadal dysgenesis* merupakan suatu kondisi berupa ketidakseimbangan perkembangan gonad akibat ketidaksesuaian differensiasi seks. Kelainan yang ditandai dengan adanya sel germ pada tumor atau testis pada satu sisi tetapi sisi lain hanya berupa *streak*. Karena perkembangan gonad yang tidak simetris ini maka perkembangan duktus wolffii dan mulleri juga mengalami hal yang sama. Biasanya ditemukan kromosom mosaik dengan 45,X/46,XY. *Mixed gonadal dysgenesis* dapat diinterpretasikan sebagai variasi dari *Turner syndrome*. Ekspresi fenotip pada penderita ini berupa ambiguous genitalia, intersex, laki-laki atau wanita tergantung pada pola mosaicism yang muncul. Karena keberadaan jaringan disgenesis gonad dan kromosom Y maka resiko tinggi terkena gonadoblastoma, oleh karena itu diindikasikan pengangkatan gonad.<sup>17</sup>

### ***I.E. Ovarian Insensitivity Syndrome (Savage's Syndrome).***

Pasien dengan *ovarian insensitivity syndrome* memiliki kegagalan fungsional ovarium, hal ini diperkirakan karena defek reseptor gonadotropin membran sel ovarium atau defek reseptor protein ovarium yang tidak berespon terhadap stimulus gonadotropik akibat proses autoimun. Sindroma resistensi ovarium dapat menjadi tahap awal kegagalan ovarium. Secara laboratorik dijumpai peningkatan kadar FSH, LH, dan kadar estrogen yang rendah (FSH >30 mIU/ml, estrogen , 30 pg/ml).<sup>6</sup>

### ***I.F. Premature Ovarian Failure (POF)***

*Premature ovarian failure* terjadi akibat defek ovarium primer yang ditandai dengan ketiadaan *menarche* (amenorrhea primer) atau suatu penipisan jumlah folikel ovarium sebelum waktunya yang terjadi pada wanita dibawah usia 40 tahun (amenorrhea sekunder/menopause dini). 10%-28% POF dapat mengakibatkan amenorrhea primer sedangkan 4-18% pada amenorrhea sekunder. Jika kehilangan folikel ini berlangsung cepat sebelum masa puber, maka dapat mengakibatkan amenorrhea primer dan perkembangan seksual sekunder.<sup>18,35</sup> Insidensi POF pada wanita <40 tahun 1:100, pada umur 30 tahun sekitar 1:1000, <20 tahun 1:10.000. Etiologi dari POF bermacam-macam, salah satunya kelainan genetik pada kromosom X yang menyebabkan ovarian disgenesis, delesi pada lokus gen POF Xq21.3-Xq27, translokasi seimbang pada Xq13.3-q21.1. Regio kritis pada kromosom X (gen POF1) yang berada antara Xq13 sampai Xq26 serta (gen POF2) Xq13.3-q21.1 telah diidentifikasi sebagai gen yang bertanggung jawab terhadap perkembangan fungsi normal ovarium. POF ditandai dengan rendahnya kadar *gonadal hormones* (estrogens and inhibins) dan tingginya kadar gonadotropins (LH and FSH)/(hypergonadotropic amenorrhea).<sup>35</sup>

**II. KELAINAN EXTRAGONADAL.** Anomali extragonad terhitung sekitar 40% dari kasus amenorrhea primer. Gonad pada pasien ini biasanya masih normal dan berfungsi.

### **II. A. Kelainan Uterus dan Vagina kongenital (Anatomis)**

*Müllerian agenesis* (Sindroma Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser) merupakan penyebab kedua amenorrhea primer setelah *Turner's syndrome*. Sindroma *Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser* ) merupakan defek yang kerap sekali terjadi dengan frekuensi kelahiran 1 dari 4000 wanita. Sindroma ini disebabkan karena defek perkembangan duktus mulleri bagian bawah yang terjadi pada fetus sekitar minggu 12-14 . Jika uterus dan vagina tidak terbentuk, maka keluhan utamanya adalah amenorrhea primer sementara fungsi ovarium normal, perkembangan fisik dan penampilan terlihat normal. Individu dengan memiliki perkembangan ovarium, fungsi endokrin, dan eksternal genitalia yang normal. Namun pada pemeriksaan fisik didapatkan aplasia uterus dan 2/3 proksimal vagina. Individu ini juga memiliki karyotype genotipe yang normal yaitu 46,XX.<sup>19</sup> Mutasi gen WNT4 diduga dapat menyebabkan *MRKH syndrome*. Gen WNT4 ini berperan terhadap regulasi pembentukan duktus mulleri dan mengontrol steroidogenesis pada ovarium.<sup>20</sup>

*Congenital Obstruction Outflow Defect* seperti septum transvaginal dan hymen imperforate termasuk kelainan struktural anatomis yang khas menyebabkan nyeri siklik perut bagian bawah dan amenorrhea. Pada pemeriksaan fisik didapatkan vagina yang pendek atau tertutup. Akan tetapi, berbeda dengan agenesis mülleri, organ pelvis pada kasus ini masih ada. Septum transvaginal terjadi karena kegagalan kanalisasi lengkap dari

*vaginal plate*. Hymen menunjukkan hubungan antara bulbus sinovaginal dan sinus urogenital yang pada perkembangan fetus akan terjadi perforasi hymen.<sup>21</sup>

## **II. B. Male Pseudohermaphroditism/ 46,XY DSD.**

Pseudohermaphroditisme akibat ketidaksesuaian maskulinisasi sinus urogenital dan genitalia eksterna, kemungkinan disebabkan oleh defisiensi enzimatik dalam gonad atau steroidogenesis adrenal. Ketidaksempurnaan maskulinisasi dari sinus urogenital dan genitalia eksterna meningkatkan *incomplete male pseudohermaphroditism*, yang memberi tampilan klinik berupa amenorrhea primer. Penyebab utama pada kondisi ini adalah *Androgen Insensitivity Syndrome* (AIS) seperti CAIS dan PAIS, *Inborn error of testosterone biosynthesis* seperti *5 $\alpha$ -reductase deficiency*.<sup>6</sup>

Pada Androgen Insensitivity Syndrome (AIS)/sindrom resistensi androgen atau *Testicular Feminization Syndrome* disebabkan tidak atau kurang tanggapnya reseptor androgen atau sel target terhadap rangsangan testosteron dan dehidrotestosteron (DHT). AIS dapat terjadi dalam bentuk complete (CAIS) atau incomplete / partial (PAIS). Penyakit ini diturunkan secara X-linked (melalui jalur ibu) dengan kariotip penderita 46,XY. Kelainan molekuler yang terbanyak pada AIS adalah terdapat mutasi satu basa pada AR gen (lokasinya pada kromosom Xq11-12) yaitu perubahan asam amino arginin (CGC) menjadi histidine (CAC) pada gen AR (androgen receptor). Diagnosis genetik dini pada AIS sangat penting untuk menentukan jenis kelamin penderita dan penanganan agar tidak terjadi problem sosial berikutnya. Analisis kromosom hanya untuk menentukan jenis kelaminnya, diagnosis tepat harus secara molekuler. Ciri-ciri kelainan ini seperti genitalia eksterna wanita normal, *blind vaginal canal*, ketiadaan uterus dan rambut pubis serta aksila, perkembangan payudara dengan

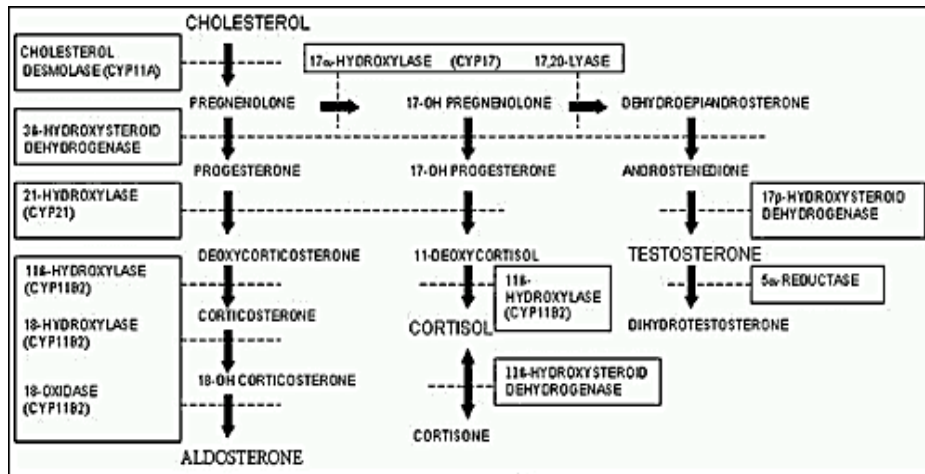
*immature nipples* serta hipopigmentasi areolae. Seseorang dengan *testicular feminization* terdapat peningkatan atau normal serum gonadotropin dan level testosteron pria dalam batas normal, tetapi karena defek reseptor sitosol testosteron akibat mutasi pada reseptor androgen maka testosteron secara biologis menjadi ineffective dan terjadi konversi perifer testosteron menjadi estradiol. Biasanya pasien datang ke dokter karena amenorrhea primer atau infertilitas.<sup>22</sup>

Pasien dengan 46, XY karyotipe dengan *ambiguous genitalia* atau tampilan wanita dapat disebabkan karena defisiensi enzim *5 $\alpha$ -reductase*. Untuk menimbulkan virilisasi, testosteron dikonversi menjadi dihydrotestosterone (DHT) oleh enzim 5- $\alpha$ -reductase, dan reseptor androgen harus fungsional. Enzim ini dibutuhkan untuk maskulinisasi eksternal genitalia selama kehidupan intrauterine. *5 $\alpha$ -Reductase deficiency* dapat di diagnosa setelah pubertas dengan pengukuran konsentrasi testosteron dan *5 $\alpha$ -dihydrotestosterone (5 $\alpha$ -DHT)* dalam serum sampel.<sup>4</sup>

### **II. C. Female Pseudohermaphroditism/46,XX DSD.**

Congenital Adrenal Hyperplasia merupakan sekelompok kelainan yang diturunkan secara autosomal resesif yang mengakibatkan gangguan pada proses steroidogenesis di kelenjar adrenal berupa defisiensi enzim yang dibutuhkan untuk merubah kolesterol menjadi kortisol, aldosteron, dan androgen.<sup>24</sup>





Gambar 2. Stereoidogenesis Adrenal<sup>24</sup>

Pada gambar diatas, CAH dapat disebabkan karena adanya gangguan pada jalur mekanisme pembentukan steroidogenesis terutama pada enzim 21-hidroksilase (21-OH), 11-hidroksilase (11 $\beta$ -OH), 3 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenase (3 $\beta$ -HSD), atau pada defisiensi *Steroidogenic Acute Regulatory* (StAR) protein. Defisiensi enzim ini mungkin disebabkan oleh delesi, konversi atau mutasi noktah (point mutation) gen ini.<sup>24</sup>

Pasien dengan kelainan ini dapat mengalami amenorrhea primer dengan genotipe wanita 46,XX. Peningkatan androgen adrenocortical akan memvirilisasi genitalia externa. Tingginya level testosteron dalam darah dapat memperbesar *phallus*, menutup *introitus vagina* secara komplet maupun parsial, menutup saluran uretra, batang maupun ujung dari *phallus* terlihat seperti milik laki-laki. Testosteron dapat membuat kulit dari labia menjadi tipis dan memiliki ruggae seperti pada *scrotum*, tapi tidak terdapat gonad yang dapat di palpasi, yaitu testis di dalamnya.<sup>25</sup>

Defisiensi aromatase termasuk kelainan yang jarang terjadi. Aromatase mengkatalisa konversi androgen menjadi estrogen. Ketika sintesis estrogen tidak dapat terjadi maka menghasilkan peningkatan level testosteron dan virilisasi pada wanita.<sup>4</sup>

#### II.D. Fungsi abnormal hypothalamus-pituitary.

Lesi sistem saraf pusat dan pituitary pada *preadolescent* dapat menyebabkan amenorrhea primer. Kegagalan pituitary untuk mensekresi sejumlah gonadotropin mengakibatkan kegagalan perkembangan folikular dan maturasi, kekurangan steroid gonad, dan keterlambatan perkembangan serta amenorrhea. Kegagalan ini terjadi karena stimulasi inadekuat hypothalamus atau kelainan pituitary, biasanya kelainan ini terkait dengan rendahnya level gonadotropin atau yang disebut dengan *hypogonadotropic hypogonadism*.<sup>6</sup>

***i. Hypothalamic amenorrhea***

Hypothalamus merupakan sumber dari GnRH, yang secara langsung menstimulasi sintesis dan sekresi pituitary gonadotropik. Disfungsi pada level ini menyebabkan *hyponadotropic hypogonadism or eugonadotropic hypogonadism*.<sup>22</sup> Disfungsi hypothalamus mengakibatkan penurunan sekresi GnRH, yang mempengaruhi pelepasan secara pulsatil LH dan FSH sehingga mengakibatkan anovulasi. *Hypothalamic Amenorrhea* ditandai dengan sekresi GnRH abnormal dari hypothalamus, menurunnya pulsasi gonadotropin, konsentrasi FSH/LH yang rendah atau normal, perkembangan folikel yang abnormal dan rendahnya serum estradiol. Pasien datang dengan keluhan amenorrhea dan perkembangan seksual sekunder yang tidak sempurna baik pada wanita maupun pria karena rendahnya steroid seks (estradiol pada wanita, testosterone pada pria). Mereka memiliki tinggi yang normal dengan *eunuchoidal body habitus*. Karena kelenjar adrenal tidak terpengaruh oleh ketiadaan GnRH begitupula dengan distribusi rambut tubuh.<sup>4</sup> GnRH defisiensi yang terjadi disertai anosmia disebut dengan *Kallman's syndrome* (olfactogenital dysplasia) berasal dari sebutan *Kal-1* gene. *Kal-1* gene berlokasi di regio pseudo autosomal lengan pendek kromosom X. *Kallman syndrome*

berhubungan dengan *facial midline defect*, *renal agenesis*, dan *neurologic deficiency*. Sebagian besar merupakan jenis kelainan *X-linked recessive disorder* sehingga banyak terjadi pada pria. Pada Wanita, mutasi spesifik gen pada *Kal-1* gene dengan hypogonadotropic hypogonadism belum dapat teridentifikasi, diduga kemungkinan terdapat mutasi genetik lain yang menyebabkan kelainan ini.<sup>26</sup>

## ii. *Pituitary amenorrhea*

Beberapa mutasi genetik yang mempengaruhi pituitary dapat menyebabkan amenorrhea. Manifestasi klinik dapat berupa keterlambatan pubertas, hipoestrogenik, dan infertilitas. Wanita dengan defisiensi FSH dan LH kemungkinan diakibatkan oleh mutasi gen reseptor GnRH. Kelainan genetik lainnya yang terkait dengan amenorrhea pada wanita misalnya, mutasi gen FSH. Kelainan ini termasuk kedalam autosomal resesif dan menyebabkan rendahnya serum FSH dan estradiol dengan tampilan klinis berupa delayed puberty dan amenorrhea.<sup>27</sup> Mutasi pada PROP-1, faktor transkripsi pituitary, menyebabkan defisiensi gonadotropin, TSH, PRL, dan GH. Pasien ini tampil dengan perawakan pendek, hipotiroidisme, keterlambatan pubertas serta amenorrhea. Amenorrhea primer juga disebabkan karena hiperprolaktinemia yang terkait dengan supresi GnRH dari hypothalamus dan inhibisi LH dan FSH, menekan fungsi gonad serta galaktore.<sup>4</sup>

## 2.5 Evaluasi Diagnosis Amenorrhea Primer

Pemeriksaan sitogenetika merupakan faktor utama dalam evaluasi diagnosis pasien amenorrhea primer.<sup>2</sup> Pemeriksaan ini termasuk kedalam tahap *genotype sexing*

untuk menentukan kromosom kelamin penderita (genotip). Sebagaimana diketahui bahwa genotip penderita merupakan salah satu hal yang harus dipertimbangkan selain faktor fenotip. Oleh karena itu perlu pemeriksaan fisik sebagai *initial assessment*. Pemeriksaan fisik ini meliputi pemeriksaan berat badan, tinggi badan, *dysmorphology*, pertumbuhan payudara, pertumbuhan rambut pubis dan ketiak, pemeriksaan genitalia eksterna. Pemeriksaan genitalia eksterna ini meliputi lokasi dan teraba/tidaknya gonad, pembesaran klitoris, lokasi muara urethra, adanya satu atau dua orificium eksterna pada perineum (introitus vagina), ada/tidaknya labia mayora dan minora, adanya fusi labia, ada/hiperpigmentasi. Terdapat beberapa sistem penentuan derajat hipovirilisasi dan virilisasi pada penderita *disorder of sex development (DSD)*. *Quigley stage*, dipakai untuk menilai derajat hipovirilisasi pada individu 46, XY DSD (dulu disebut male pseudohermaprodite) misalnya pada kasus *Androgen Insensitivity Syndrome*. Sedangkan, *Prader Stage* digunakan untuk menilai derajat virilisasi pada kasus 46, XX DSD (dulu disebut female pseudohermaphrodite) misalnya, pada kasus *Congenital Adrenal Hyperplasia*.<sup>28</sup>

## **2.6 Profil Hormon**

Hormon merupakan suatu senyawa kimia dari sel yang mempunyai aksi biologis terhadap sel target. Hormon dihasilkan oleh kelenjar endokrin seperti insulin, kortisol, gonadotrophin, hati seperti *insulin-like growth factor-I* dan jaringan lemak (leptin). Berdasarkan struktur kimia, hormon dapat diklasifikasikan menjadi hormon *peptide*, steroid, dan derivat asam amino/ amine. Berdasarkan lokasi reseptor, hormon

peptide dan amine terikat pada reseptor di permukaan sel, sedangkan hormon steroid terikat pada reseptor intraselular (*cytosol*).<sup>24</sup>

Hormon yang terkait dengan fisiologis reproduksi wanita adalah hormon yang diproduksi sepanjang aksis HPO (Hypothalamus-Hypofisis-Ovarium). Hormon yang diproduksi di hypothalamus yang berlokasi pada area preoptik hypothalamus anterior adalah GnRH, suatu decapeptida yang khusus menstimulasi pelepasan FSH dan LH . Hormon GNRH ini dilepaskan dari ujung serabut saraf hypothalamus di sekitar pembuluh darah kapiler pada system hypothalamus-hipofisis di dalam tangkai hipofisis dan mencapai lobus anterior lewat sistem portal khusus yang menghubungkan hypothalamus dengan lobus anterior. Hormon hypothalamus ini dilepas secara pulsasi.<sup>29</sup>

FSH dan LH merupakan suatu glikoprotein gonadotropin yang di produksi di hipofisis anterior. Hormon ini berikatan dengan reseptor pada ovarium untuk meregulasi proses gametogenesis dan steroidogenesis dalam kelenjar gonad. Pada wanita, fungsi FSH adalah untuk merangsang perkembangan folikel ovarium dan membantu meningkatkan sekresi estrogen. LH juga menstimulasi produksi estrogen dan progesteron. Pada fase siklus mid-menstrual, LH bertanggung jawab terhadap ovulasi dan melanjutkan kepada stimulasi korpus luteum untuk memproduksi progesteron dengan meningkatkan konversi kolesterol menjadi pregnenolon. Level normal serum LH dan FSH bervariasi pada tiap umur individu. Pada masa sebelum puber, hormon ini kadarnya rendah dan pada postmenopause meningkat. FSH dan LH selama siklus menstruasi mulai meningkat selama fase folikular dan LH memuncak pada midcycle untuk menginisiasi ovulasi. FSH

mulai menurun setelah akhir fase folikuler sampai midcycle. Baik FSH dan LH menurun setelah ovulasi.<sup>29</sup>

Hormon steroid pada wanita berasal dari kolesterol dan disintesis di korteks adrenal (androstenedione dan DHEA) , ovarium (estrogen, progesteron dan testosteron), dan konversi perifer androstenedione dan DHEA menjadi testosteron. Gonad khususnya ovarium memproduksi hormon steroid estrogen dan progesteron. Hormon-hormon ini disekresikan oleh sel granulosa dan sel teka interna folikel ovarium, korpus luteum, dan plasenta. Jalur biosintesisnya melibatkan pembentukannya dari androgen. Estrogen dibentuk melalui aromatisasi androstenedion di dalam sirkulasi. *Aromatase* (CYP 19) adalah enzim yang mengkatalisa perubahan testosterone menjadi estradiol. Sel-sel teka interna memiliki banyak reseptor LH dan LH bekerja meningkatkan perubahan kolesterol menjadi androstenedion. Sebagian Androstenedion diubah menjadi estradiol yang masuk kedalam sirkulasi. Sel teka interna ini juga memberikan androstenedion pada sel granulose. Sel granulosa membuat estrogen bila mendapat androgen. Estradiol yang terbentuk pada sel granulosa akan disekresikan ke dalam cairan folikel. Sel granulosa memiliki banyak reseptor FSH dan FSH meningkatkan sekresi estradiol dari sel granulose.<sup>30</sup>

Sebagian besar testosterone pada wanita berasal dari konversi perifer androstenedione dengan 17-hydroxysteroid dehydrogenase. 30–40% testosteron ini disekresi langsung kedalam darah. Konversi testosterone menjadi dihydrotestoteron di jaringan perifer terbatas jumlahnya karena level SHBG (*seks hormone binding globulin*) pada wanita lebih tinggi daripada laki-laki, sehingga testosteron banyak dikonversi

menjadi estrogen dengan *aromatase* dan hal ini yang dapat melindungi wanita terhadap virilisasi karena DHT.<sup>31</sup>

Jika pada riwayat klinis dan pemeriksaan fisik tidak dapat menggambarkan mekanisme patofisiologi amenorrhea, maka pemeriksaan level serum hormon seperti FSH/LH rutin dilakukan pada evaluasi inisial kasus amenorrhea.<sup>4</sup> *Gonadotropins (LH & FSH)*. Pengukuran level serum ini sering dilakukan pada kasus-kasus amenorrhea karena *hypogonadism* atau keadaan dimana ketidakadekwat gonad untuk mensekresi hormon seks. Peningkatan gonadotropin dan rendahnya level estrogen mengindikasikan folikel ovarium tidak berespon terhadap stimulasi gonadotropin, oleh karena tidak terjadinya mekanisme feedback negatif terhadap pituitary dan hypothalamus. Keadaan ini disebut dengan *Primary ovarian failure* (hypergonadotrophic hypogonadism), hal ini terjadi pada Gonadal agenesis, Gonadal dysgenesis (*Turner syndrome/pure gonadal dysgenesis*), *Premature ovarian failure* (< 40 tahun). Serum FSH/LH yang normal atau rendah dan estradiol pada *Secondary ovarian failure* (hypogonadotrophic hypogonadism) diduga amenorrhea pada level hypothalamus, defisiensi congenital GnRH atau gangguan aksis Hypothalamus-Pituitari-Ovarium.<sup>5</sup>

*Testosterone dan Dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS)* dapat membantu mengidentifikasi keadaan hiperandrogen yang menghasilkan amenorrhea. Jika terdapat tanda-tanda hirsutism, serum testosterone dan dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) diperiksa untuk menilai ada/tidaknya ovarian *androgen-secreting tumor*.<sup>4</sup>

*Estrogen/Progesteron*. Pada keadaan normal siklus menstruasi, kadar serum estradiol mengalami fluktuasi seperti saat awal fase folikular kadarnya lebih rendah

kemudian meninggi pada awal fase luteal yang menandakan adanya ovulasi.<sup>4</sup> Selama fase luteal, kadar estradiol menurun secara bertahap namun progesteron mulai meningkat untuk menstimulasi sekresi endometrium sebagai persiapan implantasi. Jika tidak terjadi implantasi disertai rendahnya kadar estradiol dan progesteron mengakibatkan peluruhan dinding endometrium yang memicu terjadinya menstruasi. Pada pasien dengan amenorrhea, penurunan estradiol mengindikasikan keadaan hypogonadism atau *ovarian failure*. Pemeriksaan progesteron dapat menggantikan pengukuran estradiol dan memberikan tambahan informasi mengenai keadaan outflow traktus reproduktive dengan uji *Progesterone challenge test*.<sup>18</sup>

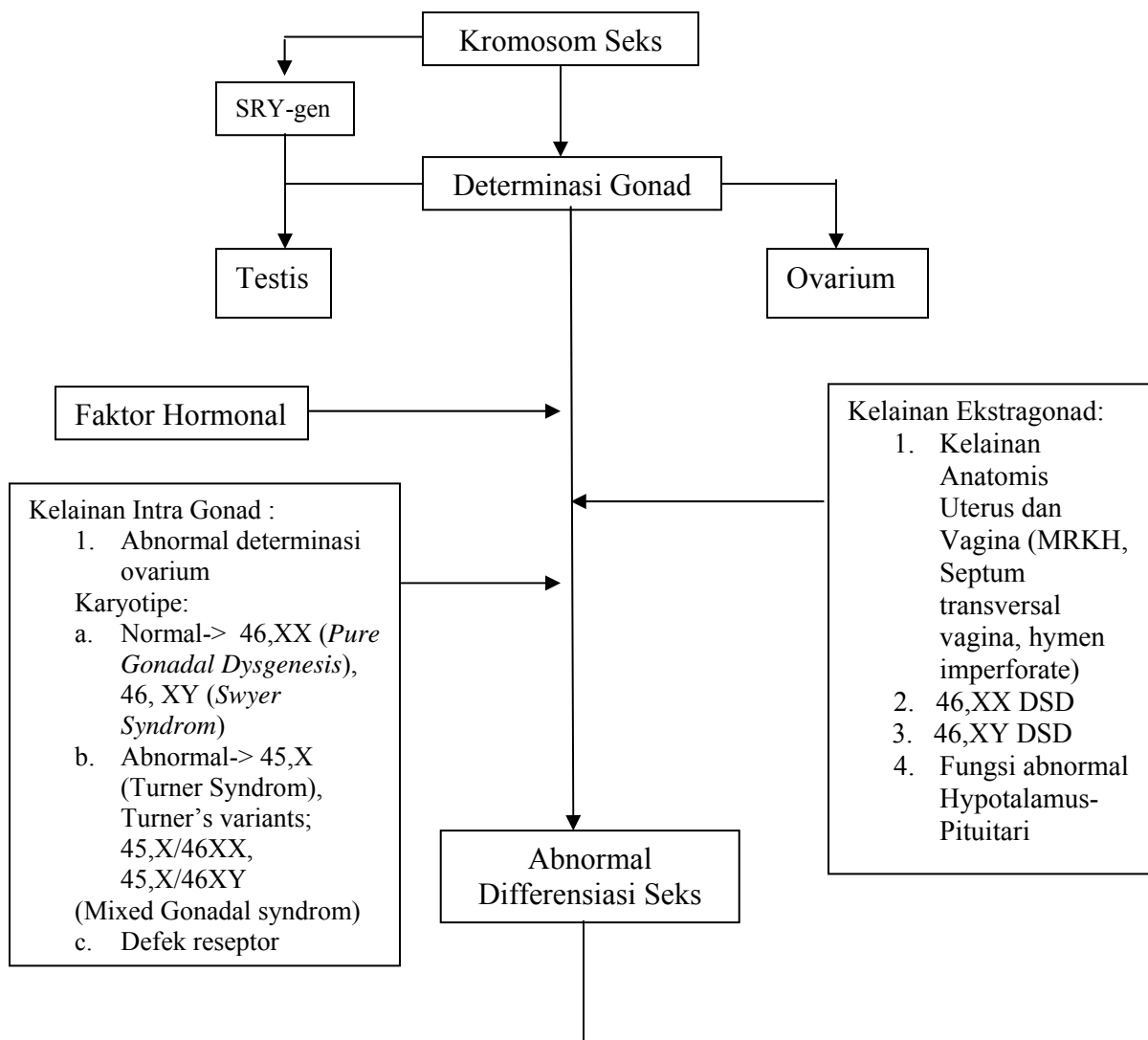
*Anti Mullerian hormone (AMH)* atau *Mullerian Inhibiting substance*, termasuk kelompok TGF $\beta$  seperti inhibin. Selama diferensiasi seks fetus, AMH pada laki-laki diproduksi sel sertoli testis yang menginduksi degenerasi duktus mullerian. AMH pada wanita disekresikan di sel granulose ovarium dan baru terekspresi setelah lahir.<sup>28,36</sup> Sampai saat ini, fungsi AMH terhadap traktus reproduksi wanita masih belum diketahui. Level serum AMH berhubungan dengan jumlah folikel antrum oleh karena itu AMH dapat menjadi marker *ovarian aging*. Seiring bertambahnya umur, level serum AMH akan menurun. Level serum AMH juga dapat menjadi salah satu prosedur standar diagnosis disfungsi ovarium seperti *Premature Ovarian Failure*.<sup>36</sup> Pasien dengan *Dysgenesis gonad* memiliki kadar serum AMH rendah, sedangkan bernilai tinggi pada kasus PCOS dan tumor sel granulose.<sup>28,36</sup>

*Inhibin* merupakan suatu glikoprotein heterodimer dari kelompok TGF  $\beta$  yang diproduksi di gonad. Inhibin pada laki-laki diproduksi di sel sertoli testis, sedangkan

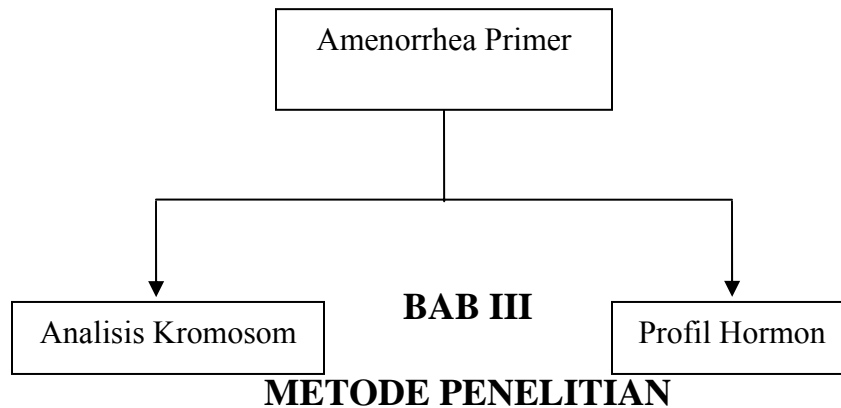


wanita diproduksi di sel granulosa ovarium dan plasenta (saat hamil). Inhibin berperan dalam supresi produksi FSH.<sup>28,37</sup> Inhibin terdiri atas 2 macam yaitu Inhibin A pada wanita disekresi di corpus luteum dan berperan dalam control *feedback* negative FSH selama transisi fase luteal-follicular. Inhibin B disekresi oleh folikel antral sebagai respon terhadap FSH yang dapat menjadi marker fase folikular ovarium. Sekresi Inhibin B meningkat mulai awal pubertas baik pada laki-laki maupun wanita.<sup>37</sup> Ketiadaan level serum inhibin pada *gonadal failure* menyebabkan peningkatan serum FSH dibanding LH pada pubertas maupun dewasa.<sup>28</sup>

## 2.7 Kerangka Teori



## 2.8 Kerangka Konsep



### 3.1 Ruang Lingkup Penelitian

#### 3.1.2 Ruang Lingkup Keilmuan

Penelitian ini mencakup bidang ilmu Genetika Dasar dan Endokrinologi.

#### 3.1.3 Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik (Center for Biomedical Research/CEBIOR) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

#### 3.1.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam periode 6 bulan yaitu Januari 2009 sampai Juli 2009.

### **3.2 Jenis dan Desain Penelitian**

Berdasarkan tujuan yang hendak dicapai, maka desain penelitian yang digunakan ialah penelitian *cross-sectional* yang bersifat deskriptif retrospektif observasional untuk mengetahui bagaimana hasil analisis kromosom dan profil hormon pasien amenorrhea primer yang terdata di Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik (*Center for Biomedical Research/CEBIOR*) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang sejak periode Januari 2004 – Mei 2009. Peneliti tidak melakukan intervensi terhadap objek penelitian.

### **3.3 Populasi dan Sampel**

#### **3.3.1 Populasi Target**

Populasi target dalam penelitian ini adalah semua pasien amenorrhea primer .

#### **3.3.2 Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau dalah pasien amenorrhea primer yang diperiksa di laboratorium Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik (*Center for Biomedical Research/CEBIOR*) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang sejak periode Januari 2004 - Mei 2009.

#### **3.3.3 Sampel**

Sampel adalah populasi terjangkau yang memenuhi kriteria inklusi.

### **3.3.3.1 Kriteria Inklusi**

- Pasien dengan identitas jenis kelamin/gender wanita yang terdapat amenorrhea primer
- Pasien wanita yang telah memasuki usia menarche/reproduktif
- Pasien amenorrhea primer yang telah terkonfirmasi dengan pemeriksaan sitogenetik
- Profil hormon pasien yang diukur adalah data hormonal lengkap pada kasus DSD

### **3.3.3.2 Kriteria Eksklusi**

- Pasien dibawah usia reproduktif
- Pasien yang sedang mendapat terapi hormonal
- Pasien dengan kelainan kromosom yang kecil (*cryptic chromosome abberation*)
- Pasien menderita penyakit metabolik lain seperti diabetes melitus.

### **3.3.3.3 Cara Pengambilan Sampel**

Cara pengambilan sampel adalah jenis *non-probability sampling* dengan metode *consecutive* sampling.

## **3.4 Data yang dikumpulkan**

Data yang didapatkan berasal dari data sekunder berupa hasil pemeriksaan klinik terbatas, data hasil analisis kromosom, data profil hormon.

## **3.5 Cara Pengumpulan Data**

1. Mengumpulkan data-data klinik pasien dengan amenorrhea primer yang diambil dari catatan medik Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP Semarang sejak periode Januari 2004 - Mei 2009.
2. Data sekunder yang didapat berupa hasil dari pemeriksaan klinik, analisis sitogenetika dan profil hormon dari pasien di Laboratorium Sitogenetika dan Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP Semarang.

### **3.6 Alat dan Bahan**

Pada penelitian ini, alat dan bahan yang digunakan untuk pemeriksaan sitogenetika terhadap pasien dengan amenorrhea primer adalah yang telah tersedia di Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP Semarang sedangkan untuk profil hormon didapatkan dari pemeriksaan di laboratorium lain.

### **3.7 Cara Kerja Penelitian**

#### **1. Pemeriksaan Fisik**

Pemeriksaan fisik penting dilakukan pertama kali dalam evaluasi amenorrhea dan untuk mengkonfirmasi riwayat klinis. Pemeriksaan fisik penderita amenorrhea dilakukan oleh dokter RSUP Dr. Kariadi dan FK UNDIP. Peneliti dalam hal ini menggunakan data sekunder dari pemeriksaan tersebut.

#### **2. Pemeriksaan Kromosom**

Pemeriksaan kromosom dan analisis terhadap kasus pasien amenorrhea ini dilakukan di laboratorium Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK Undip Semarang. Peneliti dalam hal ini menggunakan data hasil pemeriksaan sebagai data sekunder dalam melakukan analisis selanjutnya.

### **3.8 Analisis Data**

Data yang terkumpul akan diproses dengan menggunakan program *SPSS for windows* kemudian akan disajikan dalam bentuk tabel dan dilakukan analisis dengan cara deskriptif untuk mengetahui distribusi hasil analisis kromosom dan profil hormon pasien amenorrhea primer di Semarang. Data output dan analisisnya akan dibahas dan disimpulkan pada artikel berdasarkan referensi dari buku maupun sumber lainnya.

### **3.9 Definisi Operasional**

#### 1. Pemeriksaan fisik yang meliputi

- Tinggi badan adalah jumlah pengukuran ruas-ruas tulang tubuh yang meliputi tungkai bawah, tulang panggul, tulang leher, dan kepala pada posisi berbaring lurus (untuk subyek yang belum bisa berdiri) atau tegak sempurna (untuk subyek yang sudah bisa berdiri).

(Skala : Nominal)

- Berat badan

(Skala : Nominal)

- *Dysmorphology*

Ditemukan kelainan-kelainan fisik khas pada hypogonadism meliputi *webbed neck, shield chest, high arched palate, low hairline on the neck, low position of the ears, cubitus valgus, short IV and V metacarpal* (seperti pada Turner syndrome), disproporsi rasio tinggi badan dengan panjang *upper/lower extremity*.

(Skala Nominal)

- Derajat perkembangan genitalia eksterna yang diklasifikasikan menurut *Quigley stage*. *Quigley stage* ialah skala yang digunakan untuk membagi kelainan ambigu genitalia menjadi 7 derajat untuk menilai derajat perkembangan eksternal genitalia.<sup>29</sup> Gambar beserta keterangan *Quigley stage* terlampir.

(Skala : Ordinal)

- Derajat perkembangan pubertas / karakteristik seks sekunder pada wanita yang diklasifikasikan menurut *Tanner Stage*. *Tanner Stage* ini terbagi atas 5 derajat untuk menilai karakteristik perkembangan seksual sekunder. Gambar beserta keterangan *Tanner stage* terlampir.

(Skala : Ordinal)

## 2. Pemeriksaan Sitogenetika

Pemeriksaan untuk mengetahui genotip seks dan melihat ada/tidaknya kelainan kromosom dalam bentuk jumlah (numerikal) / struktural (tranlokasi, duplikasi > 4 Mb) serta mosaik dengan pengecatan G- banding.

(Skala : Nominal)

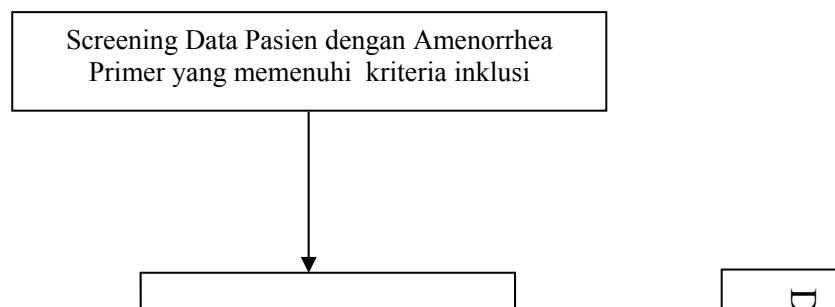
### 3. Profil Hormon

Profil merupakan pandangan yang membahas fakta, dalam hal ini nilai hormon yang di ukur terhadap range nilai normalnya. Dalam penelitian ini jenis hormon yang diukur FSH/LH, Testosteron, Progesteron, Cortisol, 17 hidroxyProgesteron, Dehidroepandrosteron, Androstenedion, AMH dan Inhibin B.

Nilai normal hormon tersebut terlampir.

(Skala : Nominal)

### 3.10 Alur Penelitian



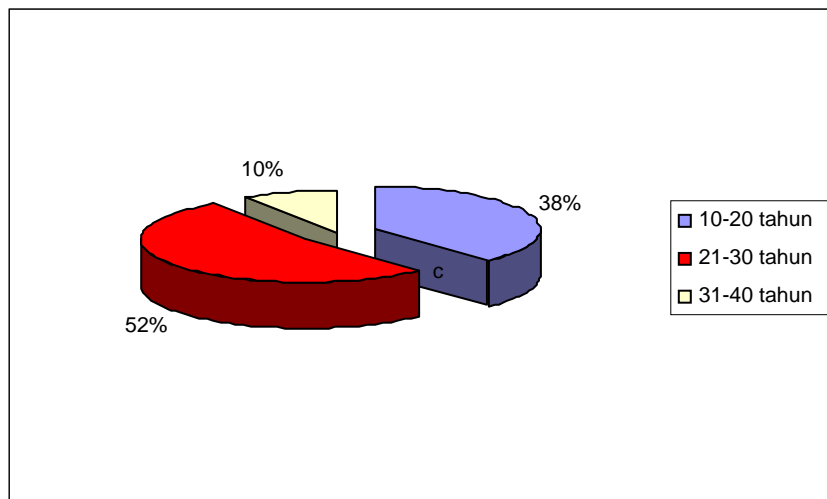


## **BAB IV**

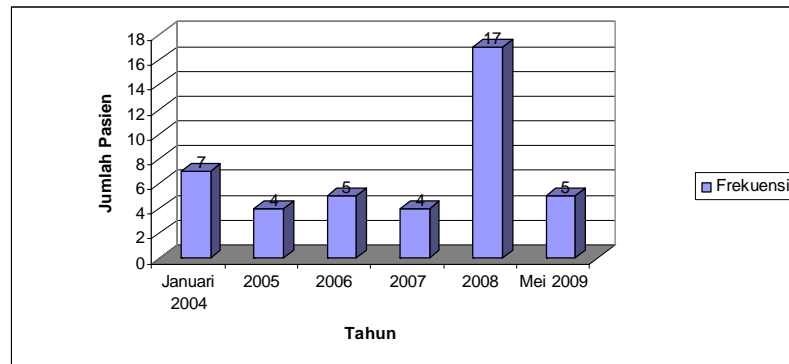
## HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada 42 kasus amenorrhea primer dari 355 kasus DSD (*Disorders of Sexual Development*) ringan sampai berat yang tercatat di laboratorium Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP Semarang periode Januari 2004 sampai Mei 2009. Karena keterbatasan jenis data hormon pada masing-masing pasien, misalnya estradiol, prolaktin, TSH yang tidak ditemukan pada semua pasien, maka data profil hormon yang di ambil dalam analisis adalah hormon-hormon yang termasuk kedalam kriteria inklusi. Dari 42 kasus yang dianalisis sitogenetikanya, hanya 28 pasien dari kasus DSD yang dikonfirmasi dengan pemeriksaan hormon lengkap di laboratorium *Rotterdam*.

Persentase umur dari 42 pasien dengan amenorrhea primer, mayoritas umur antara 21-30 tahun (n= 22 ; 52%) (Grafik 3). Selain umur, data pasien dikelompokkan berdasarkan tahun dilakukannya pemeriksaan (Grafik 4).



**Grafik 3 . Persentase umur pasien dengan Amenorrhea Primer**



**Grafik 4 . Distribusi pasien Amenorrhea Primer pertahun di Semarang (Januari 2004-Mei 2009)**

Dari total 42 pasien yang diperiksa di laboratorium Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP Semarang terdapat 22 (53%) pasien dengan kariotipe 46,XX, 10 (23,8%) pasien dengan 46,XY, dan 10 (23,8%) pasien dengan aberasi kromosom seks baik numerik maupun struktural, yaitu 2 pasien memiliki kariotipe 45,X, 1 pasien dengan delesi lengan panjang kromosom X (46,XXq-), 1 pasien dengan kelainan struktur kromosom Y berupa *double* lengan kromosom Y 46,Xidic(Y)(pter->q12::q12->pter) serta sisanya memiliki kelainan mosaik (Tabel 1). Tabel 1 menunjukkan berbagai kelainan penyebab amenorrhea primer. Pasien dengan karyotipe 46,XX (n= 22 ; 53%) diduga memiliki kelainan berupa *MRKH syndrome* termasuk aplasia/hipoplasia uteri,agenesis vagina (n= 15 ; 68%), kemudian pasien dengan CAH (n=2 ; 4,8% ), namun terdapat pula pasien dengan karyotipe tersebut mengalami *Gonadal Dysgenesis* 46,XX (n=1 ; 2,4%). Sisanya meliputi pasien yang belum diketahui penyebabnya (*unknown cause*).

Dari 10 (23,8%) pasien dengan aberasi kromosom seks baik numerik maupun struktural disertai kelainan *Gonadal Dysgenesis*, meskipun dengan diagnosa klinis yang berbeda-beda. Selain itu, pasien dengan kariotipe 46,XY (n=10; 23,8%), enam diantaranya didiagnosis AIS (*Androgen Insensitivity Syndrome*), sisanya adalah *Gonadal dysgenesis*, 46,XY.

*Quigley stage* digunakan sebagai skala untuk menilai derajat perkembangan genitalia eksterna. Dari 42 pasien amenorrhea primer, 33 kasus dengan Quigley stage 6 (78,6%), 5 kasus dengan Quigley stage 3 (11,9%), 2 kasus dengan Quigley stage 5 (4,8%), 1 kasus dengan Quigley stage 2 dan 4 (2,4%) (Tabel ).

Perkembangan seksual sekunder seperti payudara dan rambut tubuh dinilai dan diklasifikasikan berdasarkan *Tanner stage*. Hanya 21 kasus yang dinilai dengan Tanner stage, 9 kasus dengan Tanner stage 1 (21,4%), 3 kasus dengan Tanner stage 2, 3, dan 5 (7,1%), dan 2 kasus dengan Tanner stage 4 (4,8%) (Tabel 1).

**Tabel 2 .Distribusi umur, jenis kelamin, *Quigley stage*, *Tanner stage*, diagnosis dan karyotip pada 42 kasus dengan Amenorrhea Primer**

No	Umur	Gender	QS	TS	Diagnosis	Karyotipe
1	20	F	6	1	Classic Turner syndrome	45,X
2	20	F	6	2	Classic Turner syndrome	45,X
3	25	F	6	1	Turner's variant syndrome*	45,X/46,X,i(Xq)
4	21	F	6	1	Turner's variant syndrome*	46,X i(X)(q10)/45,X (15%)
5	20	F	3	N/A	Sex Chromosomal DSD	46,Xidic(Y)(pter->q12)
6	33	F	3	N/A	CAH	46,XX
7	21	F	5	N/A	MRKH	46,XX
8	29	F	6	N/A	MRKH	46,XX
9	23	F	3	N/A	MRKH	46,XX
10	25	F	6	N/A	MRKH	46,XX
11	32	F	6	N/A	MRKH	46,XX
12	21	F	6	1	Amenorrhea primer-Unknown cause	46,XX
13	22	F	6	N/A	Amenorrhea primer-Unknown cause	46,XX
14	25	F	6	N/A	MRKH	46,XX
15	16	F	6	N/A	Hipoplasia Uteri	46,XX
16	21	F	6	N/A	MRKH	46,XX
17	28	F	6	4	Aplasia Uteri	46,XX
18	16	F	6	N/A	Hipoplasia Uteri	46,XX
19	18	F	6	1	MRKH	46,XX
20	30	F	6	2	Amenorrhea primer-Unknown cause	46,XX
21	26	F	6	N/A	CAH	46,XX
22	12	F	6	5	Agenesis Vagina	46,XX
23	18	F	6	3	Aplasia Uteri	46,XX
24	32	F	6	N/A	MRKH	46,XX
25	24	F	6	5	MRKH	46,XX
26	19	F	6	2	Gonadal Dysgenesis*	46,XX
27	17	F	6	N/A	Amenorrhea primer	46,XX
28	14	F	6	1	Turner's variant syndrome*	46,XX (99%)/ 45,X(1%)
29	23	F	6	3	Turner's variant syndrome*	46,XX/45,X (2%)
30	20	F	6	1	Turner's variant syndrome*	46,XX/45,X(20%)
31	29	F	6	N/A	Sex Chromosomal DSD	46,XX/46,XY (10%)

32	22	F	6	N/A	Sex Chromosomal DSD	46,XXq-
33	14	F	3	N/A	Gonadal Dysgenesis*	46,XY
34	23	F	6	3	Gonadal Dysgenesis*	46,XY
35	14	F	2	N/A	Gonadal Dysgenesis*	46,XY
36	23	F	6	5	Gonadal Dysgenesis*	46,XY
37	23	F	6	1	PAIS	46,XY
38	24	F	6	4	CAIS	46,XY
39	39	F	5	N/A	CAIS	46,XY
40	18	F	4	N/A	PAIS	46,XY
41	27	F	3	N/A	PAIS	46,XY
42	16	F	6	1	CAIS	46,XY

\* Sex chromosome DSD (Disorders Sexual Development)  
 MRKH : Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome  
 CAH : Congenital Adrenal Hiperplasia  
 N/A: Not Available

CAIS : Complete Androgen Insensitivity Syndrome  
 PAIS : Partial Androgen Insensitivity Syndrome  
 Q.S : Quigley Stage T.S : Tanner Stage

**Tabel 3 . Profil hormon 28 kasus DSD dengan Amenorrhoea Primer**

No.	Umur tahun	Karyotipe	Diagnosa	Data Hormon									
				LH	FSH	PGN	COR	DHS	ADIN	OP- 17 P	TSN	AMH	INHB
3	25	45,X/46,X,i(Xq)	Turner's variant	22,4	124	0,6	350	1,6	.	2	0,6	0,1	19
4	21	46,X,i(X)(q10)/45,X (15%)	Turner's variant	12,7	86	0,9	350	5,2	3	1	0,4	0,1	10
11	32	46,XX	MRKH	5	4,4	1,4	168	2,6	.	1,9	1,2	7,8	152
6	33	46,XX	CAH	3,59	9,6	21	122	22	67	140,2	11	0,5	.
7	21	46,XX	MRKH	4,09	2,6	14	317	3,6	9	5,3	1,1	2,9	35
9	23	46,XX	MRKH	10,3	4	0,6	28	0,8	10	0,6	1,6	9	72
10	25	46,XX	MRKH	4,11	5,5	4,1	430	2,7	10	3,6	1,5	11	109
12	21	46,XX	Unknown cause	0,29	1,1	1,3	309	1,9	.	1,5	0,3	.	38
14	25	46,XX	MRKH	1,97	4,3	4,1	284	2,1	.	.	0,5	7,4	99
16	21	46,XX	MRKH	6,45	2,6	9,1	245	3,1	.	6,6	1,8	4,2	162
17	28	46,XX	MRKH	7,75	3,8	29	303	1,9	9	7,4	1,1	19	.
18	16	46,XX	MRKH	1,19	2,1	15	250	4,7	.	4,8	0,8	5,4	.
21	26	46,XX	CAH	3,75	2,2	31	406	5,3	13	11,3	1,7	7,4	14
23	18	46,XX	MRKH	0,31	1,1	72	136	1,4	39	737,6	3,4	3,9	42
25	24	46,XX	MRKH	0,16	1,3	72	136	1,4	39	737,6	3,4	3,9	42
30	20	46,XX/45,X(20%)	Turner's variant	0,62	5	0,6	251	2,3	5	1,1	0,2	.	23
31	22	46,XX/46,XY (10%)	Gonadal dysgenesis	0,52	2	79	238	3,5	.	.	0,9	7,6	40
32	22	46,XXq-	Gonadal dysgenesis	4,14	7,6	0,8	143	1,8	4	2,6	1,2	1,4	124
33	14	46,XY	Gonadal dysgenesis	65,3	197	1,4	332	2,8	5	0,9	0,6	0	14
34	23	46,XY	Gonadal dysgenesis	20	52	1,4	234	4,3	3	0,3	0,6	0	25
38	24	46,XY	PAIS	18,9	5,3	1	290	8,3	11	3	21	901	.
35	14	46,XY	Gonadal dysgenesis	14,8	21	0,9	213	5,8	6	2,4	11	.	21
36	22	46,XY	Gonadal dysgenesis	22,5	70	1,9	449	5,6	7	3	9,5	17	24
39	39	46,XY	CAIS	16,5	63	1,1	469	9,1	5	2,6	1,3	5,1	.
40	18	46,XY	PAIS	11,4	39	0,8	359	3,5	4	1,8	2,3	4	.
41	27	46,XY	PAIS	8,95	30	0,6	552	2	5	2,7	1,5	0,1	10
37	23	46,XY	PAIS	19,3	3,4	1,6	396	7,9	12	2,5	27	.	216
42	24	46,XY	CAIS	48	57	1,8	252	2,7	5,3	9,7	14	14	38

Catatan:

 Tinggi  
 Rendah  
Normal

\*Nilai normal hormon terlampir

LH : *Luteinizing Hormone*

DHS : Dehydroepiandrosterone

FSH : *Folicle Stimulating Hormone*

ADIN : Androstenedione

PGN : Progesterone

OP17-P : 17-hidroxyProgesteron

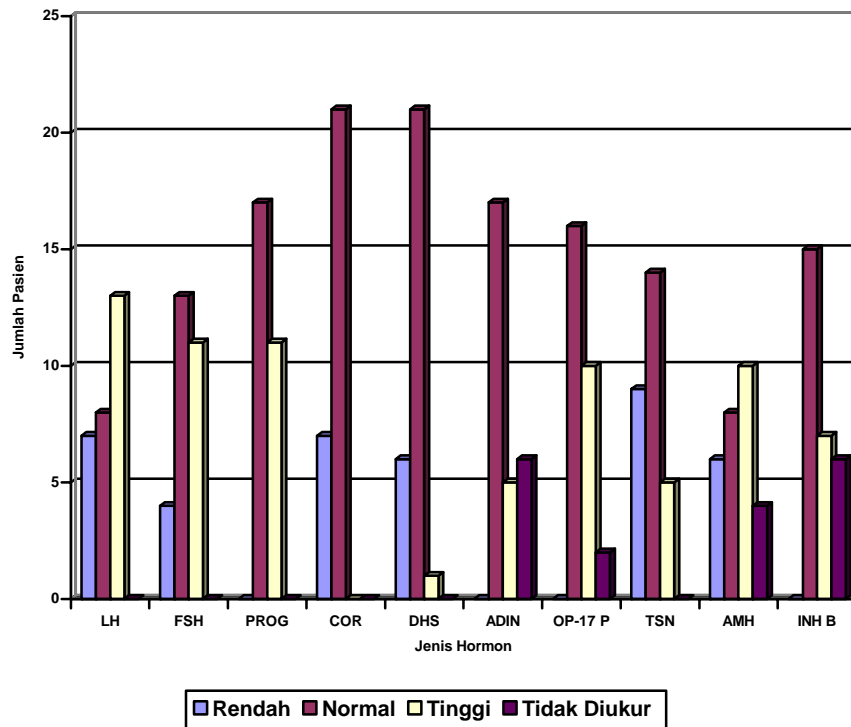
COR : Cortisol

TSN : Testosteron

AMH: Anti mullerian Hormon

INH B : Inhibin B

Tabel 3 menunjukkan bahwa interpretasi data analisis hormon dari 28 kasus DSD adalah 13 kasus (46,4%) memiliki kadar LH yang tinggi. Sedangkan untuk FSH, sekitar 13 kasus (46,4%) memiliki kadar hormon yang normal ; 11 kasus (39,2%) mengalami peningkatan. Hormon *Anti Mullerian Hormone* (AMH) juga menunjukkan peningkatan (n = 10 ; 35,71 %). Progesteron, Cortisol, Dehydroepiandrosteron, Androstenedion, 17-hydroxy Progesteron, Testosteron, dan Inhibin B mayoritas menunjukkan kadar yang normal.



**Grafik 5 . Distribusi hormon pasien dengan amenorrhea primer**

Berdasarkan grafik 5, hanya hormon LH dan AMH yang menunjukkan peningkatan, sedangkan hormon FSH, Progesteron, Androstenedion, 17-hydroxy Progesteron, serta Inhibin B normal dan sedikit meningkat. Hormon Cortisol, *Dehydroepiandrosteron-sulfate*, Testosteron bernilai rendah sampai dengan normal.

## BAB V

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pada 42 (11,83%) kasus amenorrhea primer dari 355 kasus DSD (*Disorder Seksual Development*) ringan sampai berat yang diperiksa di laboratorium Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP



Semarang periode Januari 2004-Mei 2009 terdapat variasi kenaikan jumlah kasus setiap tahunnya (Grafik 4).

Berdasarkan frekuensi hasil analisis sitogenetika pasien dengan amenorrhea primer ditemukan bahwa 22 (53%) kasus dengan kariotipe 46,XX, 10 (23,8%) pasien dengan aberasi kromosom seks, 10 (23,8%) kasus dengan 46,XY. Dalam penelitian ini kasus terbanyak penyebab amenorrhea primer dengan karyotipe 46,XX adalah *Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome* (MRKHS), dengan ciri penampilan fenotip wanita normal, *Quigley stage* 5-6, perkembangan seksual sekunder normal, fungsi ovarium normal namun uterus dan vagina tidak terbentuk.<sup>19</sup> Pada penelitian ini, penegakan diagnosa MRKH selain berdasarkan pemeriksaan sitogenetika, dan ultrasonografi sebagai *gold standard*, juga dilakukan pemeriksaan fisik meliputi pemeriksaan genitalia eksterna dengan mengukur *Quigley stage* namun tanpa pengukuran *Tanner stage* untuk menilai perkembangan seksual sekundernya. Dari 10 pasien MRKH yang diperiksa hormonnya, 8 pasien dengan kadar hormon Progesteron yang tinggi, 5 pasien menunjukkan peningkatan *Anti Mullerian Hormon* (AMH) (Tabel 3). Peningkatan level serum progesteron ini kemungkinan karena progesteron tidak bekerja secara efektif pada organ target yaitu uterus yang tidak terbentuk akibat defek pembentukan duktus mulleri. Level serum *Anti Mullerian Hormon* yang tinggi ini mungkin dapat menjadi salah satu faktor penyebab tidak terbentuknya duktus mulleri pada wanita dengan *MRKH syndrome*. Namun sampai saat ini, fungsi AMH terhadap perkembangan traktus reproduksi wanita setelah determinasi ovarium masih belum diketahui.<sup>36</sup>

Kasus kedua penyebab amenorrhea primer pada pasien genotip 46,XX adalah Congenital Adrenal Hiperplasia (CAH). Pasien dengan CAH pada wanita dapat

diidentifikasi melalui pemeriksaan fisik, misalnya pada kasus nomor 6 karena peningkatan hormon androgen akan memvirilisasi genitalia eksterna seperti klitoromegali (Quigley 3) namun ada pula pasien CAH nomor 21 yang memiliki Quigley 6. Oleh karena itu perlu dikonfirmasi dengan pemeriksaan hormon. Dua pasien CAH yang diperiksa hormonnya, (Lihat Tabel 3) hanya 1 pasien (no.6) yang menunjukkan nilai hormon spesifik CAH, yaitu Progesterone, 17-Hydroxyprogesterone, Testosterone, dan Androstenedione yang tinggi, namun Cortisol rendah. Satu pasien CAH lainnya (nomor 21) hanya Progesteron dan 17-Hydroxyprogesteron yang tinggi.

Dari 10 kasus amenorrhea primer dengan aberasi kromosom seks baik numerik maupun struktural disertai kelainan *Gonadal Dysgenesis*. Kelainan numerikal meliputi 45,X /*Classic Turner Syndrome* (n = 2 ; 18,2% ), Enam kelainan mosaik yaitu 1 kasus dengan 46,XX(90%)/46,XY(10%) (*Hermaphroditism/Sex Chromosomal DSD*), 2 kasus (18,2%) dengan *Turner's variants syndrom* yang memiliki duplikasi (isokromosom) pada lengan panjang kromosom X [ 45,X (99%)/46,X,i(Xq)(1%) dan 46,X,i(X)(q10)(85%)/45,X(15%)] ; 3 kasus *Turner's variants* dengan karyotipe 46,XX/45,X. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa 5-15% Turner syndrome memiliki variasi kromosom seperti duplikasi (*isochromosom* pada lengan panjang kromosom X [46,X,i(Xq)] , delesi lengan pendek kromosom X 46,X,del(Xp) .<sup>9</sup>

Kelainan struktural yang disertai dengan *Gonadal Dysgenesis* adalah 46,XXq- merupakan kelainan struktur kromosom X akibat delesi lengan panjang kromosom X . Salah satu kelainan genetik pada kromosom X yang menyebabkan ovarian disgenesis yaitu delesi pada lokus gen POF pada lengan panjang kromosom X. Regio kritis pada kromosom X (gen POF1) berada antara Xq13 sampai Xq26 serta (gen POF2) Xq13.3-

q21.1 telah diidentifikasi sebagai gen yang bertanggung jawab terhadap perkembangan fungsi normal ovarium.<sup>35</sup> Fenotip pada kasus ini wanita normal, Quigley stage 6, tidak ada dismorfologi, dengan pemeriksaan ultrasonografi ditemukan hipoplasia uteri.

Kelainan struktural yang lain adalah 46,Xidic(Y)(pter->q12::q12->pter) ish yaitu kelainan struktur kromosom Y berupa dobel kromosom Y yg berikatan pada lengan panjangnya akibat patahan yang bersambung kembali pada ujung lengan panjang (Yq12 ) setelah dikonfirmasi dengan pemeriksaan FISH. Fenotip pada kasus ini adalah wanita dengan perawakan pendek, genitalia eksterna seperti laki-laki / Quigley stage 3, tidak ada hiperpigmentasi.

Profil hormon 5 pasien dengan abnormalitas kromosom terkait dengan hypogonadism, 2 diantaranya terdapat peningkatan konsentrasi FSH/LH, namun 2 pasien memiliki konsentrasi FSH/LH rendah dan 1 pasien memiliki konsentrasi FSH/LH normal. Hal ini mendukung hipotesis sebelumnya yang menyatakan bahwa presentasi hormon *hypogonadism* pada amenorrhea ditandai dengan peningkatan level serum FSH/LH mengindikasikan abnormalitas pada ovarium yang tidak responsif terhadap stimulasi hormon kelenjar pituitari (*hypergonadotropic hypogonadism*) sedangkan normal atau rendahnya level FSH atau LH menyatakan abnormalitas pada hipotalamus (*hypogonadotropic hypogonadism*)<sup>3</sup>.

Dalam penelitian ini juga ditemukan kelainan Gonadal Dysgenesis pada genotip normal yaitu 46, XX dan 46,XY . Kasus dengan 46,XX Gonadal Dysgenesis memiliki fenotip wanita normal, *Quigley stage 6*, infantile seksual sekunder.<sup>15</sup> Namun, pada kasus 46,XY Gonadal Dysgenesis memiliki fenotip wanita dengan genitalia eksterna seperti laki-laki, *Quigley stage 2*, scrotum bifida, hiperpigmentasi. Berdasarkan pemeriksaan

hormon, 4 pasien *Gonadal dysgenesis* 46,XY menunjukkan peningkatan FSH/LH dan Inhibin B. Hal ini sesuai dengan pernyataan peningkatan konsentrasi FSH/LH plasma merupakan indikasi adanya kelainan pada fungsi gonad (*hypergonadotropic hypogonadism*)<sup>3</sup>.

Pada beberapa kasus gonadal dysgenesis dengan abnormalitas kromosom 46,XX/46,XY(10%), gonadal dysgenesis dengan 46,XY terdapat ketidaksesuaian hasil interpretasi profil hormon karena pada pasien dengan gonadal dysgenesis sulit menentukan jenis kelamin yang sebenarnya yang berkaitan dengan penentuan nilai normal yang dipilih sebagai acuan pengukuran.

Selain itu, pasien dengan kariotipe 46,XY (n=10; 23,8%), 6 diantaranya dengan AIS (*Androgen Insensitivity Syndrome*) yang diperiksa hormonnya memiliki kadar hormon LH yang tinggi, FSH tinggi sampai normal, 4 pasien dengan kadar AMH meningkat, 2 pasien dengan Testosteron normal, 3 pasien dengan Testosteron rendah namun terdapat 1 pasien dengan kadar Testosteron yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa profil hormon pasien AIS ditandai dengan peningkatan atau normal serum gonadotropin dan level testosteron pria dalam batas normal atau sedikit meningkat, tetapi karena defek reseptor sitosol Testosteron akibat mutasi pada reseptor androgen maka Testosteron secara biologis menjadi *ineffective* dan terjadi konversi perifer Testosteron menjadi estradiol. Selain analisis sitogenetika, diagnosa tepat untuk kasus AIS harus secara molekuler untuk mengetahui adanya mutasi pada reseptor androgen.<sup>22</sup> Selain itu, level serum AMH menunjukkan peningkatan pada kasus interseksual terkait dengan *Androgen Insensitivity Syndrome*<sup>28</sup>.

Berdasarkan pemeriksaan fisik 3 pasien yang belum diketahui (*Unknown cause*) diagnosa kelainan penyebab amenorrhea primer didapatkan fenotip wanita normal, *Quigley stage 6*, tidak ada kelainan pada genitalia interna, namun perkembangan seksual sekunder minimal, payudara tidak tumbuh, dan tidak terdapat pertumbuhan rambut pubis dan axilla (*Tanner stage 1*). Hasil karyotipe wanita normal 46,XX. Namun berdasarkan data hormonal dari salah satu pasien dengan kasus yang sama menunjukkan level serum FSH / LH rendah, kemungkinan abnormalitas terjadi pada hipotalamus yang memicu sekresi hormon gonadotrophin<sup>3</sup>.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

Berdasarkan hasil pemeriksaan kromosom pasien dengan amenorrhea primer di laboratorium Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP Semarang periode Januari 2004 sampai Mei 2009 ditemukan 42 kasus amenorrhea primer dengan distribusi kariotipe mulai dari normal 46,XX atau 46,XY sampai aberasi kromosom seks baik numerik maupun struktural serta kelainan mosaik. Dari 28 pasien yang diperiksa hormonnya, 23 pasien dengan karyotipe normal dan juga 5 pasien dengan abnormalitas kromosom terkait dengan hypogonadism memiliki profil hormon yang bervariasi sesuai dengan penyebab dan manifestasi klinisnya.

Penanganan terhadap amenorrhea primer disesuaikan dengan kelainan yang terjadi. Kelainan yang diakibatkan oleh kelainan endokrinologik, maka diberikan pengobatan berupa pemberian hormonal. Sedangkan kelainan yang diakibatkan oleh kelainan anatomik dengan memperbaiki kelainan anatomis. Pemeriksaan sitogenetika dan hormon sangat membantu dalam menegakkan diagnosis, meskipun dalam beberapa kasus profil hormon tidak cukup spesifik menggambarkan diagnosis suatu kelainan sehingga diperlukan konfirmasi dengan pemeriksaan molekular.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dr. Tri Indah Winarni Msi.Med sebagai pembimbing pada penelitian ini, Prof.dr.Sultana MH Faradz,PhD dan dr. A.Zulfa Juniarto Msi.Med.Sp.And sebagai *reviewer* yang telah memberi banyak masukan, Pusat Riset Biomedik dan Molekular (CEBIOR) FK UNDIP yang telah memberikan ijin penggunaan data, seluruh tim penyesuaian kelamin RS.Dr.Kariadi serta staff di laboratorium Unit Molekular dan Sitogenetika Pusat Penelitian Biomedik FK UNDIP Semarang yang telah banyak membantu terlaksananya penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. DeCherney AH, Nathan L, Goodwin TM, Laufer N, editors. chapter 56. Amenorrhea ; Current diagnosis & treatment obstetrics & gynecology .New York : McGraw-Hill; 2006.
2. Ten SK, Chin YM, Noor PJ, Hasan K. Cytogenetic studies in women with primary amenorrhea. *Singapore MED J* ;1990; vol. 31: 355-359.
3. Hunter TM, Heiman DL. Amenorrhea: evaluation and treatment. *American Family Physician* ;2006; 73:1374-87.[cited on 2008 July 20] .
4. Popat V. Amenorrhea, Primary. [online].2008 Aug [cited 2008 September 25]. Available at.URL: [http:// www.e-medicine.com](http://www.e-medicine.com)
5. Chan PD, Johnson SM. Primary amenorrhea in : Current clinical strategies gynecology and obstetrics new ACOG treatment guidelines. California: Current Clinical Strategies Publishing ; 2004 .
6. Jewelewicz R, Jaffle SB, Sciarra J J. Amenorrhea gynecology & obstetrics vol.5, reproductive endocrinology,infertility,and genetics. Chicago : Lippincott-Raven Publishers ; 1997.
7. Lange D, Ganong WF. Review of medical physiology. 20<sup>th</sup> edition. California San Fransisco: McGraw-Hill;2001, p. 396-398.
8. Just W, Kucinkas L. The molecular basis of male sexual differentiation. *European Journal of Endocrinology Medicina (Kaunas)* ; 2005: 41(8). p.633.
9. Ellard S, Turnpenny P. Emery's element of medical genetics.12<sup>th</sup> edition. Elsevier;2007.
10. Lee PA, Ahmed SF, Houk C, Hughes IA. Consensus statement on management of intersex disorders. *Arch. Dis. Child.* 2006;91;554-563; published online 19 Apr 2006,



11. Arlt W, Walker EA et al. Congenital adrenal hyperplasia caused by mutant P450 oxidoreductase and human androgen synthesis: analytical study. *Lancet Journal*. 2004 (cited on 2005May19);363(9427):2128-35.
12. McDermott M, Robert HS. Disorder sex differentiation in Endocrine secrets. 4<sup>th</sup> edition. Elsevier; 2007.p. 343-352.
13. McCauley E, Sybert PV. Turner's syndrome. *N Engl J Med* 2004;351:1227-38.
14. Whelan J, Huh J. The Johns Hopkins manual of gynecology and obstetrics section 4:reproductive, endocrinology and infertility, amenorrhea. 2<sup>nd</sup> edition. The Johns Hopkins Lippincott Williams & Wilkins Publishers; May 2002.
15. Williams HR et.al .Larsen: Williams Textbook of Endocrinology. 10th ed., Elsevier; 2003.p.905-906.
16. Watchel SS, Aria P et.al, SRVX, a sex reversing locus in Xp21.2 →p22.11. *human genetic Springer-Verlag* (1994) 93:389-393. Received: 23 November 1993 / Revised: 2 December 1993.
17. Telvi L, Lebbar A et al. 45,X/46,XY Mosaicism:report of 27 Cases. *PEDIATRICS* Vol. 104 No. 2 August 1999, p. 304-308.
18. Speroff L, Glass HR, Kase GN. Clinical gynecologic endocrinology & infertility .7<sup>th</sup> edition. Lippincott Williams & Wilkins Published. Philadelphia: 2005.p.4255-426.
19. Guerrier D, Camborieux L, Morcel K. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2007, 2:13:172-2-13, License: BioMed Central Ltd. Published on 14 March 2007.
20. Lauber AB, Konrad D et al. A WNT4 Mutation associated with müllerian-duct regression and virilization in a 46,XX woman.*N Engl J Med* 2004;351:792-8.
21. Shoback D, Gardner DG. Greenspan's basic & clinical endocrinology of Lange Endocrinology, Chapter 14. Female Reproductive Endocrinology & Infertility.8<sup>th</sup> edition.McGraw-Hill;2007.
22. Montella A, Sanna R et.al. Identification of a mutant allele of the androgen receptor gene in a family with androgen insensitivity syndrome detection of

- carriers and prenatal diagnosis. *Arch Gynecol Obstet* 2003; 269:25–29.  
Published [online] 20 March 2003.
23. Williams RH, Larsen H et.al. Williams textbook of endocrinology.10<sup>th</sup> ed. Elsevier; 2003. Section 6.
  24. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. Harper's illustrated biochemistry. 27<sup>th</sup> Ed. The McGraw-Hill Companies Published. United States of America;2006. chapter.41.
  25. Greenspan. Basic & clinical endocrinology. 7<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill; 2001.
  26. Layman LC. Human gene mutations causing infertility. *J Med Genet* 2002; 39:153–161.
  27. Misrahi M, Kuttan F et.al. Delayed puberty and primary amenorrhea associated with a novel mutation of human follicle-stimulating hormone receptor: clinical, histological, and molecular studies. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003; Vol. 88(8).p.3491-3498.
  28. Hughes IA. Ambiguous genitalia in Brook C.G.D, Clayton P.E Brown R.S (ed). clinical pediatric endocrinology. 5<sup>th</sup> Ed. Blackwell Publishing Victoria 2005.p. 171-182.
  29. Gardner DG, Shoback D. Lange greenspan's basic & clinical endocrinology. 8<sup>th</sup> edition, The McGraw-Hill Companies Published. San Francisco:2007. chapter 5.
  30. Lange DeLoris, Jack, Ganong WF. Review of medical physiology .20<sup>th</sup> edition. California San Fransisco: McGraw-Hill;2001, p. 425-426.
  31. Molina PE. Female reproductive system ; endocrine physiology. 2<sup>nd</sup> edition. Lange Acces Medicine McGrawHill; 20007.chapter 9.
  32. Faradz SM, Manual laboratory. Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP unit molekular dan sitogenetik.Semarang;1999.
  33. Diamond M, Watson LA. Child adolescent psychiatric .*Clin N Am* 13 2004; p.623-640.
  34. Amenorrhea.Available from : URL:<http://www.wrongdiagnosis.com/book-diseases-16b.htm>.

35. Beck-Peccoz P, Persani L. Review premature ovarian failure. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2006; 1(9).
36. Visser J A, Laven J et al. Anti mullerian hormone : a new marker for ovarian function. *Society for Reproduction and Fertility* 2006; 131.p.1-9.
37. Luisi S, Florio P et al. Inhibin in female and male reproductive physiology: role in gametogenesis,conception,implantation and early pregnancy. *Human Reproduction and Embryology Update* 2004;10.p.1-13.

## **LAMPIRAN**

### **1. Pemeriksaan Fisik**

Tanda fisik yang diamati meliputi pemeriksaan fisik secara umum (tinggi badan, berat badan, *dysmorphology* ), pemeriksaan khusus seperti genitalia eksterna (lokasi dan teraba/tidaknya gonad, ada/tidaknya pembesaran klitoris, lokasi muara urethra, adanya satu atau dua orificium eksterna pada perineum (introitus vagina), ada/tidaknya labia mayora dan minora, adanya fusi labia, ada/hiperpigmentasi).

Hasil pemeriksaan genitalia ini dapat diklasifikasikan menurut *Quigley Stage*. *Quigley Stage* adalah skala yang digunakan untuk membagi kelainan ambigu genitalia menjadi 7 derajat untuk menilai derajat perkembangan eksternal genitalia.<sup>29</sup>

*Stage 1* : Fenotip laki-laki dengan azoospermia dan tanda-tanda hormon androgen insensitivity atau laki-laki fertil dengan ginekomastia.

*Stage 2* : Fenotip laki-laki dengan virilisasi ringan seperti hipospadia simpel atau bifida scrotum atau mikropenis dan ginekomastia.

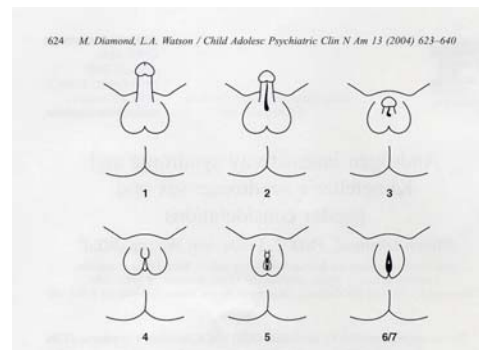
*Stage 3* :Fenotip laki-laki dengan defisiensi virilisasi. Penderita mempunyai mikropenis, hipospadia, bifida scrotum yan tipis.

*Stage 4* : Neonatus dengan *scrotalized* labia dan phallus dengan ukuran antara klitoris dan penis (ambigus genitalia).

*Stage 5* : Wanita dengan klitoromegali dan atau fusi labial posterior

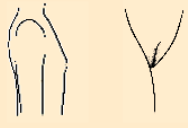



*Stage 6*: Wanita dengan genitalia eksterna yang komplit dan pada saat pubertas tampak pertumbuhan normal rambut pubis dan aksila wanita.

*Stage 7* : Genitalia wanita dengan sedikit rambut vulva dan pubis.<sup>29</sup>



Gambar 6. Quigley Stage<sup>34</sup>

Perkembangan seksual sekunder seperti payudara dan rambut tubuh dinilai dan diklasifikasikan berdasarkan *Tanner Stage*.

Normal Female Pubertal Development			
Developmental stage (age in years)	Anatomic drawing	Tanner stage	
		Breast development	Pubic hair development
Initial growth acceleration (8 to 10)	Elevation of papilla only; no pubic hair	1	1
Thelarche (9 to 11)	See adrenarche for stage 2 development	2	1
Adrenarche (9 to 11)		2	2
Peak growth (11 to 13)		3	3
Menarche (12 to 14)		4	4
Adult characteristics (13 to 16)		5	5

Gambar 7. *Tanner Stage*<sup>3</sup>

## ***Pubic Hair (female)***

### *Tanner I*

Tidak ada rambut pubis secara keseluruhan. (*prepubertal state*) [ $\leq$  10 tahun]

### *Tanner II*

Sedikit, halus, dan pendeknya rambut pubis pada labia majora [10–11.5 tahun]

### *Tanner III*

Rambut pubis mulai menjadi kasar dan keriting, serta tumbuh menyebar ke lateral.  
[11.5–13 tahun]

### *Tanner IV*

*adult-like hair quality*, Rambut mulai bertambah banyak menyebar dari pubis sampai medial paha. [13–14 tahun]

### *Tanner V*

Rambut tumbuh menyebar ke medial paha. [ $\geq$  14 tahun]

## **Breasts (female)**

### *Tanner I*

Tidak ada jaringan kelenjar; ; *areola follows the skin contours of the chest* (prepubertal. [ $\leq$  10 tahun])

### *Tanner II*

*breast bud forms*, dengan sedikit jaringan kelenjar; areola mulai bertambah lebar. [10-11.5 tahun]

### *Tanner III*

Payudara mulai meninggi, disertai dengan melebarnya batas areola mengikuti kontur payudara. [11.5-13 tahun]

### *Tanner IV*

Payudara bertambah besar dan meninggi; areola dan *papilla mammae* mulai menonjol. [13-15 tahun]

### *Tanner V*

Payudara mencapai ukuran dewasa, [ $\geq$  15 tahun]

## **2. Pemeriksaan Sitogenetika**

### **-Alat**

1. S spuit untuk mengambil sampel darah
2. Tabung gelas, tabung tertutup/botol untuk kultur
3. Pipet tetes, pipet ukur
4. Sentrifuse, inkubator, waterbath
5. Freezer
6. Object glass
7. Mikroskop cahaya, mikroskop fotografi

## **-Bahan**

Bahan yang diperiksa:

Darah vena dengan antikoagulan heparin

## **-Reagen yang dibutuhkan**

1. Media kultur kromosom

Media yang digunakan adalah:

RPMI 1640 (medium yang kaya amino acid dan vitamin)

2. Bahan pemicu mitosis yaitu PHA (Phytohaemagglutinin), jenis PHA-P (pure)/PHA-M(mixture)
3. Fetal Bovine Serum (FBS) 10% sebagai suplemen
4. Colchicine atau calcemid untuk menghentikan mitosis (Spindle Inhibitor)
5. KCl 0,075 M sebagai larutan hipotonik untuk melisiskan membran sel inti
6. Larutan Carnoy's (3 methanol: 1 acetic acid) untuk memfiksasi

## **-Prosedur Pengambilan Bahan**

Sebelum diambil darahnya, di catat identitas pasien dan dipastikan telah diambil informed consent. Sampel darah diambil dari pembuluh darah vena cubiti, bila sulit dapat dilakukan darah melalui tusukan jari.

## **-Prosedur Pemeriksaan Bahan**

### **- Penanaman**

- a. Meneteskan masing-masing 7 tetes "buffy coat" atau 10 tetes darah dalam 2 tube berisi 5 ml media yang berbeda (yang mengandung 10% Fetal Bovine Serum dan 100 mikroliter PHA).

- b. Inkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 72-36 jam dengan sudut kemiringan tabung  $\sim 45^{\circ}$  agar memberi peluang pada tumbuhnya sel dipermukaan, dalam inkubator yang mengandung 5%  $\text{CO}_2$ .

– **Pemanenan**

Tetaskan 3 tetes colchicine atau colcemid pada setiap tabung, lalu inkubasi selama 30 menit. Kemudian pusingkan selama 10 menit pada 1000 RPM. Buang supernatan, resuspensikan endapan dan tambahkan larutan hipotonik hangat KCL 0,075 M, resuspensikan homogen dan inkubasi  $37^{\circ}\text{C}$  dalam waterbath selama 15-30 menit. Pusingkan 100 RPM selama 10 menit, buang supernatan dan tambahkan 5 ml larutan fiksasi Carnoy's melalui dinding tabung, lalu kocok. Pemberian fiksasi diulangi 3 kali sampai didapatkan presipitat jernih. Suspensikan residu dengan larutan Carnoy's secukupnya sesuai dengan banyaknya pelet. Sebarkan pada gelas objek dengan meneteskan 2 tetes suspensi pada lokasi yang berbeda.

- **Pengecatan**

**Pengecatan Giemsa (pengecatan solid)**

Preparat dicat dengan Giemsa 10% dalam larutan buffer Phosphat pH 6,8 selama 1 menit. Pembuatan larutan Giemsa selalu baru untuk setiap periode pengecatan (1 staining jar). Pengecatan Giemsa hanya dipakai untuk skrining sel, tidak digunakan untuk analisis/ diagnosis.

**Pengecatan Banding dengan Trypsin tanpa penghangatan (GTG Banding)**



Slide yang berumur lebih dari 3 hari dicelup dalam larutan Trypsin 0,1% yang dilarutkan dengan 90 ml PBS (Phosphate Buffer Saline) pH 6,8, segera cuci dengan PBS dan cat dengan Giemsa 10% dalam phosphate buffer.

### **-Analisis Kromosom**

Analisis untuk semua kasus harus dengan pengecatan G-banding, paling sedikit 8 metafase dan penghitungan untuk 20 metafase. Bila didapatkan kelainan mosaik, analisis paling sedikit harus didapatkan perbedaan pada 3 metafase dan bila didapatkan hanya 1 metafase yang berbeda maka penghitungan harus ditambah paling sedikit 40 metafase.

### **-Prosedur Laporan/ Diagnosis**

Cara melaporkan bentuk atau konstitusi kromosom adalah mengikuti cara yang diharuskan oleh ISCN (International System for Human Cytogenetic Nomenclature). Standar penulisan konstitusi kromosom adalah pertama kali tulis jumlah kromosom kemudian diikuti koma dan jenis kromosom seks, diikuti koma lagi dan selanjutnya jenis kelainan struktural (bila terdapat kelainan struktural). Bila pada kelainan kromosom yang melibatkan 2 kromosom maka ditulis jenis kromosom secara urut nomor yang kecil.

Semua metafase yang sudah dianalisis difoto hitam-putih. Dokter ahli sitogenetika yang akan menentukan kariotipnya dan memberikan kesimpulan dari hasil pemeriksaan.<sup>33</sup>

## DAFTAR NILAI NORMAL HORMON

### Androstenedione nmol/l

Pria	2,0-10,0
Wanita	2,0-15,0

### 17-Hydroxyprogesterone nmol/l

Pria	<10,0
Wanita (tengah siklus pertama)	0,5-2,0

### Cortisol nmol/l

9.00 h	200-800
--------	---------

### Testosterone nmol/l

Laki-laki (pubertas)	3,0-6,5
Pria	10,0-30,0
Perempuan (pubertas)	0,3-0,9
Wanita	0,5-3,0

### DHEA-sulfate umol/l

	Pria	Wanita
10-19 tahun	0,8-17,0	1,4-10,0
20-29 tahun	7,0-17,0	1,5-10,0
30-39 tahun	4,0-14,0	1,2-7,0

### Progesterone (nmol/l)

Pria	0,5-2,0
Wanita (follicular)	<0,5-3,0

### AMH (ug/l)

Wanita : 15-41 tahun	0,5-7,0
Pria > 18 tahun	3-5

### LH (IU/l)

Pria	1,5-8
Wanita (follicular)	2-8

### FSH (IU/l)

Pria	2-7
Wanita (follicular)	2-8

### Inhibin B (ng/l)

Pria	<10
Wanita (follicular / luteal)	<150

Sumber : Rotterdam