

**DETEKSI CEPAT KELAINAN KROMOSOM 21 NUMERIKAL
DENGAN METODE *SEGMENTAL DUPLICATION* –
HIGH RESOLUTION MELTING ANALYSIS
UNTUK APLIKASI PRENATAL DIAGNOSIS**

***RAPID ANEUPLOIDY DETECTION OF CHROMOSOME 21
BY SEGMENTAL DUPLICATION – HIGH RESOLUTION
MELTING ANALYSIS FOR PRENATAL DIAGNOSIS***



Tesis

untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2

Magister Ilmu Biomedik

**An Nisaa Utami Tihnulat
22010111400096**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2015

TESIS
DETEKSI CEPAT KELAINAN KROMOSOM 21 NUMERIKAL DENGAN
METODE *SEGMENTAL DUPLICATION – HIGH RESOLUTION MELTING*
***ANALYSIS* UNTUK APLIKASI PRENATAL DIAGNOSIS**

disusun oleh:

An Nisaa Utami Tihnulat, MD

22010111400096

Telah dipertahankan di depan Tim penguji
pada tanggal 28 Agustus 2015
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima,

Menyetujui
Pembimbing

Pembimbing I,

Pembimbing II,

dr. Farmaditya EP Mundhofir, M.Si.Med, PhD

NIP. 1981 0425 2008 121 002

Dr.dr. Tri Indah Winarni, M.Si.Med,PA

NIP. 1966 0510 1997 022 001

Mengetahui,

Ketua Program Pendidikan Master Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

dr. A. Zulfa Juniarto, Msi.Med, Sp.And, PhD

NIP. 1970 0608 1997 021 001

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri, dan bahwa di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong Plagiarism sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas No. 17 tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam penulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Agustus 2015

An Nisaa Utami Tihnulat

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr. An Nisaa Utami Tihnulat
Tempat/tanggal lahir : Jakarta, 4 Oktober 1988
Jenis kelamin : Perempuan
Alamat : Jl.Pulo Mawar no.29, Kebayoran Lama, Jakarta Selatan
HP : 081291092161
Email : annisa.utami.tihnulat@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1994 – 2000 SDI Al-Azhar BSD
2000 – 2003 SLTPN 4 Serpong
2003 – 2005 SMA Dwiwarna Boarding School
2005 – 2009 Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (Sarjana Kedokteran)
2009 – 2011 Program Profesi Dokter Universitas Diponegoro
2011 – Sekarang Program Studi Ilmu Biomedik Konsentrasi Konselling Genetika Universitas Diponegoro

Pelatihan, Seminar, dan Kursus

- 2006 **IVF (Invitro Fertilization) Seminar: Bringing New Hope for A New Life**
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia
- 2007 **Management and Leadership Training**
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia
- 2008 **Research Proposal Training**
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia
- 2008 **Career Day for Muslimah Health Community**
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia
- 2008 **Training Management of Emergency Patient**
Bagian Anestesi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- 2011 **Continuing Professional Development**
Indonesian Surgeons Association, Semarang, Indonesia
- 2011 **Update on Vertigo**
Departemen THT-KL, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- 2011 **Update on Hypertension**
Departemen Neurologi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- 2012 **Advanced Cardiac Life Support**
Indonesian Heart Association, Semarang, Indonesia
- 2012 **10th Medical Genetic Course: From Basic to Clinic**

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro kolaborasi dengan Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Center, The Netherland

2012 **Advance of Medical Genetic Course**

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro kolaborasi dengan Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Center, The Netherland

2012 **Workshop on Neurogenetics**

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

2012 **Ciliary Dysfunction in Developmental Abnormalities And Diseases Symposium**

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro kolaborasi dengan Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Center, The Netherland

2015 **Workshop & Hands on Sitogenetika & Genetika Molekuler**

Center for Biomedical Research, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

2015 **How Does Anxiety Impact on Daily Life?**

PDSJKI Cabang Semarang & Departemen Psikiatri Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

C. Riwayat Pekerjaan

2011 – 2012 Klinik Kartika, Klinik Mutiara, Jakarta (Dokter umum)
Maret - Agustus 2013 KK Women and Children Hospital, Singapore
(*Attachment student*)

D. Riwayat Keluarga

Ayah : S. Sumaryanto, ST
Ibu : Erniyati
Suami : dr. R. Fidiaji Hiltono Santoso
Anak : Annisa Hafizha Fitri

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas berkat rahmat-Nya tesis ini dapat diselesaikan. Tesis ini dapat terselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari banyak pihak. Saya ingin mengungkapkan rasa terima kasih saya yang terdalem kepada semua orang yang telah membantu dalam penyelesaian tesis ini. Terima kasih banyak kepada guru saya, Prof. Sultana MH Faradz, MD, PhD, untuk bimbingan dan kesabaran beliau selama saya menjalani program master ini, dan juga untuk dukungan, perhatian, dan kepercayaan yang telah beliau berikan kepada saya sehingga saya berkesempatan menjadi *attachment student* di KKH, Singapore. Saya juga sangat berterima kasih kepada Dr.dr. Tri Indah Winarni, M.Si.Med, PA selaku pembimbing tesis saya untuk waktu, dukungan, bantuan, dan kesabarannya dalam penelitian dan penulisan thesis. Terima kasih yang dalam kepada dr. Farmaditya EP Mundhofir, PhD selaku pembimbing tesis saya, untuk waktu dan arahan yang beliau berikan kepada saya dalam penelitian dan penulisan tesis ini hingga thesis ini dapat diselesaikan dengan baik.

Terima kasih pula kepada dr. A. Zulfa Juniarto, Msi.Med, Sp.And, PhD selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Konsentrasi Konseling Genetika dan tim penguji yang telah memberikan masukan terhadap penelitian ini. Saya juga ingin mengungkapkan terima kasih saya yang dalam kepada dr. Fanti Saktini, M.Si.Med atas bimbingan, dan dukungan mengenai penelitian HRM aneuploidi ini.

Kepada dr. Stefani Harum S, M.Si.Med, dr. Ferdy K. Cayami, M.Si.Med, dr. Hesty Wahyuningsih, M.Si.Med yang telah memberi bantuan arahan mengenai teknis penelitian. Tak lupa saya ucapkan terima kasih pula kepada semua staf *Division of Human Genetics of Center for Biomedical Research (CEBIOR)*, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia untuk asistensi dan bimbingan selama studi saya: Rita Indriati, Lusi Suwarsi, Wiwik Lestari, Dwi Kustiani, Inthus Apriasa, Evi Nurwulan. Terima kasih sedalam-dalamnya juga kepada Dina Ardiana, S. Sos sebagai staf Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik Konsentrasi Konseling Genetika yang telah banyak meluangkan waktu dan membantu saya dalam mengurus masalah administrasi.

Saya juga ingin mengungkapkan terima kasih kepada Prof. George SH Yeo, Kepala Bagian Obstetri dan Konsultan Senior Departemen Fetomaternal Kandang Kerbau Women's and Children's Hospital (KKH) Singapore, dr. Angeline Lai, Kepala dan Konsultan Senior Departemen Pediatri, Pelayanan Genetik, untuk bimbingan dan kesempatan sehingga saya dapat melihat proses pelayanan konseling genetik di KKH. Terima kasih kepada Prof. Law Hai Yang, DPhil, Kepala Laboratorium Diagnostik & Penelitian DNA di KKH untuk dapat melakukan penelitian di laboratoriumnya. Terima kasih kepada dr. Tan Yuen Ming, PhD, penanggung jawab laboratorium, dan semua staff laboratorium untuk bimbingan dan kesabaran selama penelitian saya di laboratorium KKH.

Tak terkecuali saya ucapkan beribu terima kasih kepada semua sahabat-sahabat saya, mahasiswa-mahasiswa yang termasuk dalam Angkatan ke-6 Program

Konseling Genetika ini, Ziske Maritska, Ariestya Indah, Donny Nauphar, Isna Rahmia Fara, Venty Muliana Sari, Almira Zada, Gara Samara Brajadenta, dan Zuhrofi Muzar; angkatan ke-7 Program Konseling Genetika Nura Eky Vikawati, Mitayani, Widya Eka Nugraha. Terima kasih untuk segala pengalaman yang kalian bagikan, dukungan dan kekuatan yang telah diberikan kepada saya sehingga dapat menyemangati saya dalam penyelesaian studi ini.

Terima kasih yang setulus-tulusnya untuk suami saya dr. R.Fidiaji Hiltono Santoso yang tak henti-hentinya memberikan saya dukungan untuk menyelesaikan studi saya, juga kepada orang tua saya S.Sumaryanto, ST, dan Erniyati, mertua saya H. R. Tjiptadji, ST, dan drs. Hj. Fedia Lely, serta adik-adik saya dr. Mutiara Retno Anjani, Nibras Noor Fitri, M. Fachri Mubarak, atas kesabaran, doa dan dukungannya yang tiada akhir kepada saya.

Penelitian ini didanai oleh RISBIN IPTEKDOK 2014 (di bawah binaan Badan Litbangkes Kementerian Kesehatan Republik Indonesia)

DAFTAR ISI

JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR SINGKATAN	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR ISTILAH	xx
ABSTRAK (BAHASA INDONESIA)	xxiii
ABSTRAK (ENGLISH)	xxiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan umum penelitian	4

1.3.2 Tujuan khusus penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Originalitas Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Insidensi Sindrom Down.....	8
2.2 Resiko Trisomi 21	9
2.2.1 Kelainan jumlah kromosom (aneuploidi).....	9
2.2.2 Kelainan struktur kromosom.....	11
2.3 Down Syndrome Critical Region	12
2.4 Karakteristik Klinis Sindrom Down	13
2.5 Diagnosis dan <i>Prenatal Screening</i> Sindrom Down	14
2.6 Metode analisis molekuler trisomi 21	16
2.6.1 Fluorescence In Situ Hybridization.....	17
2.6.2 Quantitative Fluorescence PCR	17
2.6.3 Multiple Ligation Dependent Probe Amplification	20
2.7 Segmental Duplication - HRM analysis	21
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	25
3.1 Kerangka Teori.....	25
3.2 Kerangka Konsep	26

3.2	Hipotesis Penelitian.....	26
BAB 4	METODOLOGI PENELITIAN.....	27
4.1	Aspek Penelitian.....	27
4.1.1	Ruang Lingkup Penelitian.....	27
4.1.2	Periode dan Tempat Penelitian	27
4.1.3	Desain Penelitian.....	27
4.2	Materi	27
4.2.1	Populasi	27
4.2.2	Sampel.....	28
4.2.2.1	Kriteria Inklusi Kasus	28
4.2.2.2	Kriteria Eksklusi Kasus.....	28
4.2.2.3	Kriteria Inklusi Kontrol.....	28
4.2.2.4	Kriteria Eksklusi Kontrol	28
4.2.2.5	Estimasi Sampel	28
4.3	Metode.....	29
4.3.1	Pengumpulan sampel	29
4.3.2	Metode Laboratorium	29
4.3.2.1	Desain Primer.....	30
4.3.2.2	Kuantifikasi DNA	31
4.3.2.3	Amplifikasi dan High Resolution Melting	31

4.3.2.4 Analisis kurva	32
4.4 Variabel penelitian	32
4.5 Definisi Operasional.....	32
4.6 Analisis data	33
4.7 Alur penelitian.....	36
4.8 Etik Penelitian.....	37
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	38
5.1 Karakteristik Sampel.....	38
5.2 Analisis Hasil SD-HRM.....	39
5.3 Sensitivitas dan spesifisitas SD-HRM	42
5.4 Deteksi Mosaik Sindrom Down	43
BAB 6 PEMBAHASAN.....	46
6.1 Pembahasan.....	46
6.2 Keterbatasan Penelitian.....	51
6.3 Aspek Konseling Genetika.....	52
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
7.1 Kesimpulan	54
7.2 Saran.....	54

RINGKASAN	55
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Ideogram kromosom	13
Gambar 2 Kariotipe dari metafase kromosom Sindrom Down	16
Gambar 3 Demonstrasi Sindrom Down menggunakan FISH	17
Gambar 4 Deteksi kontaminasi maternal dengan QF-PCR	19
Gambar 5 Hasil QF-PCR pada sampel trisomi 21	19
Gambar 6 Ilustrasi prinsip metode MLPA	20
Gambar 7 Konsep duplikasi segmental untuk pembuatan primer	22
Gambar 8 Rasio berbeda dari dosis kromosom normal dan trisomi.....	22
Gambar 9 Hasil yang diharapkan dari SD-HRM.....	23
Gambar 10 Resolusi analisis SD-HRM	24
Gambar 11 Letak sekuens primer T21-1 dan T21-2 pada kromosom 21	31
Gambar 12 Letak sekuens primer T21 pada kromosom 7 dan 12	31
Gambar 13 Analisis kurva SD-HRM dari sampel trisomi 21 dan kontrol normal	40
Gambar 14 Analisis kuantifikasi rasio mosaik sampel campuran SD-HRM	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Sertifikat Ethical Clearance.....	65
Lampiran 2	Hasil SD-HRM sampel trisomi 21 dan kontrol normal.....	66
Lampiran 3	Keluaran analisis statistik dengan SPSS 17.0.....	105
Lampiran 4	Perhitungan Parameter Diagnostik	106

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Daftar penelitian sebelumnya mengenai uji diagnostik dengan segmental duplication untuk mendeteksi kelainan jumlah kromosom.....	6
Tabel 2 Jenis-jenis Kelainan Kromosom.....	11
Tabel 3 Triple Screen atau Quad screen.....	15
Tabel 4 Siklus thermal qPCR-RHRM.....	32
Tabel 5 Crosstab 2x2 untuk uji diagnostik SD-HRM	34
Tabel 6 Distribusi sampel menurut jenis kelamin	38
Tabel 7 Distribusi sampel menurut kariotipe	38
Tabel 8 Interpretasi genotipe hasil SD-HRM trisomi 21 dan kontrol	41
Tabel 9 Sensitivitas dan spesifisitas diagnostik SD-HRM	42
Tabel 10 Parameter nilai diagnostik SD-HRM	42
Tabel 11 Nilai interval kepercayaan 95% pemeriksaan T21-1 dan T21-2.....	43
Tabel 12 Hasil SD-HRM pada sampel fenotipe Sindrom Down kariotipe mosaik....	44
Tabel 13 Interpretasi genotipe hasil SD-HRM sampel campuran mosaik	45
Tabel 14 Rangkuman teknik-teknik prenatal diagnostik dalam mendeteksi kelainan kromosom numerikal	50

DAFTAR SINGKATAN

AUC	<i>Area Under Curve</i>
β -hCG	<i>β-human chorionic gonadotropin</i>
CVS	<i>Chorion villus sampling</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
DSCR	<i>Down syndrome critical region</i>
FTS	<i>First trimester screening</i>
<i>G-banding</i>	<i>Giemsa banding</i>
FISH	<i>Fluorescence in situ hybridization</i>
Kb	<i>Kilo basepair</i>
Mb	<i>Mega basepair</i>
MLPA	<i>Multiplex ligation-dependent probe amplification</i>
MSAFP	<i>Maternal serum alpha feto protein</i>
NDN	Nilai Duga Negatif
NDP	Nilai Duga Positif
PAPP-A	<i>pregnancy-associated plasma protein A</i>
QF-PCR	<i>Quantitative fluorescence polymerase chain reaction</i>
qPCR	<i>Quantitative real-time polymerase chain reaction</i>
RKP	Rasio Kemungkinan Positif
RKN	Rasio Kemungkinan Negatif
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SD	Sindrom Down
SD-HRM	<i>Segmental duplication-High Resolution Melting</i>
STR	<i>Short tandem repeats</i>
STS	<i>Second trimester screening</i>
Ue3	<i>unconjugated estriol</i>

DAFTAR ISTILAH

Aneuploidi	Jumlah kromosom yang tidak 23 pasang, karena hilangnya satu kromosom atau lebih pada satu pasang kromosom ; atau bertambahnya jumlah kromosom pada satu pasang kromosom dari jumlah yang seharusnya. Aneuploidi terjadi pada kromosom autosom ataupun gonosom (kromosom kelamin). Paling banyak terjadi karena kesalahan <i>non-disjunction</i> meiosis pada saat pembentukan gamet.
Autosom	Kromosom yang bukan merupakan seks kromosom. Manusia normal memiliki 22 pasang autosom.
Kromosom	Struktur linear yang terdiri dari dua untai DNA. Manusia normal memiliki 46 kromosom (23 pasang).
HRM	Teknik post PCR dimana target yang telah teramplifikasi ditingkatkan suhunya dalam peningkatan yang kecil sehingga terjadi denaturasi dan diperoleh kurva leleh (<i>melting curve</i>)

Hibridisasi DNA	Berikatannya probe DNA berlabel dengan sekuens target
Kariotipe	Fotomikrograf dari kromosom individual, secara sistematis tersusun dalam 23 pasang.
Monosomi	Suatu bentuk aneuploidi dimana terjadi absensi satu kromosom dari pasangannya.
Mosaik	Dua atau lebih galur sel berbeda dalam individu atau jaringan yang sama
PCR	Proses amplifikasi daerah tertentu dari cetakan DNA (<i>template</i>) dengan bantuan enzim DNA polimerase, yang terdiri atas beberapa siklus (biasanya 20 hingga 40 siklus).
Perubahan jumlah kromosom	Jumlah kromosom yang tidak 46 (23 pasang) dapat terjadi penambahan (seperti trisomi), maupun pengurangan (seperti monosomi). Dapat terjadi pada autosom maupun kromosom seks.
Perubahan struktur kromosom	Jumlah kromosom 46 dimana segmen kromosom hilang (delesi), bertambah (insersi), atau bertukar (translokasi atau inversi)
Trisomi	Suatu bentuk aneuploidi dimana terdapat tambahan satu kromosom pada sebuah pasangan kromosom (menjadi triplet).

Segmental duplication-HRM

Metode HRM dengan menggunakan duplikasi fragmen DNA yang mengandung sekuens dengan *high-copy repeats* (kesamaan tinggi) pada 2 lokus kromosom berbeda dengan hanya perbedaan beberapa basa saja.

Sekuensing

Metode penentuan urutan basa nukleotida DNA.

**DETEKSI CEPAT KELAINAN KROMOSOM 21 NUMERIKAL
DENGAN METODE *SEGMENTAL DUPLICATION-HIGH RESOLUTION
MELTING ANALYSIS* UNTUK APLIKASI PRENATAL DIAGNOSIS**

An Nisaa Utami Tihnulat

ABSTRAK

Latar Belakang: Kelainan kromosom numerikal (aneuploidi) menyebabkan sejumlah sindrom, salah satu yang paling umum terjadi adalah Sindrom Down (trisomi 21). Sindrom-sindrom ini menyebabkan disabilitas intelektual berat, dan berbagai kelainan seumur hidup. Karena itu, prenatal diagnosis penting untuk memprediksi aneuploidi. *Karyotyping* merupakan baku emas sejak lama namun memiliki kekurangan seperti membutuhkan kultur (sekitar 10-14 hari), risiko gagal kultur, kontaminasi eksternal, dan padat karya. Metode-metode molekuler telah dikembangkan untuk deteksi cepat aneuploidi, salah satunya adalah *Segmental Duplication-High Resolution Melting Analysis (SD-HRM)*.

Metode: Studi ini menggunakan 2 set primer duplikasi segmental, yakni sekuens serupa yang terletak pada kromosom berbeda (kromosom 21,7, dan 12). Dosis duplikasi segmental yang ditargetkan pada aneuploidi (trisomi), setelah teramplifikasi akan memengaruhi kurva leleh (*melting curve*) sehingga berbeda dari sampel euploidi (normal). Penelitian ini menggunakan sampel Sindrom Down (n=57) yang terdiri dari trisomi klasik (n=53), mosaik (n=4), serta kontrol normal (n=30) yang telah dikonfirmasi dengan *karyotyping* sebelumnya.

Hasil: SD-HRM memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi (100%, masing-masing) (IK 95%=1.0), menyerupai akurasi diagnosis *karyotyping* sebagai baku emas. Sampel trisomi 21 dapat terdiferensiasi dengan jelas terhadap kontrol normal. Sampel trisomi 21 mosaik juga terdeteksi positif dengan SD-HRM. Analisis kuantifikasi dengan pendekatan sampel mosaik campuran menunjukkan bahwa SD-HRM dapat mendeteksi sampel mosaik sekurang-kurangnya 20% DNA abnormal.

Kesimpulan: SD-HRM dapat mendeteksi kelainan kromosom numerikal secara cepat, sensitif, dan hemat biaya sehingga memenuhi untuk digunakan sebagai metode skrining prenatal diagnosis.

Kata Kunci: *karyotyping*; kelainan jumlah kromosom; prenatal diagnosis; SD-HRM

**RAPID ANEUPLOIDY DETECTION OF CHROMOSOME 21
BY SEGMENTAL DUPLICATION OF HIGH-RESOLUTION MELTING
ANALYSIS FOR PRENATAL DIAGNOSIS**

An Nisaa Utami Tihnulat

ABSTRACT

Background: Chromosomal aneuploidy cause a number of syndromes, the most common is Down Syndrome (trisomy 21). These syndromes cause severe intellectual disability, and many abnormality for lifetime. Thus, prenatal diagnosis is important to predict these aneuploidy. Karyotyping has been known as a gold standard for chromosomal abnormality detection, however, it has some disadvantages such as time consuming (about 10-14 days of culture process), culture failure, external contamination, and labour intensive. Molecular methods has been developing for rapid aneuploidy detection, such as *Segmental Duplication-High Resolution Melting Analysis* (SD-HRM).

Methods: This study used 1 primer set containing 2 pairs of primer for segmental duplication, which are similar sequences located on different chromosomes (chromosome 21,7, and 12). Dosage of segmental duplication targeted on aneuploidy (trisomy), when amplified will affect the melting profile and produce different melting curve compare to the euploid sample (normal). This study used peripheral blood DNA of unaffected control (n=30), Down syndrome individuals (n=57) which had been confirmed as classic trisomy (n=53), and mosaic (n=4) with cytogenetic karyotyping.

Results: SD-HRM attained high sensitivity and specificity (100%, respectively) (CI 95%=1.0), equal with karyotyping diagnostic accuracy as gold standard. Trisomy 21 samples clearly differentiated with unaffected control. Mosaic trisomy 21 also detected as positive with SD-HRM. Quantification analysis using mixed mosaic samples approach showed that SD-HRM could detect mosaic sample until 20% abnormal DNA.

Conclusion: SD-HRM able to detect aneuploidy with fast, sensitive, and cost-effective thus meet the demand to be used as method for prenatal diagnosis screening.

Key words: aneuploidy; karyotyping; prenatal diagnosis;SD-HRM