

**HUBUNGAN VARIASI GENETIK
SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM 276 G-T
TERHADAP KADAR ADIPONEKTIN
PADA SUBYEK OBES**

**SYAHRUL MUBARAK
N121 05 038**



NO. SKRIPSI	31-8-09
NAMA	farah
ALAMAT	1 uls
TEMPAT	hndit
NO. HALAMAN	27
NO. SKRIPSI	SKR-F09

MUB
h

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**

**HUBUNGAN VARIASI GENETIK
SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM 276 G-T
TERHADAP KADAR ADIPONEKTIN
PADA SUBYEK OBES**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat – syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**SYAHRUL MUBARAK
N121 05 038**

**PROGRAM KONSENTRASI
TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**

HUBUNGAN VARIASI GENETIK
SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM 276 G-T
TERHADAP KADAR ADIPONEKTIN PADA
SUBYEK OBES

SYAHRUL MUBARAK

N121 05 038

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama,



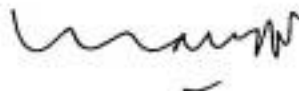
Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt
NIP. 19750925 200112 1 002

Pembimbing Pertama,



Drs. Agus Sulaeman, M.Si, Apt
NIK. 9409000489

Pembimbing Kedua,



dr. Mansyur Arif, Ph.D, Sp.PK.(K)
NIP. 140 350 395

Pada Tanggal: Agustus 2009

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian hubungan variasi genetik SNP 276 G –T terhadap kadar adiponektin pada subyek obes. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan hubungan antara variasi genetik SNP 276 G –T terhadap kejadian obesitas. Penelitian *cross sectional* menggunakan data retrospektif yang diambil dari pasien check up di Laboratorium Klinik Prodia yang memenuhi kriteria eksklusi dan inklusi. Diagnosa obesitas ditentukan dari pengukuran lingkar perut, adiponektin diukur dengan menggunakan metode enzimatik dan SNP 276 di ukur dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Dari 40 pasien check up, 18 pasien genotip wildtipe (G/G), 15 pasien genotip heterozigot (GT/TG), dan 7 pasien genotip homozigot (T/T). Pada pasien genotip wildtipe (G/G) diperoleh kadar adiponektinnya $2,35 \pm 0,43$, genotip heterozigot adiponektinnya $3,41 \pm 0,88$, dan genotip homozigot adiponektinnya $4,46 \pm 1,64$. Terdapat variasi genetik diposisi 276 gen adiponektin. Variasi genetik SNP 276 G-T tidak berhubungan secara langsung dengan obesitas, namun berhubungan kuat dengan peningkatan kadar adiponektin pada subyek obes.

Kata kunci : obesitas, adiponektin, genetik SNP 276

ABSTRACT

It has been executed a research on the relationship between the variation of SNP 276 G-T gene and adiponectin level for obesity subject. This research intends to find the correlation between the variation of SNP 276 G-T gene and obesity case. *Cross Sectional* research used retrospective data taken from the patient who checked up and fulfilled exclusive and inclusive criteria at Prodia Clinic Laboratory. Obesity diagnose was determined from the measure of abdominal cycle, while adiponectin was measured by using enzymatic method, and SNP 276 was measured with *Polymerase chain reaction* method (PCR). Among 40 of checked up patients, 18 patients with wild type genotype (G/G), 15 patients with heterozygote genotype (GT/TG), and 7 patients with homozygote genotype (T/T). Adiponectin level of the patients of wild type genotype (G/G) were 2.35 ± 0.43 , their adiponectin of heterozygote genotype were 3.41 ± 0.88 , their adiponectin homozygote genotype were 4.46 ± 1.64 . There is a genetic variation on 276 position of adiponectin gene. Genetic variation of SNP 276 G – T has no a direct correlation with obesity. It has, however, a strong relation with the improvement of adiponectin level on obesity subject.

Keyword: obesity, adiponectin, SNP 276 gene

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, salam dan salawat kepada Rasul-Nya yang mulia Muhammad SAW, keluarga, para sahabatnya dan seluruh kaum muslimin hingga akhir zaman.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Teknologi Laboratorium Kesehatan di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini tidak akan terselesaikan tanpa bantuan berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada :

1. Dekan Fakultas Farmasi UNHAS atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan di Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan.
2. Ketua Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan beserta seluruh staf atas bimbingan serta asuhannya selama penulis menjalani pendidikan.
3. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D, Apt sebagai pembimbing utama, Drs. Agus Sulaeman, M.Si, Apt, sebagai pembimbing pertama, dan dr. Mansyur Arif, Ph.D., Sp.PK(K), sebagai pembimbing kedua dengan sabar telah memberikan bimbingan, arahan, dorongan dan berbagai ide selama proses penulisan skripsi.

4. Bapak Drs A. Ilham Makhmud. Dip.Sc sebagai penasehat akademik dan atas bantuan, kritik dan sarannya selama penulis menjalani masa pendidikan.
5. Dosen - dosen yang amat penulis hormati di Bagian Teknologi Laboratorium Kesehatan dan Farmasi UNHAS yang telah banyak membimbing penulis selama masa pendidikan sampai penulisan karya akhir ini.
6. Manajemen PT Prodia Widyahusada yang telah memfasilitasi penelitian dari awal sampai selesainya tulisan, kepada tim Laboratorium klinik Prodia wilayah VIII, cabang Makassar, dan Jakarta yang telah banyak membantu selama penelitian berlangsung.
7. Seluruh rekan seperjuangan peserta Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan angkatan 2005, Senior D3, dan adik-adik angkatan atas bantuan, support, persahabatan dan kerjasama yang baik selama masa pendidikan penulis.
8. Sahabatku Edhy Rusadhy yang telah tulus dan ikhlas dalam memberikan dorongan dan batuan selama awal pendidikan sampai penulisan karya akhir ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu, yang telah banyak memberikan support dan bantuan selama masa pendidikan.

Akhirnya saya persembahkan kepada ayahanda Lammi Nikka dan ibunda Najemiah serta saudara-saudara (i) yang sangat saya cintai dan

hormati dengan tulus mendidik dan mendoakan saya tanpa kenal lelah agar menjadi manusia yang berguna serta dorongan dengan penuh kasih sayangnya selama ini tak lupa saya ucapkan banyak terima kasih.

Semoga karya tulis ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan, dengan diberkati oleh Allah SWT tuhan semesta alam yang maha pengasih lagi penyayang.

Makassar, Agustus 2009

Syahrul Mubarak

DAFTAR ISI

	halaman
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Obesitas	4
II.1.1 Jaringan Adipose	7
II.2 Adiponektin.....	9
II.3 Gen adiponektin.....	14
II.4 Landasan Teori.....	17
II.5 Kerangka Teori	18
II.6 Kerangka Konsep	18
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	19
III.1 Jenis Penelitian.....	19
III.2 Tempat dan Waktu Penelitian	19

III.3 Populasi dan Sampel Penelitian	19
III.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	19
III.5 Besar Sampel	20
III.6 Defenisi Operasional	20
III.7 Metode Pengumpulan Sampel.....	21
III.8 Metode Pengumpulan Data	22
III.9 Cara Pemeriksaan.....	22
III.9.1 Pengukuran Lingkar Perut	22
III.9.2 Penetapan Kadar Adiponektin dalam Darah	23
III.9.2.1 Persiapan Pasien.....	23
III.9.2.2 Prinsip Penetapan Kadar Adiponektin.....	23
III.9.2.3 Prosedur Kerja	24
III.9.3 Pemeriksaan Genotipe Adiponektin SNP 45.....	25
III.9.3.1 Ekstraksi	26
III.9.3.2 Amplifikasi	27
III.9.3.3 Deteksi Elektroforesis	28
III.9.3.4 RFLP	29
III.9.3.5 Deteksi Elektroforesis	29
III.10 Pengolahan dan Analisis Data.....	30
III.11 Skema Kerja	31
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
IV.1 Gambaran Umum Populasi Sampel	32
IV.2 Variasi genetik SNP 276 G-T dan Obesitas.....	34

IV.2.1 Genotip Polimorfisme dan Obesitas	36
IV.3 Variasi genetik SNP 276 G-T dan Adiponektin	37
IV.3.1 Genotipe Polimorfisme dan Adiponektin	39
IV.4 Hubungan antara variabel penelitian	40
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	43
V.1 Kesimpulan	43
V.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Pembuatan master mix untuk tahap amplifikasi	27
2. Pembuatan master mix untuk tahap RFLP	29
3. Gambaran umum populasi sampel	32
4. Distribusi subyek obes berdasarkan lingkar perut dan variabel umur	33
5. Karakteristik variabel penelitian pada subyek obes	34
6. Distribusi subyek obes dan variasi genotip	34
7. Uji beda kelompok variabel genotip 276 terhadap obesitas.....	36
8. Distribusi subyek obes terhadap genotip polimorfisme dan genotip wildtipe	37
9. Distribusi sampel dengan variabel adiponektin dan genotipe	37
10. Uji beda kelompok variabel genotipe 276 terhadap kadar adiponektin	39
11. Distribusi sampel dengan variabel adiponektin dan genotipe polimorfisme dan genotipe wildtipe	40
12. Hubungan antara variabel penelitian.....	41
13. Interaksi antar variabel genetik terhadap obesitas dan adiponektin	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Adipokin-adipokin proinflamasi dan antiinflamasi	8
2. Infiltrasi makrofag dalam jaringan adiposa dan inflamasi	9
3. Obesitas, resistensi adiponektin dan resistensi insulin	11
4. Mekanisme aksi adiponektin pada otot dan hati.....	12
5. Mekanisme aksi adiponektin pada sel endotel	13
6. Posisi SNP 276 G-T pada gen adiponektin (AMP1)	14
7. Pengaruh alel G SNP 276 terhadap kadar adiponektin.....	15
8. Skema kerangka teori.....	18
9. Skema kerangka konsep.....	18
10. Skema kerja penelitian.....	31
11. Efek genotip SNP posisi 276 terhadap obesitas berdasarkan ukuran lingkar perut.....	35
12. Efek genotipe SNP 276 G-T terhadap kadar adiponektin.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Hasil penelitian pengukuran lingkar perut, adiponektin dan SNP 276	49
2. Table hasil pengolahan data dengan SPSS	50
3. Gambar alat mikroplate reader untuk pemeriksaan adiponektin.....	55
4. Gambar hasil pemeriksaan adiponektin	55
5. Alat dan bahan untuk ekstraksi	55
6. Gambar alat termocycler untuk amplifikasi.....	56
7. Gambar alat untuk deteksi DNA	56
8. Gambar hasil pemeriksaan PCR.....	56
9. Formulir persetujuan	57

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti
APM1	Adipose Most Abudant Gene Transcript 1
BMI	Body Mass Index
DM	Diabetes Melitus
ELISA	Enzyme Link Immunosorbent Acid
HISOBI	Himpunan Studi Obesitas Indonesia
hs CRP	High Sensitive C Reactive Protein
IDF	Internasional Diabetes Federation
IMT	Indeks Massa Tubuh
LDL	Low Density Lipoprotein
NCEP	National Cholesterol Education Program
NHANES	Health and Nutrition Survey
PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor-1
PCR	Polymerase Chain Reaction
PPAR	Peroxisome Proliferator Activated Reseptor
RFLP	Restricted Fragment Length Polymorphism
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TG	Trigliserida
TNF- α	Tumor Necrosis Factor α
WHO	World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

Obesitas merupakan keadaan patologis dengan terdapatnya penimbungan lemak yang berlebihan daripada yang diperlukan fungsi tubuh (menurut Mayer). Obesitas adalah kondisi kelebihan berat badan yang didefinisikan sebagai ukuran lipatan kulit yang melebihi 85% (menurut papalia). (1) Obesitas merupakan peningkatan total lemak tubuh, yaitu apabila ditemukan total lemak tubuh >25% pada pria dan >33% pada wanita. (2)

Indeks Massa Tubuh (IMT) memiliki korelasi positif dengan total lemak tubuh, tetapi IMT bukan merupakan indikator terbaik untuk obesitas. (3) Selain IMT, metode lain untuk pengukuran antropometri tubuh adalah dengan cara mengukur lingkar perut. (4) Parameter penentuan obesitas merupakan hal yang paling sulit dilakukan karena perbedaan *cutt of point* setiap etnis terhadap IMT maupun lingkar perut. (5) Sehingga *Internasional Diabetes Federation* (IDF) 2005 mengeluarkan kriteria ukuran lingkar perut berdasarkan etnis yakni untuk orang Asia ≥ 90 cm pada pria dan ≥ 80 cm pada wanita, untuk orang Eropa ≥ 94 cm pada pria dan ≥ 80 cm pada wanita. (6)

Keadaan obesitas terutama obesitas sentral berhubungan dengan inflamasi, sindrom metabolik, risiko penyakit kardiovaskular, resistensi insulin, dislipidemia aterogenik, diabetes tipe 2, hipertensi dan kanker. (7)

Jaringan adiposa bukan hanya sebagai tempat penyimpanan lemak lebih penting lagi karena sel lemak menghasilkan sejumlah sitokin yang secara kolektif dikenal sebagai *adipocine*. (8-9) Adipokin ini juga berperan aktif dalam keadaan fisiologis maupun patologis vaskuler. Sel lemak (adiposit) telah dibuktikan mengsekresi berbagai macam protein ke dalam sirkulasi. Protein ini secara kolektif disebut sebagai adipositokin yang sekarang lebih sering disebut sebagai adipokin, yaitu leptin, tumor nekrosis faktor (TNF)- α , plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), adipsin, resistin, dan adiponektin. (10)

Adiponektin adalah protein yang dikeluarkan oleh jaringan adipose yang dapat memperbaiki sensitivitas insulin, anti-inflamasi dan antiaterosklerosis. Hipoadiponektinemia dihubungkan dengan resistensi insulin, obesitas, sindrom metabolik, DM tipe 2, dan penyakit kardiovaskuler. Adiponektin memiliki aktivitas biologi sebagai antiaterogenik yang melindungi *remodeling* luka sel-sel vaskuler, adiponektin juga terbukti dapat menghambat ekspresi molekul adhesi. (11)

Berbagai penelitian membuktikan bahwa baik diabetes tipe-1 maupun tipe-2 mempunyai komponen kerentanan genetik (*genetic susceptibility*) yang cukup bermakna. Bilamana dalam kehidupan individu yang memiliki kerentanan genetik tinggi tersebut, kurang melakukan aktifitas fisik, mengkonsumsi komponen karbohidrat yang berlebihan, dan mengalami

peningkatan berat badan yang berlebihan, maka individu tersebut mempunyai risiko tinggi untuk menjadi diabetes. (12)

Adiponektin, yang berasal dari *adipocyte-protein*, adalah sebuah alat modulasi penting dari sensitivitas insulin dan peranannya dalam proses atherosclerosis. Gen adiponektin menjadi calon potensial mengalami risiko penyakit jantung koroner. (13)

Adiponektin gen terletak pada kromosom 3q27 merupakan tempat yang sensitif untuk DM tipe 2. Beberapa peneliti telah meneliti variasi genetik adiponektin terhadap kadar adiponektin serum, obesitas, resistensi insulin, dan DM tipe 2. Variasi yang paling umum adalah polimorfisme SNP 45 T-G pada exon 2 dan SNP 276 pada intron 2 pada orang obesitas di Jerman dan Swedia. (14)

Berdasarkan latar belakang seperti yang disebutkan di atas, maka diajukan beberapa rumusan masalah, yaitu :

1. Apakah ada variasi genetik SNP 276 G-T pada subyek obes yang diteliti ?
2. Apakah ada hubungan antara kadar adiponektin dan obesitas pada variasi genetik SNP 276 G-T ?

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui hubungan antara variasi genetik SNP 276 G-T dan kadar adiponektin pada keadaan obesitas.

Hipotesis dari penelitian ini ada hubungan antara variasi genetik SNP 276 G-T dan kadar adiponektin pada keadaan obesitas.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Obesitas

Obesitas adalah suatu akumulasi lemak dalam jaringan adiposa secara abnormal atau berlebihan, sampai suatu taraf menimbulkan gangguan kesehatan. (15) Selain faktor genetik dan mekanisme neuroendokrin, kelebihan berat badan ini berhubungan dengan energi dan asupan makanan serta kekurangan aktivitas fisik, sementara itu faktor sosial ekonomi dan budaya mempengaruhi pola makan dan aktivitas fisik serta berat badan. (16)

Berdasarkan studi epidemiologi yang dilakukan *The Ontario Survey of Health* tahun 1990, didapatkan prevalensi obesitas pada ras yang ada di Amerika 19,9 % pada pria kulit putih; 20,7 % pada kulit hitam; dan 20,6 % pada Amerika-Meksiko. Sementara studi berdasarkan usia, menyatakan bahwa terjadi peningkatan prevalensi obesitas mulai usia 20 sampai 60 tahun. (17) Data dari *National Health and Nutrition Survey* (NHANES) III, menyatakan bahwa prevalensi obesitas dan sindrom metabolik meningkat secara bermakna di Amerika Serikat. (18) Hasil riset terbaru dari Himpunan Studi Obesitas Indonesia (HISOBI) yang melibatkan lebih dari enam ribu orang, membuktikan bahwa prevalensi obesitas semakin meningkat, angka kejadian penyakit ini pada pria melonjak hingga mencapai 9,16 % dan wanita 11,02 %. (19)

Kumpulan lemak ini dapat merata atau pada bagian tertentu dalam jaringan adiposa, 2 jenis utama dari obesitas yang memberikan pengaruh yang berbeda terhadap *morbidity* dan *mortality* penyakit kardiovaskular yaitu sentral dan perifer. Bentuk obesitas sentral lebih banyak terdapat pada pria dan berisiko tinggi untuk penyakit kardiovaskular. (20)

Obesitas dapat terjadi karena adanya ketidakseimbangan energi untuk waktu yang lama, dimana asupan energi lebih besar dibandingkan energi yang dikeluarkan. (21-22) Persamaan keseimbangan energi adalah sederhana dan untuk menjaga berat badan yang stabil diperlukan keseimbangan antara energi yang masuk dan energi yang keluar. (23)

Obesitas biasanya merupakan suatu hasil kombinasi dari faktor genetik dengan gaya hidup yang tidak tepat. (24) Hal ini berkaitan erat dengan Peningkatan akumulasi lemak visceral (abdominal) yang merupakan risiko penyakit kardiovaskular, dislipidemia, hipertensi, stroke, dan diabetes type 2. Beberapa peneliti menunjukkan pada keadaan obesitas sentral menyebabkan perubahan metabolisme lipid dan glukosa. (25)

Keadaan obesitas yang menetap dapat meningkatkan lipogenesis dan menurunkan lipolisis, sehingga menghasilkan peningkatan lemak yang tersimpan di dalam jaringan adiposit. (26) Jika adiposit ini telah mencapai ukuran maksimal, maka adiposit tersebut akan mentransmisikan signal ke preadiposit dan menstimulasi pembentukan adiposit yang baru

untuk menyimpan kelebihan energi tersebut sehingga terjadi hiperplasia adiposit. (27)

Obesitas dapat dinilai dengan berbagai cara, metode yang lazim digunakan saat ini antara lain pengukuran IMT (Index Massa Tubuh), lingkar perut, serta perbandingan lingkar perut dan lingkar panggul. (24)

Diagnosis obesitas ditentukan dengan perhitungan indeks massa tubuh (IMT). Pengukuran berat badan saja tidak dapat digunakan untuk menentukan apakah seseorang tergolong obese atau tidak. Jadi pengukuran lemak tubuh sangat penting untuk menentukan derajat obesitas seseorang. Metode yang dapat digunakan untuk menentukan lemak tubuh sesuai dengan tujuan klinis adalah Indeks Massa Tubuh (IMT) atau *Body Mass Index* (BMI). Metode yang sering digunakan adalah dengan cara menghitung IMT, yaitu berat badan dalam kilogram dibagi dengan kuadrat tinggi badan dalam meter. (24)

World Health Organization (1998) mengklasifikasikan kriteria berat badan rendah jika BMI kurang dari 18.5 kg/m², berat badan normal jika BMI antara 18.5 – 24.9 kg/m², overweight atau berat badan berlebih jika BMI antara 25 - 29.9 kg/m² dan obesitas jika indeks massa tubuh diatas 30 kg/m². (28) Menurut HISOBI (Himpunan Studi Obesitas Indonesia), IMT (Indeks Massa Tubuh) 20-25 kg/m² dinyatakan normal, IMT 25-27 kg/m² dinyatakan kegemukan dan IMT > 27 kg/m² dinyatakan obes.

II.1.1 Jaringan adipose

Jaringan adiposa merupakan pengatur dari keseimbangan energi organisme, melalui mekanisme regulasi baik asupan makanan maupun energi yang dikeluarkan. (29) Hal tersebut tidak terlepas pada peranan jaringan adiposa sebagai organ endokrin yang mensekresikan sejumlah sitokin, sitokin tersebut dikenal sebagai adipokin yang berperan pada berbagai komplikasi metabolik dan vaskuler pada obesitas. (30)

Adiposit dulu dianggap hanya sebagai penyimpan energi yang inert, sekarang telah terbukti bahwa adiposit memiliki banyak fungsi yang diatur oleh mekanisme hormonal dan neuronal. (31) Perubahan massa jaringan *white adipose* mempengaruhi produksi hampir seluruh faktor yang disekresikan oleh jaringan adiposa. Faktor-faktor tersebut memiliki peran penting dalam berbagai proses biologis dan fisiologis meliputi asupan makanan, pengaturan keseimbangan energi (metabolisme gula dan lemak) *remodeling vaskuler*, dan pengaturan tekanan darah serta koagulasi. (32)

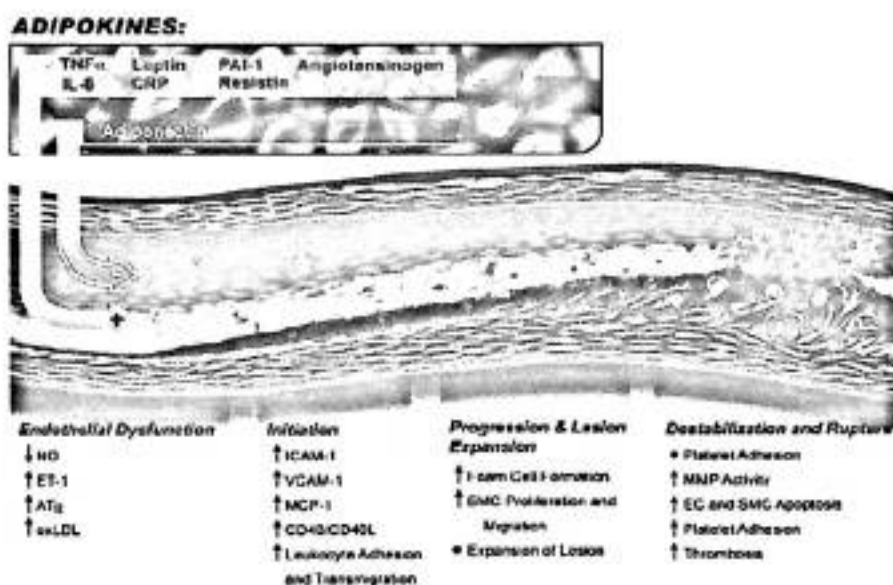
Beberapa substansi bioaktif (disebut sebagai adipositokin atau adipokin) yang disekresikan oleh jaringan adiposa dapat mempengaruhi fungsi metabolik, antara lain *leptin*, *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), *Interleukin-6* (IL-6), *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1), C- Reactive Protein (CRP), dan *resistin* sebagai faktor proinflamasi serta adiponektin sebagai faktor anti-inflamasi. (33)

II.1.1 Jaringan adipose

Jaringan adiposa merupakan pengatur dari keseimbangan energi organisme, melalui mekanisme regulasi baik asupan makanan maupun energi yang dikeluarkan. (29) Hal tersebut tidak terlepas pada peranan jaringan adiposa sebagai organ endokrin yang mensekresikan sejumlah sitokin, sitokin tersebut dikenal sebagai adipokin yang berperan pada berbagai komplikasi metabolik dan vaskuler pada obesitas. (30)

Adiposit dulu dianggap hanya sebagai penyimpan energi yang inert, sekarang telah terbukti bahwa adiposit memiliki banyak fungsi yang diatur oleh mekanisme hormonal dan neuronal. (31) Perubahan massa jaringan *white adipose* mempengaruhi produksi hampir seluruh faktor yang disekresikan oleh jaringan adiposa. Faktor-faktor tersebut memiliki peran penting dalam berbagai proses biologis dan fisiologis meliputi asupan makanan, pengaturan keseimbangan energi (metabolisme gula dan lemak) *remodeling vaskuler*, dan pengaturan tekanan darah serta koagulasi. (32)

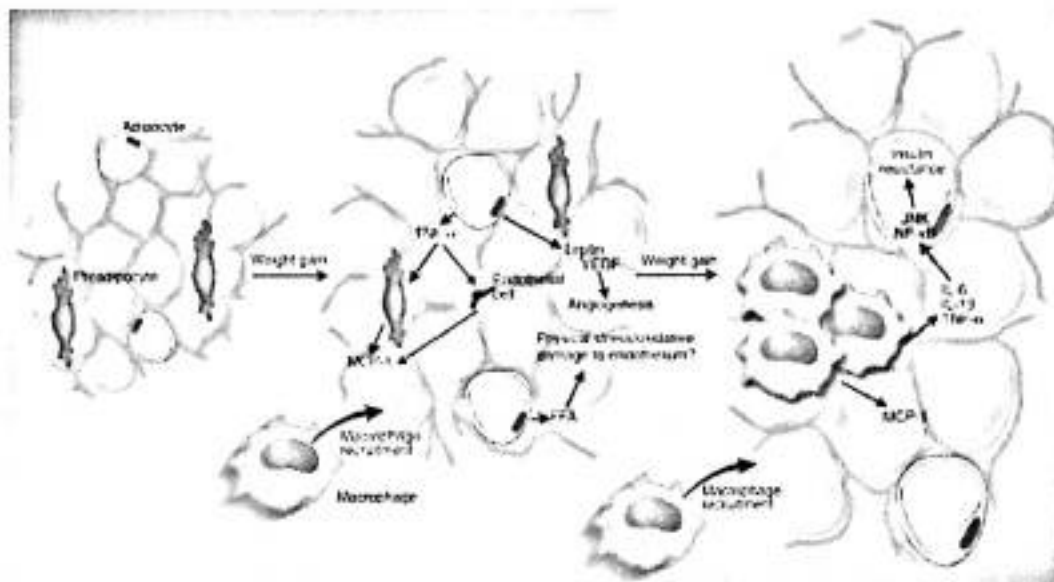
Beberapa substansi bioaktif (disebut sebagai adipositokin atau adipokin) yang disekresikan oleh jaringan adiposa dapat mempengaruhi fungsi metabolik, antara lain *leptin*, *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), *Interleukin-6* (IL-6), *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1), C- Reactive Protein (CRP), dan *resistin* sebagai faktor proinflamasi serta adiponektin sebagai faktor anti-inflamasi. (33)



Gambar 1. Adipokin-adipokin proinflamasi dan antiinflamasi (Sumber : Lau DCW, et al. 2005. Adipokines : Molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 288:H2031-H2041.)

Obesitas merupakan suatu keadaan inflamasi tingkat rendah dan kronis terutama pada jaringan *white adipose*. Kondisi ini dicirikan dengan produksi sitokin yang abnormal, meningkatnya protein fase akut dan aktivasinya jalur atau sinyal inflamasi. (31) Penemuan bahwa obesitas dikarakterisasikan adanya akumulasi makrofag pada jaringan *white adipose*. Akumulasi makrofag dalam jaringan adiposa tersebut dapat terjadi akibat adanya infiltrasi makrofag ke dalam jaringan adiposa dan adanya transdiferensiasi preadiposit menjadi makrofag. (34)

Pada obesitas, peningkatan jalur inflamasi dan metabolik ditegaskan dengan terjadinya tumpang tindih fungsi biologis antara makrofag dan adiposit. Adiposit juga dapat mengekspresikan "protein-protein makrofag" seperti TNF- α dan disisi lain makrofag dapat mengambil dan menyimpan lipid seperti sel busa. (35)



Gambar 2. Infiltrasi makrofag dalam jaringan adiposa dan inflamasi (Sumber : Wellen K, Hotamisligil GS. 2003. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest.* 112: 1785-1788.)

Akumulasi makrofag pada jaringan adiposa dapat meningkatkan sekresi sitokin seperti TNF- α , IL-1, IL-6 dan *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1) yang diketahui dapat menyebabkan resistensi insulin. Sitokin ini kemudian kembali mengaktifkan makrofag dan menyebabkan suatu mekanisme umpan balik. Sebagai konsekuensinya, signal insulin pada adiposit akan semakin terganggu yang pada akhirnya menyebabkan terjadinya resistensi insulin secara sistematis. (36)

II. 2 Adiponektin

Adiponektin adalah suatu peptida hormon dengan 247 asam amino yang hanya disekresikan oleh sel lemak / jaringan adiposa dan dikenal juga sebagai adiposit 30 kDa (*Acrp30*), *adipose most abundant gene transcript 1* (*apM1*), *adipoQ*, atau *Gelatin Binding Protein 28* (GBP28) ditemukan pada tahun 1995. Adiponektin ditemukan di dalam plasma

dalam bentuk *trimer*, *heksamer*, *high molekular weight* dan *low molekular weight* namun bentuk mana yang aktif secara biologi belum diketahui. (37-38) Fragmen globular adiponektin juga menampakkan suatu struktur yang homolog dengan TNF α , fungsi dari keduanya sangat bertentangan, yaitu TNF α sebagai proinflamasi dan adiponektin sebagai anti-inflamasi. (39)

Adiponektin meningkat sekresinya oleh *Insulin-like Growth Factor -1* (IGF-1) dan aktivasi reseptor nuklear *Peroxisome Proliferator-Activated Reseptor Gamma* (PPAR- γ) sebagai mediator dalam meningkatkan sensitivitas insulin dan konsentrasinya diturunkan oleh TNF α , glukokortikoid, dan agonis adrenogenik- β . (40)

Kadar adiponektin plasma pada penderita diabetes yang disertai dengan penyakit jantung koroner lebih rendah daripada pasien diabetes tanpa penyakit jantung koroner, hal ini mengisyaratkan adiponektin mungkin mempunyai fungsi sebagai anti-atherogenik. (22)

Obesitas, resistensi adiponektin dan resistensi insulin merupakan hal yang saling berhubungan. Konsentrasi plasma adiponektin akan menurun pada obesitas yang diperkirakan sebagai penyebab perkembangan dari resistensi insulin. Ekspresi dari adipoR1 dan AdipoR2 saling mempengaruhi dengan tingkat kegemukan.(41)

Kegemukan dapat mengurangi sensitivitas adiponektin yang pada akhirnya akan membawa ke resistensi insulin disebut dengan "*Vicious Cycle*". Selain adiponektin ekspresi adipoR1 dan adipoR2 juga perlu

dalam bentuk *trimer*, *heksamer*, *high molekular weight* dan *low molekular weight* namun bentuk mana yang aktif secara biologi belum diketahui. (37-38) Fragmen globular adiponektin juga menampakkan suatu struktur yang homolog dengan TNF α , fungsi dari keduanya sangat bertentangan, yaitu TNF α sebagai proinflamasi dan adiponektin sebagai anti-inflamasi. (39)

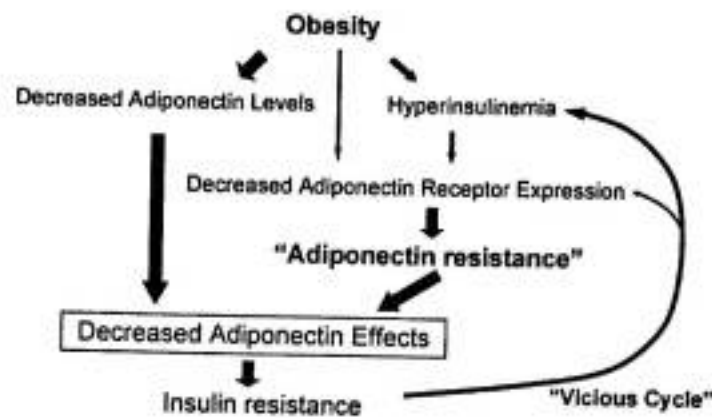
Adiponektin meningkat sekresinya oleh *Insulin-like Growth Factor -1* (IGF-1) dan aktivasi reseptor nuklear *Peroxisome Proliferator-Activated Reseptor Gamma* (PPAR- γ) sebagai mediator dalam meningkatkan sensitivitas insulin dan konsentrasinya diturunkan oleh TNF α , glukokortikoid, dan agonis adrenogenik- β . (40)

Kadar adiponektin plasma pada penderita diabetes yang disertai dengan penyakit jantung koroner lebih rendah daripada pasien diabetes tanpa penyakit jantung koroner, hal ini mengisyaratkan adiponektin mungkin mempunyai fungsi sebagai anti-atherogenik. (22)

Obesitas, resistensi adiponektin dan resistensi insulin merupakan hal yang saling berhubungan. Konsentrasi plasma adiponektin akan menurun pada obesitas yang diperkirakan sebagai penyebab perkembangan dari resistensi insulin. Ekspresi dari adipoR1 dan AdipoR2 saling mempengaruhi dengan tingkat kegemukan. (41)

Kegemukan dapat mengurangi sensitivitas adiponektin yang pada akhirnya akan membawa ke resistensi insulin disebut dengan "*Vicious Cycle*". Selain adiponektin ekspresi adipoR1 dan adipoR2 juga perlu

diperhatikan dalam pengobatan resistensi insulin dan diabetes type 2 serta penyakit kardiovaskular. (41)

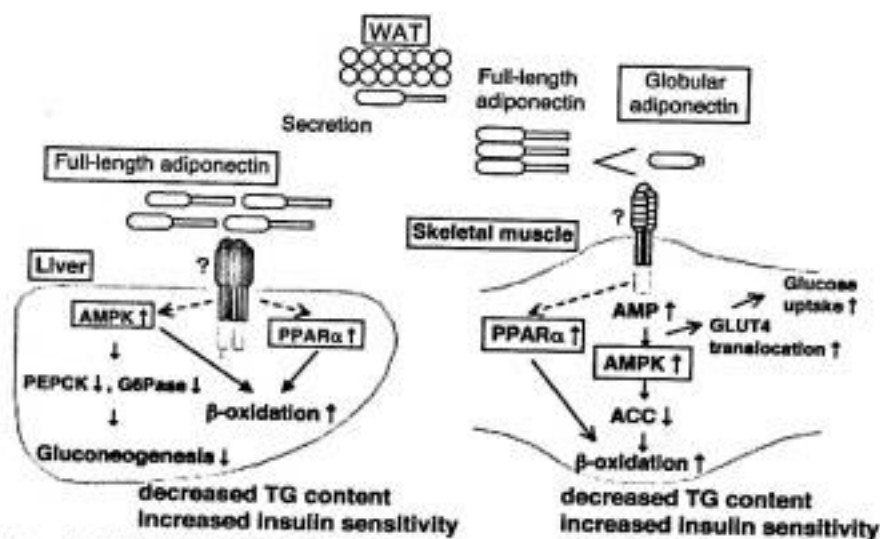


Gambar 3. Obesitas, resistensi adiponektin dan resistensi insulin (Sumber : Kadowaki T, Yamauchi T, 2005, Adiponectin and adiponectin receptor, *Endocrine Reviews* 26 (3) : 439-451)

Adiponektin berperan dalam anti inflamasi, ini menunjukkan bahwa adiponektin dapat memperbaiki dampak negatif dari TNF α terhadap fungsi endotel, tanpa perlu menghambat ikatan TNF α . Adiponektin dapat menekan perubahan inflamasi dengan menghambat fosforilasi inhibitory NF- κ B tanpa mempengaruhi aktifitas C- Jun N- terminal kinase, dan p38 yang diaktifasi oleh TNF α . Adiponektin juga telah dibuktikan dapat menghambat pembentukan koloni leukosit, menurunkan aktifitas fagositosis, dan menurunkan sekresi TNF α dari sel makrofag. Adiponektin berhubungan erat dengan vasodilatasi, kadar adiponektin memiliki korelasi positif dengan dilatasi arterial. (42)

Adiponektin merupakan suatu adipokin spesifik yang berperan pada homeostatis glukosa dan lipid. (40) Adiponektin globular dan adiponektin utuh menstimulasi fosforilasi dan aktivasi AMPK di otot polos melalui

reseptor adipoR1 dan adipoR2, sedangkan hanya adiponektin utuh yang bekerja di hati melalui reseptor adipoR2. Secara paralel menstimulasi AMPK mengakibatkan fosforilasi *acetyl-coenzym A carbokxylase* (ACC), menghasilkan asam laktat di miosit. Serta menyebabkan penurunan molekul yang terlibat dalam glukoneogenesis di hati. Aktivitas ini akan menurunkan akumulasi trigliserida dalam hati dan otot dan dapat meningkatkan sensitivitas insulin. (41)

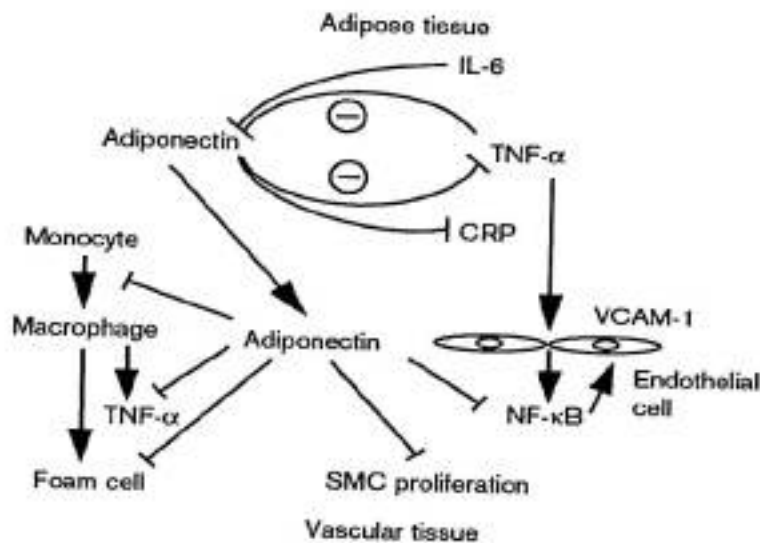


Gambar 4. Mekanisme aksi adiponektin pada otot dan hati (Sumber : Kadowaki T, Yamauchi T, 2005, Adiponectin and adiponectin receptor, *Endocrine Reviews* 26 (3) : 439-451)

Pemberian adiponektin dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan toleransi glukosa, dan dapat memperbaiki hiperglikemia pada penderita obes. (43) Aktivitas biologi adiponektin lainnya adalah antiaterogenik, melindungi *remodeling* luka sel-sel vaskular dan sebagai antiinflamasi. (44) Penelitian lebih lanjut menemukan bahwa hipoadiponektinemia berkorelasi pada individu dengan indeks massa tubuh (IMT) yang tinggi, sensitivitas insulin yang rendah, profil penanda biokimiawi lipid yang

kurang baik dan inflamasi yang meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular yang tinggi. (46)

Adiponektin berkorelasi secara signifikan sebagai vasodilator pada individu hipertensi, antidiabetik, anti aterogenik dan antiinflamasi, melalui pengatur *remodeling* vaskuler dan pengurangan reseptor inflamasi pada dinding vaskular. (37)

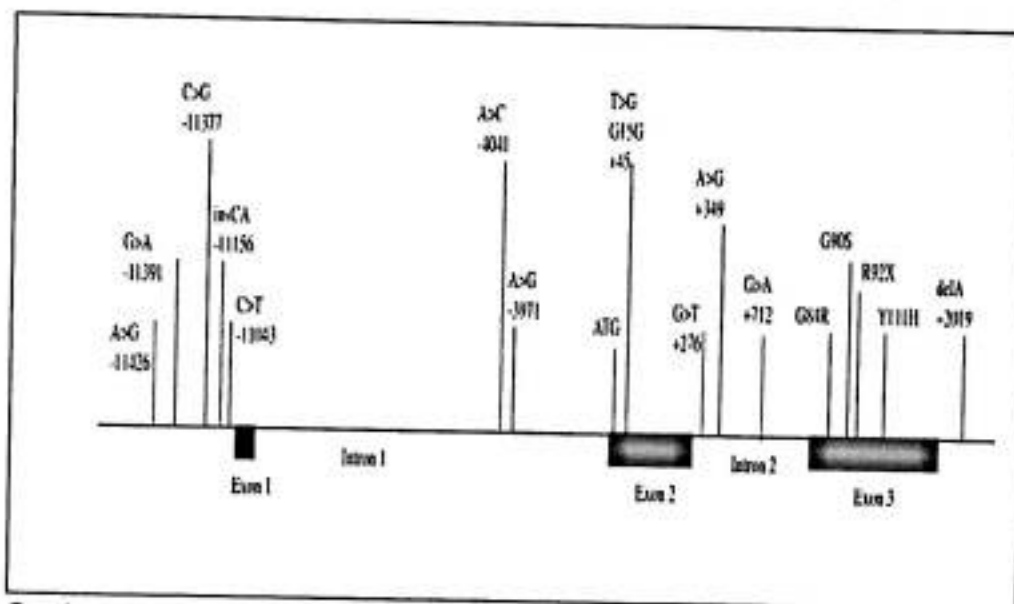


Gambar 5. Mekanisme aksi adiponektin pada sel endotel (Sumber : Kadowaki T, Yamauchi T, 2005, Adiponectin and adiponectin receptor, *Endocrine Reviews* 26 (3) : 439-451)

Metode untuk mengukur adiponektin adalah metode *enzym-linked immunosorbent assay* (ELISA) yang mengenali bentuk monomer. (22) Standart dan sampel dipipet pada sumur dan keberadaan adiponektin dalam serum yang terikat pada monoklonal antibodi tersebut menyebabkan perubahan warna. Intensitas warna kemudian diukur dengan menggunakan spektro untuk menilai adiponektin yang terikat.

II. 3 Gen adiponektin

Gen adiponektin di domain kolagen terdiri atas 3 exon dan 2 intron yang terdapat di kromosom 3q27, merupakan tempat yang sensitive untuk DM tipe 2.(32) Varian genetic pada gen adiponektin itu adalah gen yang mengkode protein yang mengatur sekresi adiponektin yang terkait dengan hipoadiponektinemia, resisten insulin dan diabetes Tipe 2. (39)

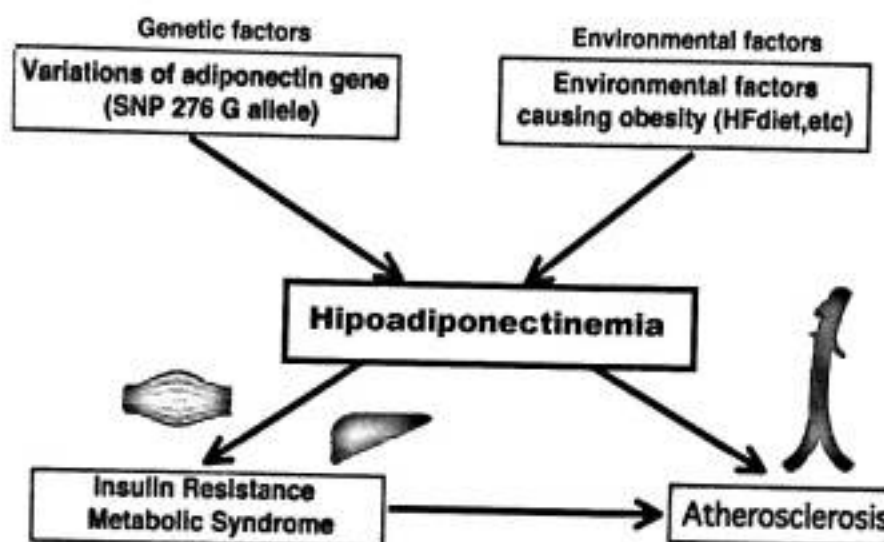


Gambar 6. Posisi SNP 276 G-T pada gen adiponektin (AMP1) (Sumber : Vasseur, F. (2002). *Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians*. Human Molecular Genetics. 11:21.

Faktor genetik menentukan mekanisme pengaturan berat badan normal melalui pengaruh hormon dan neural. Selain itu, faktor genetik juga menentukan banyak dan ukuran sel adiposa serta distribusi lemak tubuh. Tipe obesitas menurut pola distribusi lemak tubuh dapat dibedakan menjadi obesitas tubuh bagian atas dan obesitas tubuh bagian bawah.(2)

Hipoadiponektinemia berhubungan dengan resistensi insulin, sindrom metabolik dan atherosklerosis. Hipoadiponektinemia ini dapat

disebabkan oleh faktor genetik SNP 276 dari gen adiponektin itu sendiri dan perubahan gaya hidup yang menyebabkan kegemukan. Dari berbagai penelitian, kegemukan dan variasi genetik sangat kuat mempengaruhi konsentrasi adiponektin dalam plasma yang berperan penting dalam kerusakan sensitivitas insulin, diabetes type 2 dan atherosklerosis. (41)



Gambar 7. Pengaruh alel G SNP 276 terhadap kadar adiponektin (Sumber : Kadowaki T, Yamauchi T, 2005, Adiponectin and adiponectin receptor, *Endocrine Reviews* 26 (3) : 439-451)

Variasi genetik adiponektin yakni SNP 276 G-T berhubungan obesitas, sensitivitas insulin, DM tipe 2, dan penyakit arteri koroner. Haplotipe dari dua SNPs menunjukkan hubungan lebih kuat dengan obesitas, dan sindrom metabolik. Saat ini, diselidiki hubungan antara genotip 45-276 genetik adiponektin dengan konsentrasi adiponektin serum. (14)

Hara menemukan bahwa alel G pada posisi 276 berbanding lurus dengan konsentrasi adiponektin plasma yang lebih rendah hanya pada subyek yang mempunyai *Bobot Massa Ideal* (BMI) $\geq 26,7$. (47)

Genotip SNP 276 G dari gen adiponektin berhubungan kuat dengan konsentrasi adiponektin plasma yang rendah dan resistensi insulin yang tinggi pada orang obesitas, terlepas dari faktor lingkungannya. Karir alel G pada posisi 276 bisa berisiko penyakit kardiovaskular yang disebabkan oleh trigliserida puasa tinggi, konsentrasi LDL kecil, stress oksidasi, dan ukuran partikel LDL yang kecil, jadi penanda genetik dapat membantu mengidentifikasi subyek yang berisiko penyakit kardiovaskular. (47)

Pada beberapa penelitian menyimpulkan bahwa pasien diabetes tipe 2 dengan homozigot alel T pada posisi 276 dari gen adiponektin mempunyai resiko CAD yang lebih rendah dari pada karier alel G. efek proteksi ini lebih kuat terutama bila homozigot T/T dibanding dengan heterozigot G/T dan kurang terlihat dibanding dengan homozigot G/G. Penjelasan bagi fenomena ini adalah bahwa homozigot alel G 276 mempengaruhi akselerasi evolusi atherosklerosis. (48)

Teknik untuk melihat polimorfisme digunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dimana polimorfisme dalam genom organisme menggunakan suatu enzim pemotong tertentu (*restriction enzymes*). Karena sifatnya yang spesifik, maka enzim ini akan memotong situs tertentu yang dikenali oleh enzim ini. Proses ini menyebabkan terbentuknya fragmen-fragmen DNA yang berbeda ukurannya yang selanjutnya dilihat dengan elektroforesis. (49)

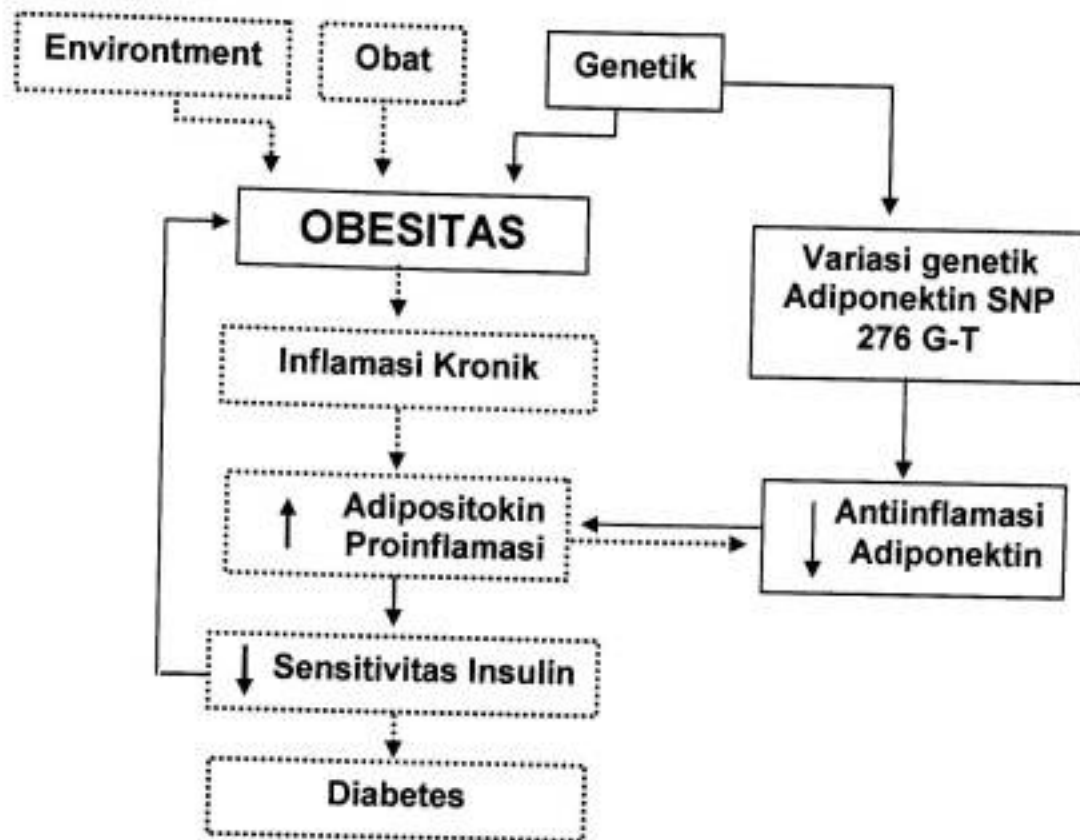
II.4 Landasan Teori

Pada individu yang mengalami obesitas akan terjadi inflamasi kronik terutama pada jaringan adiposa sehingga tubuh akan merespon melalui infiltrasi makrofag. Infiltrasi makrofag yang terjadi terus menerus akan terjadi akumulasi makrofag. Makrofag ini dapat meningkatkan adipositokin proinflamasi.

Peningkatan sitokin proinflamasi (soluble TNF- α reseptor II) akan memberi efek menekan antiinflamasi (adiponektin) yang dikeluarkan oleh sel adiposit sehingga akan mengganggu sensitivitas insulin yang dapat menyebabkan sindroma metabolik.

Selain peningkatan adipositokin proinflamasi yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan kadar adiponektin juga dapat disebabkan oleh variasi genetik adiponektin SNP 276 G-T.

II.5 Kerangka Teori



KET :

- = Bukan alur konsep penelitian
- = Alur konsep penelitian

Gambar 8. Skema kerangka teori

II.6 Kerangka Konsep



Gambar 9. Skema kerangka konsep

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan potong lintang (cross sectional).

III.2 Lokasi dan waktu penelitian

Tempat penelitian di Laboratorium Klinik Prodia Cabang Makassar dan Prodia Pusat Jakarta.

Waktu penelitian dimulai sejak bulan Januari 2009 sampai tercapai jumlah sampel yang diinginkan.

III.3 Populasi dan Subyek Penelitian

Populasi penelitian adalah individu yang menjalani *Medical Check Up* di Laboratorium Klinik Prodia di Makassar. Subyek penelitian adalah populasi penelitian yang telah memenuhi kriteria yang telah ditetapkan.

III.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi

- a. Pria berusia ≥ 30 tahun, obes (lingkar perut ≥ 90 cm).
- b. Bukan peminum alkohol.
- c. Subyek tidak mengkonsumsi *HMG-CoA reduktase, ACE inhibitor, aspirin*.

2. Kriteria Eksklusi

- a. Kadar hs-CRP > 10 mg/L.
- b. Penderita hepatitis B dan C.
- c. Subyek yang mempunyai kadar glukosa puasa ≥ 126 mg/dl dan sedang menjalani pengobatan diabetes.
- d. Subyek yang sedang melakukan program diet penurunan berat badan dengan atau tanpa obat.

III.5 Besar Sampel

Jumlah sampel penelitian didapatkan dengan cara mengambil subjek yang memenuhi kriteria definisi operasional sebanyak 40 orang.

III.6 Definisi Operasional

1. Umur : sesuai yang tertulis pada kartu identitas.
2. Obes menurut kriteria IDF 2005 ditandai dengan lingkar perut ≥ 90 cm pada laki laki.
3. Lingkar perut diukur dengan menggunakan meteran plastik. Lingkar perut diukur pada daerah perut pada pertengahan bagian bawah arcus costae dan krista iliaka dengan posisi kedua tungkai melebar 20 – 25 cm. Lingkar perut dinyatakan dalam sentimeter (cm).
4. Penderita hepatitis B dan C dan ditandai dengan hasil reaktif pada test HBsAg dan test anti HCV.

5. Kadar adiponektin adalah adiponektin dalam serum yang diukur dengan metode *Sandwich* ELISA dengan reagen *Daicchi International.Co* dan satuan yang digunakan $\mu\text{g/mL}$.
6. Variasi genetik adiponektin SNP 276 adalah pemeriksaan gen yang dilakukan dengan metode PCR dengan analisis pada posisi SNP 276 dimana terjadi substitusi G menjadi T.
7. Kadar glukosa puasa adalah kadar glukosa dalam serum dari darah sampel setelah berpuasa selama 10 – 12 jam diukur dengan metode *enzimatic heksokinase* (Roche) dan dinyatakan dalam satuan mg/dL .

Kriteria obyektif :

Seorang individu didiagnosis DM bila kadar glukosa darah puasa $>126 \text{ mg/dL}$ disertai keluhan poliuri, polidipsi dan polifagi. (Konsensus DM, Perkeni 2002).

8. Kadar hsCRP mewakili penanda inflamasi adalah kadar hsCRP dalam serum darah sampel yang diukur dengan tehnik *sensitive immunometric assay* (Diagnostic Products Corporation, DPC), yang dinyatakan dalam satuan mg/L .

Kriteria obyektif :

$\text{hsCRP} > 10 \text{ mg/L} = \text{inflamasi akut}$

III.7 Metode Pengumpulan Sampel

Pengumpulan sampel dilakukan dengan cara setiap pasien yang datang menjalani *Medical Check Up* selama kurun waktu penelitian di

Laboratorium Klinik Prodia Makassar yang memenuhi syarat inklusi dan eksklusi diatas, diambil sebagai subyek penelitian, sampai tercapai besar sampel yang diinginkan.

III.8 Metode Pengumpulan Data

1. Wawancara / anamnesis untuk memperoleh informasi tentang karakteristik dan keadaan umum subyek, yaitu usia, riwayat penggunaan obat penurun lemak, program penurunan berat badan, tidak meminum alkohol dengan menggunakan kuesioner yang telah disiapkan
2. Pemeriksaan fisik oleh dokter pemeriksa *Medical Check Up* untuk memperoleh informasi tentang lingkar perut.
3. Pemeriksaan laboratorium untuk mendapatkan kadar adiponektin, di Laboratorium Klinik Prodia Jakarta.
4. Pemeriksaan PCR untuk mengetahui variasi genetik adiponektin SNP 276 G – T di Laboratorium Biologi Molokuler Prodia Jakarta.

III.9 Cara Pemeriksaan

III.9.1 Pengukuran Lingkar perut

Obesitas menurut IDF 2005 ditandai dengan lingkar perut ≥ 90 cm pada laki laki. Lingkar perut diukur dengan menggunakan meteran plastik. Lingkar perut diukur pada daerah perut pada pertengahan bagian bawah *arcus costae* dan *krista iliaka* dengan posisi kedua tungkai melebar 20 – 25 cm. Lingkar perut dinyatakan dalam sentimeter (cm) .

III.9.2 Penetapan Kadar Adiponektin dalam darah

III.9.2.1 Persiapan Pasien

Pasien dianjurkan puasa selama 12 jam sebelum melakukan pemeriksaan adiponektin.

III.9.2.2 Prinsip Penetapan Kadar Adiponektin

Kadar adiponektin dalam serum yang diukur dengan metode *Sandwich* ELISA dengan *Reagen Daicchi International.Co* dan satuan yang digunakan $\mu\text{g/mL}$.

Prinsip Pemeriksaan : Untuk pemeriksaan "Total-Ad" :Spesimen diberi buffer asam yang mengandung SDS untuk mengubah adiponektin multimer menjadi bentuk dimer. Pada saat bersamaan, reaksi digestive protease dihentikan. *Well tes* dilapisi dengan *anti Human Adipo (MoAb)*. Larutan standar dan spesimen yang telah diberi perlakuan ditangkap oleh Ab pada inkubasi pertama. Setelah inkubasi pertama dan pencucian untuk membuang semua materi yang tidak terikat, ditambahkan MoAb berlabel biotin. Setelah inkubasi kedua dan pencucian berikutnya ditambahkan *streptavidin* berlabel HRP. Setelah inkubasi ketiga dan pencucian berikutnya, ditambahkan larutan substrat. Kemudian ditambahkan *stop reagent*. Intensitas warna yang terbentuk di baca dengan *mikroplate reader*. Absorbansi sebanding dengan konsentrasi adiponektin dalam sample.

III.9.2.3 Prosedur Kerja

- a. Sampel : Serum sebanyak 10 μ l
- b. Reagen : *Human Adipo ELISA kit cat 376405 for total & multimers*
- c. Kalibrator : Terdapat dalam kit
Penanganan : diencerkan 10 μ l kalibrator dengan 1000 μ l *dilution* buffer (1:101) buat pengenceran serial, dengan tahapan sebagai berikut :
 - Kalibrator dipipet 10 μ l kemudian ditambahkan buffer *dilution* sebanyak 1000 μ l
 - Larutan kalibrator sebanyak 150 μ l dimasukkan ke dalam tabung baru.
 - Larutan kalibrator dan *dilution buffer* masing-masing sebanyak 150 μ l dimasukkan ke dalam tabung baru dan diulangi hingga 7 tabung
- d. Alat : *Microplate Reader* λ 492 nm
- e. Langkah Kerja :
 - *Pretreatment* spesimen
Serum sebanyak 10 μ l ditambah dengan *protease buffer* sebanyak 100 μ l dan *sample pre-treatment buffer* sebanyak 400 μ l dan dihomogenkan (pengenceran 1 : 51)

- Pengenceran *Pretreatment* spesimen
Spesimen *pretreatment* sebanyak 10 μ l diencerkan dengan *dilution* Buffer sebanyak 1 ml (pengenceran 1 : 5151) kemudian dihomogenkan.
- Larutan blanko, standar, dan sampel masing-masing sebanyak 50 μ l dimasukkan ke dalam strip secara berurutan, diinkubasi selama 60 menit pada 20-30°C
- Larutan dicuci dengan *wash buffer* sebanyak 3 kali.
- Larutan ditambahkan *biotin labeled-MoAb* sebanyak 50 μ l dan diinkubasi selama 60 menit pada 20-30°C
- Larutan dicuci dengan *wash buffer* sebanyak 3 kali.
- Larutan ditambahkan *Enzyme labeled Streptavidin* sebanyak 50 μ l dan diinkubasi selama 30 menit pada 20-30°C
- Larutan dicuci dengan *wash buffer* sebanyak 3 kali.
- Larutan ditambahkan substrak *solution* sebanyak 50 μ l dan diinkubasi selama 10 menit pada 20-30°C
- Larutan ditambahkan *Stop Reagen* sebanyak 50 μ l.
- Pembacaan absorbansinya dengan alat *Microplate Reader* pada 492 nm

III.9.3 Pemeriksaan genotip adiponektin SNP 276

Pemeriksaan gen yang dilakukan dengan metode PCR dengan analisis pada posisi SNP 276 dimana terjadi substitusi G menjadi T.

III.9.3.1 Ekstraksi

- Sample : Buffy coat
- Reagen : QIAamp DNA Mini dan Blood Mini Kit (Qiagen)
- Prosedur Ekstraksi DNA :
 1. Larutan QIAGEN Protease atau proteinase K sebanyak 20 μ l dipipet ke dalam *tube microcentrifuge* 1,5 ml
 2. Sample sebanyak 200 μ l ditambahkan kedalam *tube microcentrifuge* 1,5 ml.
 3. Larutan buffer AL sebanyak 200 μ l ditambahkan kedalam sample dan dihomogenkan selama 15 detik lalu diinkubasi selama 10 menit pada 56°C.
 4. Larutan ethanol (96-100%) sebanyak 200 μ l ditambahkan ke dalam sample dan dihomogenkan.
 5. Campuran ini sebanyak 620 μ l dipindahkan ke *QIAamp mini spin columns*, disentrifuge pada 14000 rpm selama 1 menit. *collection tube* diganti dan filtratnya dibuang.
 6. Larutan buffer AW1 sebanyak 500 μ l ditambahkan kedalam *collection tube*, disentrifuge pada 8000 rpm selama 1 menit. filter dibuang, dan *collection tube* diganti.
 7. Larutan buffer AW2 sebanyak 500 μ l ditambahkan kedalam *collection tube*, disentrifuge pada 1400 rpm selama 3 menit.
 8. *Collectiontube* diganti dengan tabung *mikrocentrifuge* 1,5 ml, dan disentrifuge pada 14000 rpm selama 1 menit.

III.9.3.1 Ekstraksi

- Sample : Buffy coat
- Reagen : QIAamp DNA Mini dan Blood Mini Kit (Qiagen)
- Prosedur Ekstraksi DNA :
 1. Larutan QIAGEN Protease atau proteinase K sebanyak 20 μ l dipipet ke dalam *tube microcentrifuge* 1,5 ml
 2. Sample sebanyak 200 μ l ditambahkan kedalam *tube microcentrifuge* 1,5 ml.
 3. Larutan buffer AL sebanyak 200 μ l ditambahkan kedalam sample dan dihomogenkan selama 15 detik lalu diinkubasi selama 10 menit pada 56^oC.
 4. Larutan ethanol (96-100%) sebanyak 200 μ l ditambahkan ke dalam sample dan dihomogenkan.
 5. Campuran ini sebanyak 620 μ l dipindahkan ke *QIAamp mini spin columns*, disentrifuge pada 14000 rpm selama 1 menit. *collection tube* diganti dan filtratnya dibuang.
 6. Larutan buffer AW1 sebanyak 500 μ l ditambahkan kedalam *collection tube*, disentrifuge pada 8000 rpm selama 1 menit. filter dibuang, dan *collection tube* diganti.
 7. Larutan buffer AW2 sebanyak 500 μ l ditambahkan kedalam *collection tube*, disentrifuge pada 1400 rpm selama 3 menit.
 8. *Collectiontube* diganti dengan tabung *mikrocentrifuge* 1,5 ml, dan disentrifuge pada 14000 rpm selama 1 menit.

9. Tabung *mikrocentrifuge* 1,5 ml diganti dan ditambahkan larutan buffer AE atau aquadestilat sebanyak 50 μl , diinkubasi selama 5 menit, disentrifuge pada 8000 rpm selama 1 menit.
10. Penyimpanan ekstrak DNA pada $2-8^{\circ}\text{C}$ atau pada -15 sampai -25°C untuk waktu penyimpanan lama.

III.9.3.2 Amplifikasi

1. Campuran pereaksi amplifikasi dibuat dalam kondisi diatas es.

Tabel 1. Pembuatan pereaksi amplifikasi

Reagen & Konsentrasi awal	Vol (μL) per 1 tes	Vol (μL) per 1 tes
Buffer PCR 10x	2.5	5
dNTP Mix 10mM	0.5	1
MgCl 250 mM	0.75	1.5
Taq DNA Polymerase 5U	0.1	0.2
Template	2.5	5
Primer Forward	0.5	1
Primer Reverse	0.5	1
H ₂ O	17.65	35.3
Total Volume per 1 tes	25	50

2. Pereaksi amplifikasi sebanyak 20 μl dimasukkan ke dalam mikrosentrifuse 0,2 ml dan ditambahkan ekstrak DNA sebanyak 5 μl , dihomogenkan.
3. Proses amplifikasi pada *termocycler* dengan siklus berikut ini :
 - Step 1 : 94°C ; 3 menit
 - Step 2 : 94°C ; 30 detik
 - Step 3 : 52°C ; 30 detik
 - Step 4 : 72°C ; 1 menit
 - Step 5 : 72°C ; 5 menit
4. Panyimpanan amplikon pada -15°C sampai -25°C

III.9.3.3 Deteksi Elektroforesis

- Pembuatan gel 2 %

1. Agarose gel ditimbang sebanyak 0,6 gram dan ditambahkan TAE 1 kali sebanyak 30 ml lalu dikocok hingga homogen.
2. Larutan dididihkan setiap 30 detik lalu dihomogenkan, diulangi sebanyak 2 kali.
3. Larutan Etidium Bromida sebanyak 30 μ l ditambahkan Setelah \pm 50°C, ditutup dengan aluminium foil dan dihomogenkan.
4. Campuran gel agarosa dituang ke UV gel *Tray* dan *Comb* dibenamkan, hingga beku.
5. *Comb* ditarik dari gel perlahan-lahan dan gel UV dimasukkan didalam Elektroforesis *tank*.
6. Elektroforesis *tank* diisi TAE 1 kali hingga batas maksimum

- Pembuatan TAE 1 kali (500 ml)

1. TAE 10 kali sebanyak 50 ml dilarutkan dengan aquadest sebanyak 450 ml (1:10), dihomogen.
2. Penyimpanan TAE 1 kali pada suhu ruangan.

- Prosedur Elektroforesis

1. Larutan pemberat sebanyak 2 μ l dipipet ke atas parafilm.
2. Amplikon sebanyak 5 μ l dan 1 μ l marker (NEB) masing-masing dicampur dengan larutan pemberat.
3. Campuran dimasukkan ke dalam sumur-sumur gel agarose.

4. Elektroforesis pada 100 V, selama \pm 35 menit.
5. UV Gel dipindahkan ke atas Transiluminator lalu diamati dan didokumentasikan.

III.9.3.4 RFLP

1. Larutan RFLP dibuat dalam kondisi diatas es.

Tabel 2. Pembuatan pereaksi RFLP

Reagen & Konsentrasi Awal	Untuk Vol 20 μ L Per 1 tes (μ L)
ACC II 10 U/ μ L	0,2
Eco 81I	0,2
Stul	0,2
Buffer M 10x	2
Template	15
H ₂ O	24
Total Volume	20

2. Larutan RFLP sebanyak 5 μ l dimasukkan ke dalam tabung *mikrosentrifuge* 200 μ l.
3. Amplikon DNA positif sebanyak 15 μ l ditambahkan ke dalam tabung *mikrosentrifuge* 200 μ l dan diinkubasi selama 1 jam pada 37⁰ C, dideteksi melalaui elektroforesis.

III.9.3.5 Deteksi Elektroforesis

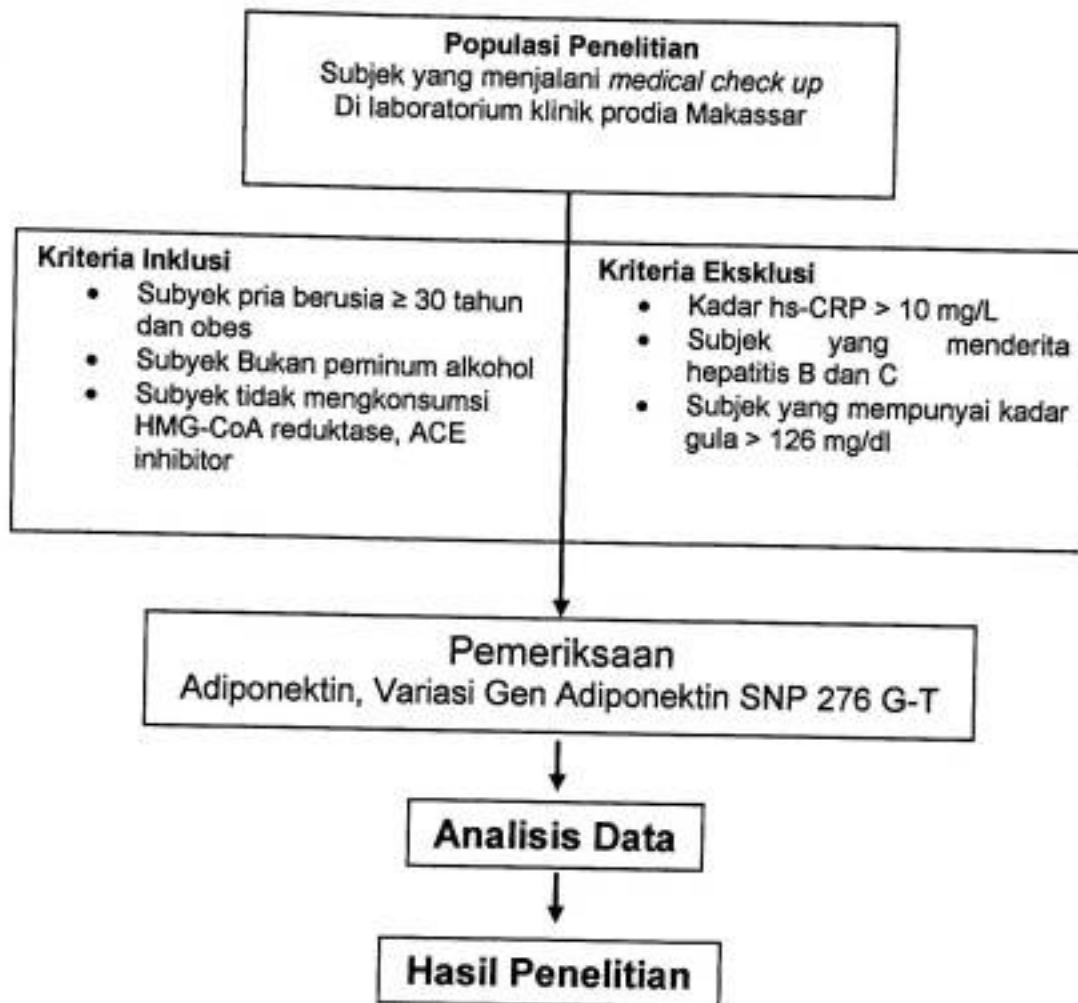
1. Hasil pemotongan sebanyak 7 μ l – 15 μ l dipipet ke dalam sumur – sumur gel.
2. Larutan pemberat sebanyak 2 μ l dicampurkan dengan marker 5 μ l dan dimasukkan ke dalam sumur – sumur gel.
3. Elektroforesis pada 100 V, selama \pm 30 menit.
4. Visualisasi UV Gel di atas Transiluminator selanjutnya didokumentasikan.

III.10 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan program statistik. Untuk uji statistik tingkat kemaknaan yang digunakan adalah 5 % Uji statistik yang digunakan antara lain :

1. Uji non parametrik satu sample *Kolmogorov-Smornov* untuk mengetahui apakah variabel variabel yang diteliti berdistribusi normal
2. Analisis data secara deskriptif umum, dengan metode univariat analisis untuk perhitungan nilai minimum, maksimum, rerata, standar deviasi kadar adiponektin, dan frekuensi variasi genetik.
3. Uji beda dilakukan untuk melihat perbedaan kadar adiponektin pada orang obes menurut variasi genetik adiponektin SNP 276 G→T

III.11 Skema kerja



Gambar 10. Skema kerja penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Gambaran Umum Populasi Sampel

Telah dilakukan penelitian di Laboratorium Klinik Prodia Cabang Makassar dan Jakarta pada bulan Januari sampai April 2009. Data karakteristik penelitian selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Gambaran umum populasi sampel

Variabel	Rerata \pm SB	Minimum	Maksimum	Total
Umur	41 \pm 9	30	68	40
Adiponektin	3,12 \pm 1,18	1,62	7,60	40
Lingkar Perut	97 \pm 6	90	111	40

SB = Simpang Baku

Penelitian dengan rancangan *cross sectional* ini diikuti oleh pria umur 30-69 tahun dengan lingkar perut \geq 90 cm. Diperoleh 44 orang, kemudian 2 orang yang dieksklusi karena kadar hs-CRP di atas 10 mg/dl, 1 orang karena kadar glukosa darah puasanya $>$ 126 mg/dl dan 1 orang akibat HBsAg positif. Sehingga sebanyak 40 orang yang memenuhi kriteria eksklusi dan inklusi. Tujuan penelitian ini yakni mengetahui hubungan antara gen adiponektin dengan kadar serum adiponektin pada pasien yang obesitas dan tidak mengalami sindroma metabolik (SM).

Kriteria obesitas ditentukan berdasarkan ukuran lingkar perut sesuai kriteria dari *Internasional diabetes federation (IDF)* 2005 yakni pada orang Asia \geq 90 cm pada pria dan \geq 80 cm pada wanita. (9) Keadaan obesitas dengan ukuran lingkar perut $>$ 100 cm tidak dapat

Tabel 5. Karakteristik variabel penelitian pada subyek obes

Variabel	TT (Homozigot)	TG/GT (Heterozigot)	GG (Wildtipe)	P
	Rerata \pm SB (n=7)	Rerata \pm SB (n=15)	Rerata \pm SB (n=18)	
Lingkar Perut	92 \pm 3	97 \pm 4	99 \pm 6	0,034
Adiponektin	4,46 \pm 1,64	3,41 \pm 0,88	2,35 \pm 0,43	<0,001
Umur	44 \pm 9	44 \pm 10	38 \pm 6	0,120

SB = Simpang Baku

Data penelitian diambil dari pasien "Check Up" dan diperoleh sebanyak 40 pasien yang terdiri dari genotip wildtipe G/G 18 pasien (45%), genotip heterozigot GT/TG 15 pasien (37,5%), dan genotip homozigot T/T 7 pasien (17,5%).

Uji beda pada ketiga kelompok genotip menunjukkan bahwa obesitas berdasarkan ukuran lingkar perut ($p=0,034$) dan adiponektin ($p<0,001$) berbeda bermakna pada ketiga kelompok. Namun tidak berbeda bermakna pada variable umur ($p=0,120$) terhadap variasi genetik adiponektin SNP 276 G-T.

IV.2 Variasi genetik SNP 276 G-T dan Obesitas

Pemeriksaan genotip dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) digunakan untuk mendeteksi adanya variasi genetik adiponektin yang terletak pada 276 G - T. Hasil pemeriksaan genotip pada pasien yang melakukan *check up* diperoleh data seperti pada Tabel 6.

Tabel 6. Distribusi subyek obes dan variasi genotip

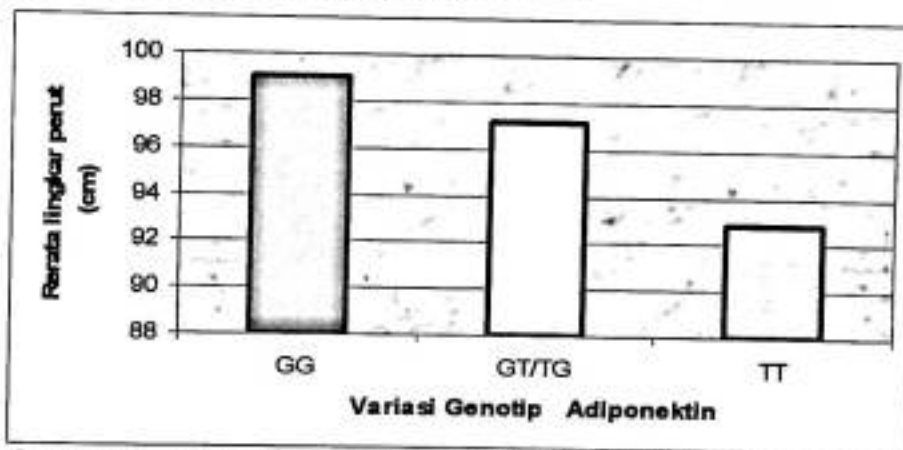
Obesitas	Genotip			Total
	Wildtipe GG n(%)	Heterozigot TG/GT n(%)	Homozigot TT n(%)	
LP (cm)				
90 - 100	13 (72,2 %)	10 (66,7 %)	7 (100 %)	30 (100 %)
101-111	5 (27,8 %)	5 (33,3 %)	0 (0 %)	10 (100 %)
Total	18 (100 %)	15 (100 %)	7 (100 %)	40 (100 %)

 $p=0,034$, LP = Lingkar Perut

Data Tabel 6 menunjukkan dari keseluruhan subyek obes yang diteliti diperoleh 7 pasien yang mengalami variasi genotip homozigot T/T. Hal ini karena SNP 276 T tidak berkaitan langsung dengan keadaan obesitas. (14)

Data yang sama diperoleh dari penelitian Alicja, dkk, 2007 yakni bagian gen adiponektin SNP 276 G – T yang tersubstitusi pada intron 2 memodulasi sensitivitas insulin dan homeostatis glukosa yang selanjutnya berhubungan dengan obesitas, resistensi insulin, dan DM type 2.

Peningkatan rerata ukuran lingkar perut terjadi pada pasien dengan genotip wildtipe G/G dibanding dengan pasien yang homozigot T/T. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Efek genotip SNP posisi 276 terhadap obesitas berdasarkan ukuran lingkar perut.

Dari Gambar 11 terlihat jelas setiap kelompok genotip adiponektin berbeda bermakna ukuran lingkar perutnya yang menjadi penentu keadaan obesitas ($p=0,034$). Rata-rata lingkar perut genotip wildtipe G/G yakni 99,05 cm lebih besar dibanding dengan genotip homozigot T/T yakni 92,86 cm.

Hal ini karena yang memicu obesitas adalah ketidakseimbangan regulasi lemak dan glukosa dan yang menjadi faktor penting dalam ketidakseimbangan ini adalah genetik. (24)

Perbedaan yang bermakna pada kelompok genetik adiponektin terlihat jelas bila genotip wildtipe G/G dibandingkan dengan genotip homozigot T/T terhadap obesitas berdasarkan ukuran lingkaran perut ($p=0,013$). Hasil selengkapnya dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Uji beda kelompok variabel genotip 276 terhadap obesitas.

Kelompok variabel genotip	Obesitas
	P
Wildtipe (G/G) : Homozigot (T/T)	0,013
Homozigot (T/T) : Heterozigot (G/T)	0,037
Wildtipe (G/G) : Heterozigot (G/T)	0,464

Data Tabel 7 menunjukkan genotip wildtipe G/G dan heterozigot G/T tidak berbeda bermakna terhadap keadaan obesitas ($p=0,464$), sebab subyek obes memiliki konsentrasi adiponektin plasma rendah yang berhubungan kuat dengan kejadian SNP 276 G. (47)

IV.2.1 Genotip Polimorfisme dan Obesitas

Variasi genetik adiponektin yang memiliki alel T dikelompokkan dalam kategori genotip polimorfisme dalam hal ini adalah jumlah heterozigot dan homozigot. Data selengkapnya dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Distribusi subyek obes terhadap genotip polimorfisme dan genotip wildtipe.

Obesitas Lingkar Perut (cm)	Genotip		Total
	Wildtipe GG n(%)	Polimorfisme (GT + TT) n(%)	
90 – 100	13 (72,2 %)	17 (77,3 %)	30 (75 %)
101 – 111	5 (27,8 %)	5 (22,7 %)	10 (25 %)
Total	18 (100 %)	22 (100 %)	40 (100 %)

p=0,098

Pada Tabel 8 menunjukkan bahwa tidak berbeda bermakna keadaan obesitas pada genotip wildtipe G/G 72,2% dengan genotip yang mengalami polimorfisme sebanyak 77,3 %.

Hasil penelitian ini dijelaskan bahwa individu yang mengalami polimorfisme dan wildtipe G/G tidak berbeda bermakna terhadap keadaan obesitas (p=0,098), sebab SNP 276 T tidak berkaitan langsung dengan kejadian obesitas. (14)

IV.3 Variasi genetik SNP 276 G-T dan Adiponektin

Data penelitian didistribusikan pada Tabel 9. Kadar adiponektin dikelompokkan menjadi kelompok normal $\geq 2,54 \mu\text{g/ml}$ dan abnormal $< 2,54 \mu\text{g/ml}$. Data selengkapnya dilihat pada Tabel 9.

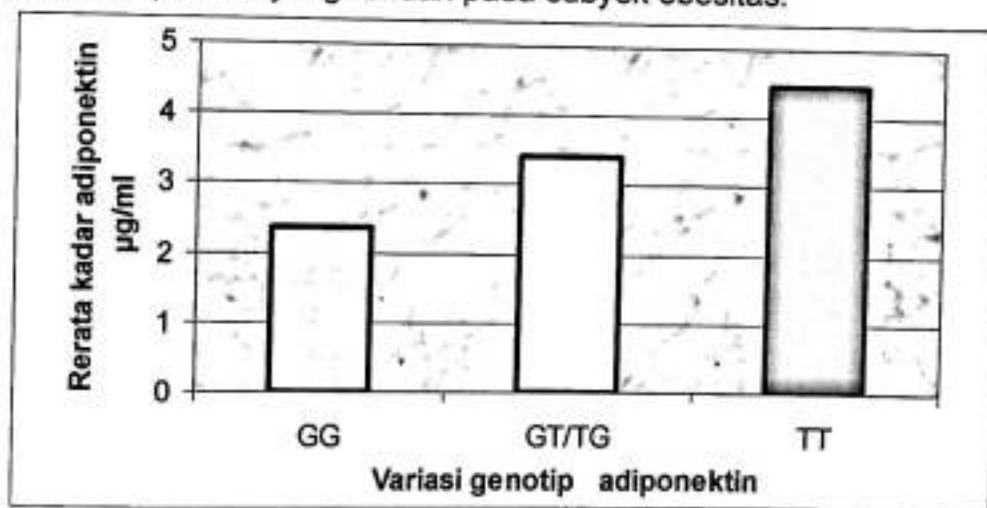
Tabel 9. Distribusi sampel dengan variabel adiponektin dan genotip

Adiponektin	Genotip			Total
	Wildtipe GG n(%)	Heterozigot TG/GT n(%)	Homozigot TT n(%)	
< 2,54	12 (66,7 %)	1 (6,7 %)	1 (14,3 %)	14 (35 %)
$\geq 2,54$	6 (33,3 %)	14 (93,3 %)	6 (85,7 %)	26 (65 %)
Total	18 (100 %)	15 (100 %)	7 (100 %)	40 (100 %)

p<0,001

Data pada Tabel 9 dijelaskan bahwa genotip homozigot T/T 6 pasien (85,7%) dari 7 jumlah pasien yang homozigot T/T. Namun pada genotip wildtype G/G ditemukan 6 pasien (33,3%) dari 18 jumlah pasien yang wildtype G/G berada dalam kelompok kadar adiponektin normal $\geq 2,54 \mu\text{g/ml}$. Pada penelitian ini diperoleh perbedaan yang bermakna pada ketiga variabel genetik adiponektin terhadap kadar adiponektin ($p < 0,001$).

Hal ini disebabkan alel G berpengaruh pada penurunan sekresi kadar adiponektin ke sirkulasi. Temuan ini mirip dengan temuan sebelumnya oleh bacci, dkk, 2004, Menzaghi, dkk, 2007 dan Hara, dkk, 2002 yakni alel G SNP 276 berbanding lurus dengan konsentrasi adiponektin plasma yang rendah pada subyek obesitas.



Gambar 12. Efek genotip SNP posisi 276 terhadap konsentrasi adiponektin.

Pada Gambar 12 di atas dapat dijelaskan bahwa rerata kadar adiponektin pada genotip 276 G lebih rendah dibanding genotip 276 T. Tingkat plasma adiponektin yang rendah pada SNP 276 G telah dilaporkan oleh Yangsoo, J, dkk, 2005 diperoleh bahwa pada pasien yang memiliki risiko penyakit jantung yang tinggi disebabkan oleh kadar

trigliserida puasa yang tinggi, konsentrasi LDL kecil, stress oksidasi, dan ukuran partikel LDL yang kecil.

Uji beda kadar adiponektin pada setiap kelompok genetik adiponektin memiliki perbedaan yang bermakna. Selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Uji beda kelompok variabel genotip 276 terhadap kadar adiponektin

Kelompok variabel genotip	Kadar adiponektin
	p
Wildtipe (G/G) : Homozigot (T/T)	0,001
Homozigot (T/T) : Heterozigot (G/T)	0,105
Wildtipe (G/G) : Heterozigot (G/T)	< 0,001

Pada penelitian ini diperoleh perbedaan bermakna antara kadar adiponektin pada kelompok variabel genetik wildtipe terhadap heterozigot ($p < 0,001$) dan homozigot ($p = 0,001$). Namun tidak berbeda bermakna jika dibandingkan antara heterozigot dan homozigot ($p = 0,105$).

Hal ini diakibatkan, alel T pada SNP 276 meningkatkan ekspresi adiponektin plasma. Data ini sesuai dengan penelitian bacci, dkk, 2004, Menzaghi, dkk, 2007 dan Hara, dkk, 2002 yakni SNP 276 G – T berkorelasi positif dengan peningkatan konsentrasi adiponektin plasma.

IV.3.1 Genotip Polimorfisme dan Adiponektin

Hasil pemeriksaan genetik untuk melihat adanya polimorfisme pada gen adiponektin diperoleh data seperti pada Tabel 11.

Tabel 11. Distribusi sampel dengan variabel adiponektin dan genotip polimorfisme dan genotip wildtipe.

Adiponektin	Genotip		Total
	Wildtipe GG n(%)	Polimorfisme (GT + TT) n(%)	
< 2,54	12 (66,7 %)	2 (9,1 %)	14 (35 %)
≥ 2,54	6 (33,3 %)	20 (90,9 %)	26 (65 %)
Total	18 (100 %)	22 (100 %)	40 (100 %)

p<0,001

Data Tabel 11 menunjukkan kejadian polimorfisme pada genetik adiponektin posisi 276 ditemukan sebanyak 90,9 % individu yang memiliki kadar adiponektin normal $\geq 2,54 \mu\text{g/ml}$, sebab SNP 276 T berhubungan kuat dengan peningkatan konsentrasi adiponektin plasma (48).

Genotip wildtipe G/G ditemukan sebanyak 66,7% mengalami penurunan kadar adiponektin. Hal ini karena alel G pada SNP 276 mempengaruhi keseimbangan adiponektin yang pada akhirnya merusak sekresi adiponektin dari jaringan adiposa (50).

Data yang sama diperoleh dari penelitian Hara, dkk, 2002 yakni alel G pada posisi 276 berbanding lurus dengan konsentrasi adiponektin plasma yang lebih rendah pada subyek obes.

Kadar adiponektin yang rendah tidak dapat mengatur regulasi hemostatis glukosa dan lemak, sehingga menyebabkan penimbunan lemak yang berlebih yang bersifat patologis (23).

IV.4 Hubungan antara variabel penelitian

Variabel penelitian untuk homozigot, heterozigot, dan wildtipe disebut sebagai variabel genotip 276 dan untuk variabel polimorfisme merupakan gabungan antara heterozigot dan homozigot.

Data hubungan antara variabel yang diperoleh dari penelitian disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Hubungan antara variabel penelitian

Variabel penelitian	Koefisien	p
Genotip 276 – Obesitas	- 0,362	0,022
Genotip 276 – Adiponektin	0,712	> 0,001
Polimorfisme – Obesitas	- 0,265	0,098
Polimorfisme – Adiponektin	0,727	>0,001

Diperoleh korelasi yang bermakna antara genotip 276 ($r= 0,712$) dan polimorfisme ($r= 727$) terhadap adiponektin, sedangkan pada genotip ($r= -0,362$) dan polimorfisme ($r= -0,265$) tidak ditemukan korelasi secara langsung terhadap keadaan obesitas.

IV.5 Interaksi Variabel Penelitian terhadap Genotip Polimorfisme.

Pada studi *cross secsional*, estimasi risiko relatif dinyatakan sebagai *rasio prevalens*. Nilai risiko relatif diartikan sebagai besarnya risiko yang disebabkan oleh variabel penelitian. Pada penelitian ini nilai risiko relatif obesitas dan adiponektin terhadap polimorfisme disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Interaksi antar variabel genetik terhadap obesitas dan adiponektin

Variabel genetik	RR	
	Obesitas	Adiponektin
Genotip Polimorfisme (GT + TT)	0,765	0,050

RR= *relative risk*

Dari hasil penelitian di atas dapat dijelaskan bahwa nilai RR variabel genotip polimorfisme yakni 0,765 terhadap keadaan obesitas. Hal ini berarti bahwa kejadian polimorfisme tidak berisiko menyebabkan secara langsung obesitas.

Risiko relatif genotip polimorfisme terhadap perubahan kadar adiponektin (RR 0,050) diartikan polimorfisme berisiko menyebabkan 0,050 kali meningkatkan kadar adiponektin. nilai RR = 0,050 dapat pula diinterpretasikan sebagai faktor protektif terhadap penurunan kadar adiponektin.

Hal ini karena alel G pada SNP 276 mempengaruhi keseimbangan adiponektin yang pada akhirnya merusak sekresi adiponektin dari jaringan adiposa. (50)

Hasil yang sama diperoleh dari penelitian Yangsoo. J, dkk, 2005 yakni genotip SNP 276 G dari gen adiponektin berhubungan kuat dengan konsentrasi adiponektin plasma yang rendah dan resistensi insulin yang tinggi pada orang obes.

Polimorfisme SNP 276 bisa menjadi pelindung yang lebih baik dari risiko penyakit kardiovaskular dan diabetes mellitus tipe II. (47) Hal ini karena SNP 276 T pada posisi 3q27 memiliki hubungan dengan konsentrasi adiponektin plasma yang tinggi pada pasien obesitas yang tidak memiliki riwayat sindroma metabolik. (48)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

1. Pada pasien obes terdapat variasi genetik diposisi 276 gen adiponektin.
2. Pada pasien obes tidak memiliki hubungan secara langsung dengan variasi genetik SNP 276.
3. Pada variasi genetik adiponektin SNP 276 memiliki hubungan dengan peningkatan konsentrasi adiponektin plasma.

V.2 Saran

1. Perlu diteliti dalam jumlah sample yang lebih besar.
2. Perlu diketahui lebih awal variasi genetik untuk melihat risiko penyakit jantung koroner.
3. Perlunya pengaturan pola hidup sehat untuk mencegah terjadinya obesitas terutama untuk usia produktif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wulandari T, Zulqaida A. *Self Regulated Behavior Pada Remaja Putri yang Mengalami Obesitas*. Auditorium Kampus Gunadarman. 2007. Vol 2. hal. 1858-2559.
2. Mahan, Adair, Popkin B.M. Ethnic differences in the association between body mass index and hypertension. *Am J Epidemiology*. 2002 (155); pp. 346-353.
3. Allison DB, Saunders SE. Obesity in North America (an Overview). *Med Clin North Am*. 2000 (84); pp. 302-325.
4. Boden G. Free Fatty Acid as Target for Therapy. *Curr Opin Endocrinol Diab*. 2004 (11); pp. 258 – 263.
5. Hedley AA, Ogden C.L, Johnson C L, Carlon M.D. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescences, and adults. *JAMA*. 2004 (291); pp. 2847-50.
6. Grundy S.M. Metabolic syndrome: connecting and reconceiling cardiovascular and diabetes world. *J Am Coll Cardiol*. 2006 (47); pp. 1093-1110.
7. Bell Ge K, Popkin BM. Weight gain and its predictors in Chinese adults. *Int J Natoned Metabolism Disorder*. 2001 (25); pp.1079-1086.
8. Kahn et al. The metabolic syndrome: time for critical appraisal. Joint statement from the ADA and EGIR. *Diabetes Care*. 2005 (28); pp. 2289-2304.
9. Tjokroprawiro A. New approach in the treatment of T2DM and metabolic syndrome. *The Indonesian Journal of Internal Medicine*. 2006 (38); pp. 160-6.
10. Haluzik M, Parizkova J. Adiponectin and Its Role in Obesitas-Induced Insulin Resistance and Related Complications. *Physiol. Res*. 2004 (53); pp. 123-129.
11. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999 (257); pp. 79-83.

12. Chan NN, Kong AP, Chan JC. Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes: The Hong Kong Perspective. *Clin Biochem Rev.* 2005 (26); pp. 51-7.
13. Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T. Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines, adipocyte-derived bioactive substances. *Ann N Y Acad Sci.* 1999 (892); pp. 146-154.
14. Mackevics V, et.al. The Adiponectin Gene Is Associated With Adiponektin Levels But Not With Characteristics of The Insulin Resistance Syndrome in Healthy Caucasians. *The European Journal of Human Genetics.* 2006 (14); pp. 349-356.
15. Schaffner F, Thaler H. Nonalcoholic fatty liver disease. *Prog Liver Dis.* 1986 (8); pp. 283-298.
16. Emanuel F, et al. *The adiponectin gene SNP+276G>T associates with early-onset coronary artery disease and with lower levels of adiponectin in younger coronary artery disease patients (age <or=50 years).* *Journal of molecular medicine.* 2005; 83 (9). pp. 711-9.
17. Zacharova J, et.al. The Common Polymorphisms (Single Nucleotide Polymorphism [SNP] _45 and SNP _276) of the Adiponectin Gene Predict the Conversion From Impaired Glucose Tolerance to Type 2 Diabetes The STOP-NIDDM Trial. *Diabetes.* 2005 (54).
18. Garrow, JS. 1998. Health Implications of Obesity. *In : Obesity and Related Disease.* Lodon Churchill Livingstone. 11-16.
19. Hout I. 2004. Factor Associated With Overweight and obesity in Quebec adults. *Int.J.Obes.* 28:766—774.
20. Grundy SM. Obesity. Secondary Heart Disease : Systemic Disease and The Heart. 2003; 8 (2). pp. 1-6.
21. Lawrence1, S. G. Yusuf, I. Wijaya, A. Wahid, S. *Kadar Adiponektin Rendah pada Toleransi Glukosa Terganggu: Implikasi Vaskuler awal.* 2008.
22. Lawrence, S. G. *Peran Adiponektin pada Gangguan Vaskuler Sindrom Metabolik.* Unit Riset Vaskuler Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran: Universitas Makassar-Indonesia. 2005; 24.
23. Pi-Sunyer X. A Clinical View of the Obesity Problem. *Science.* 2003 (299); pp. 859-860.

24. Caballero B. Nutrition Paradox-underweight and obesity in developing countries. *N Engl. J. Med.* 2005 (352); pp. 1514-6.
25. Carr MC, and Brunzell JD. Abdominal obesity and Dislipidemia in the metabolic syndrome : Importance of Type 2 Diabetes and Familial cambined Hyperlipidemia In Coronary Artery Disease Risk. *J.Clin Endocrinol. Metab.* 2004 (89); pp. 2601-7.
26. Bouloumie A, Sengenès C, et al. Adipocyte produces matrix metalloproteinase 2 dan 9. *Diabetes.* 2001 (50) ; pp. 2080-6.
27. Harp, JB. New insight into inhibitors of adipogenesis. *Curr opin Lipidol.* 2004 (15); pp. 303-7.
28. World Health Organization. Physical status: The use and interpretation of anthropometry. Geneva, Switzerland: World Health Organization. WHO Technical Report Series. 1995.
29. Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as Regulators of Energy Balance and Glukose Homeostasis. *Nature.* Doi: 2006 (10); pp. 1038.
30. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, et al. Adiponectin: More Than Just Another Fat Cell Hormone? *Diabetes Care.* 2003 (26); pp. 2442-2450.
31. Wellen K, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003 (112); pp. 1785-8.
32. Guerre-Millo M. Adipose tissue and adipokines: for better or worse. *Diabetes Metab.* 2004 (30); pp. 13-9.
33. Lau DCW, et al. Adipokines : Molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005 (288); H2031-H2041.
34. Lehrke M, Lazar MA. Inflamed about obesity. *Nature Medicine.* 2004 (10); pp.126-7.
35. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress and Diabetes. *J Clin Invest.* 2005 (115); pp. 1111-9.
36. Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al. Chronic Inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin Invest.* 2003 (112); pp. 1821-1830.
37. Ouchi N, Kihara S, et al.. Obesity, Adiponectine and Vascular Inflammatory Disease. *Curr Opin Lipidol.* 2003 (14); pp. 561-6.

38. Pishon T, Rimm EB. Adiponectin as adiponektin marker for cardiovascular Disease. *Clin Cham*. 2006 (52); pp. 797-9.
39. Scherer P, Williams SM, Fogliano M, et al. Adiponektin Novel Serum Protein Similar to C1q produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem*; 1995; pp. 27046-26749.
40. Meier U and Gressener M. Endocrine Regulation of Energy Chemical Aspect of Leptin, Ghrelin, Adiponektin and Resistin. *Clin Chem* . 2004 (50); pp. 1511-1525.
41. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptor, *Endocrine Reviews*. 2005; 26 (3). pp. 439-451.
42. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Adiponektin, an adipocytederived plasma protein, inhibisi endothelial NF-kappa signaling through adiponektin c-AMP-dependent pathway. *Circulation*. 2000 (102); pp. 1296-1301.
43. Saltiel, AR. You are what you secrete. *Nat Med*. 2001 (7); pp. 887-8.
44. Furukawa S, et al. Increased Oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004 (114); pp. 1752-1761.
45. Trujillo ME, and Scherrer. Adiponectin-Journey From an Adipocyte Secretary Protein to Biomarker of the metabolic syndrome. *J. of internal Medicine*. 2005 (257); pp. 167-175.
46. Vasseur, F. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Human Molecular Genetics*. 2002. (11); pp. 21.
47. Jang Y, et al. Association of the 276 G-T polymorphism of the adiponectin gene with cardiovascular disease risk factorts in nondiabetic Koreans. *American Society for Clinical Nutrition*. 2005 (82); pp. 760-7.
48. Bacci S, et al. The +276G/T single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene is associated with coronary arthery disease in type 2 patients. *The European Journal of Human Genetics*. 2004; pp. 2017-2018.

38. Pishon T, Rimm EB. Adiponectin as adiponektin marker for cardiovascular Disease. *Clin Cham*. 2006 (52); pp. 797-9.
39. Scherer P, Williams SM, Fogliano M, et al. Adiponektin Novel Serum Protein Similar to C1q produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem*.; 1995; pp. 27046-26749.
40. Meier U and Gressener M. Endocrine Regulation of Energy Chemical Aspect of Leptin, Ghrelin, Adiponektin and Resistin. *Clin Chem* . 2004 (50); pp. 1511-1525.
41. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptor, *Endocrine Reviews*. 2005; 26 (3). pp. 439-451.
42. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Adiponektin, an adipocytederived plasma protein, inhibisi endothelial NF-kappa signaling through adiponektin c-AMP-dependent pathway. *Circulation*. 2000 (102); pp. 1296-1301.
43. Saltiel, AR. You are what you secrete. *Nat Med*. 2001 (7); pp. 887-8.
44. Furukawa S, et al. Increased Oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004 (114); pp. 1752-1761.
45. Trujillo ME, and Scherrer. Adiponectin-Journey From an Adipocyte Secretary Protein to Biomarker of the metabolic syndrome. *J. of internal Medicine*. 2005 (257); pp. 167-175.
46. Vasseur, F. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Human Molecular Genetics*. 2002. (11); pp. 21.
47. Jang Y, et al. Association of the 276 G-T polymorphism of the adiponectin gene with cardiovascular disease risk factors in nondiabetic Koreans. *American Society for Clinical Nutrition*. 2005 (82); pp. 760-7.
48. Bacci S, et al. The +276G/T single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene is associated with coronary artery disease in type 2 patients. *The European Journal of Human Genetics*. 2004; pp. 2017-2018.

49. Desiliyarni T, Suwanto A, Suhartono MT & Purwadaria T. Genetic diversity analysis of thermophilic bacteria from Candradimuka Crater in Central Java employing PCR-RFLP of 16S-rRNA gene. *Biotropia*. 1999 (14); pp. 1-9.
50. Menzaghi C. Genetic Influences of Adiponectin on Insulin Resistance, Type 2 Diabetes, and Cardiovascular Disease. *Diabetes*. 2007 (56); pp. 1198-1209.

Lampiran 1. Hasil penelitian pengukuran lingkaran perut, adiponektin dan SNP 276.

No.	Inisial Pasien	JK	Umur	Lingkar Perut	Adiponektin	SNP 276
1	RB	Lk	45	110	2.64	WT
2	BP	Lk	33	110	2	WT
3	HK	Lk	30	111	2.46	WT
4	JS	Lk	38	95	1.92	WT
5	HRH	Lk	43	93	1.71	WT
6	LN	Lk	36	94	2.76	WT
7	ALR	Lk	42	94	2.05	WT
8	AWR	Lk	38	94	2.18	WT
9	MAM	Lk	48	100	2.98	WT
10	WL	Lk	31	94	2.95	WT
11	SGS	Lk	43	94	2.08	WT
12	RT	Lk	51	110	2.34	WT
13	FYMH	Lk	32	107	1.62	WT
14	BP	Lk	30	96	2.01	WT
15	EL	Lk	40	95	2.41	WT
16	IYSE	Lk	37	94	2.49	WT
17	WY	Lk	39	98	2.99	WT
18	JT	Lk	33	94	2.76	WT
19	MA	Lk	39	93	2.23	HT
20	RAS	Lk	34	105	3.09	HT
21	SM	Lk	68	92	3.56	HT
22	CE	Lk	30	91	3.44	HT
23	BSD	Lk	49	94	4.71	HT
24	AH	Lk	53	104	4.06	HT
25	IDD	Lk	56	95	4.41	HT
26	HBJ	Lk	43	103	2.76	HT
27	HNI	Lk	41	98	2.76	HT
28	APLW	Lk	33	94	2.96	HT
29	SZ	Lk	35	95	2.68	HT
30	KSIS	Lk	48	102	5.47	HT
31	JS	Lk	43	96	2.87	HT
32	JLT	Lk	37	93	3.06	HT
33	MH	Lk	60	103	3.18	HT
34	BI	Lk	58	97	3.67	HM
35	IMR	Lk	31	90	2.49	HM
36	AB	Lk	41	93	4.26	HM
37	ESI	Lk	38	91	4.42	HM
38	MH	Lk	46	92	5.37	HM
39	SKU	Lk	45	90	3.44	HM
40	AAN	Lk	53	97	7.6	HM

Keterangan : JK = Jenis Kelamin
 SNP = Single Nucleotide Polimorphisme
 WT = Wildtype
 HT = Heterozygot
 HM = Homozygot

Lampiran 2. Tabel hasil pengolahan data dengan SPSS

Descriptive Statistics

Variable	Total	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
UMUR	40	30	68	41.73	9.120
ADIPONEKTIN	40	1.62	7.60	3.1210	1.18683
LP	40	90	111	97.28	6.000
Valid N (listwise)	40				

Descriptive Statistics

SNP276		jumlah	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
GG (Wildtype)	LP	18	99.06	6.966	93	111
	ADIPONEKTIN	18	2.3528	.43246	1.62	2.99
	UMUR	18	38.22	6.292	30	51
GT (Heterozigot)	LP	15	97.20	4.858	91	105
	ADIPONEKTIN	15	3.4160	.88322	2.23	5.47
	UMUR	15	44.60	10.940	30	68
TT (Homozigot)	LP	7	92.86	3.024	90	97
	ADIPONEKTIN	7	4.4643	1.64695	2.49	7.60
	UMUR	7	44.57	9.071	31	58

Test Statistics^{a,b}

	UMUR	LP	ADIPONEKTIN
Chi-Square	4.235	6.749	20.939
df	2	2	2
Asymp. Sig.	.120	.034	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: SNP276

K_UMUR * K_LP Crosstabulation

			K_LP		Total
			90-100	101-111	
K_UMUR 30-35	Count	7	4	11	
	% within K_LP	23.3%	40.0%	27.5%	
36-41	Count	11	0	11	
	% within K_LP	36.7%	.0%	27.5%	
42-47	Count	6	2	8	
	% within K_LP	20.0%	20.0%	20.0%	
>47	Count	6	4	10	
	% within K_LP	20.0%	40.0%	25.0%	
Total	Count	30	10	40	
	% within K_LP	100.0%	100.0%	100.0%	

K_LP * SNP276 Crosstabulation

			SNP276			Total
			GG (Wildtype)	GT/TG (Heterozigot)	TT (Homozigot)	
K_LP	90-100	Count	13	10	7	30
		% within SNP276	72.2%	66.7%	100.0%	75.0%
	101-111	Count	5	5	0	10
		% within SNP276	27.8%	33.3%	.0%	25.0%
Total		Count	18	15	7	40
		% within SNP276	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

K_ADIPOQ * SNP276 Crosstabulation

			SNP276			Total
			GG (Wildtype)	GT/TG (Heterozigot)	TT (Homozigot)	
K_ADIPOQ	<2.54	Count	12	1	1	14
		% within SNP276	66.7%	6.7%	14.3%	35.0%
	>=2.54	Count	6	14	6	26
		% within SNP276	33.3%	93.3%	85.7%	65.0%
Total		Count	18	15	7	40
		% within SNP276	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

K_ADIPOQ * K_SNP Crosstabulation

			K_SNP		Total
			GG (wildtype)	GT (Hetero) + TT (Homo)	
K_ADIPOQ	<2.54	Count	12	2	14
		% within K_SNP	66.7%	9.1%	35.0%
	>=2.54	Count	6	20	26
		% within K_SNP	33.3%	90.9%	65.0%
Total		Count	18	22	40
		% within K_SNP	100.0%	100.0%	100.0%

Test Statistics^a

	LP
Mann-Whitney U	22.500
Wilcoxon W	50.500
Z	-2.482
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.012 ^b

a. Not corrected for ties.

b. SNP276 (antara GG dan TT)

Test Statistics^a

	LP
Mann-Whitney U	23.000
Wilcoxon W	51.000
Z	-2.086
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.039 ^a

a. Not corrected for ties.

b. SNP276 (antara GT dan TT)

Test Statistics^a

	LP
Mann-Whitney U	115.000
Wilcoxon W	235.000
Z	-.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.464
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 ^a

a. Not corrected for ties.

b. SNP276 (antara GG dan GT)

Test Statistics^a

	ADIPONEKTIN
Mann-Whitney U	6.500
Wilcoxon W	177.500
Z	-3.421
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. SNP276 (antara GG dan TT)

Test Statistics^a

	ADIPONEKTIN
Mann-Whitney U	29.500
Wilcoxon W	149.500
Z	-1.622
Asymp. Sig. (2-tailed)	.105
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.106 ^a

a. Not corrected for ties.

b. SNP276 (antara TT dan GT)

Test Statistics^a

	ADIPONEKTIN
Mann-Whitney U	28.000
Wilcoxon W	199.000
Z	-3.872
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Not corrected for ties.

b. SNP276 (antara GG dan GT)

K_LP * K_SNP Crosstabulation

			K_SNP		Total
			GG (wildtype)	GT (Hetero) + TT (Homo)	
K_LP	90-100	Count	13	17	30
		% within K_SNP	72.2%	77.3%	75.0%
	101-111	Count	5	5	10
		% within K_SNP	27.8%	22.7%	25.0%
Total		Count	18	22	40
		% within K_SNP	100.0%	100.0%	100.0%

Correlations

			LP	ADIPONEKTIN	SNP276	K_SNP
Spearman's rho	LP	Correlation Coefficient	1.000	-.175	-.362*	-.265
		Sig. (2-tailed)	.	.281	.022	.098
		N	40	40	40	40
	ADIPONEKTIN	Correlation Coefficient	-.175	1.000	.727**	.712**
		Sig. (2-tailed)	.281	.	.000	.000
		N	40	40	40	40
	SNP276	Correlation Coefficient	-.362*	.727**	1.000	.934**
		Sig. (2-tailed)	.022	.000	.	.000
		N	40	40	40	40
	K_SNP	Correlation Coefficient	-.265	.712**	.934**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.098	.000	.000	.
		N	40	40	40	40

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Test Statistics^a

	LP
Mann-Whitney U	137.500
Wilcoxon W	390.500
Z	-1.657
Asymp. Sig. (2-tailed)	.098
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: K_SNP

Test Statistics^a

	K_ADIPOQ
Mann-Whitney U	84.000
Wilcoxon W	255.000
Z	-3.750
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.001 ^b

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: K_SNP

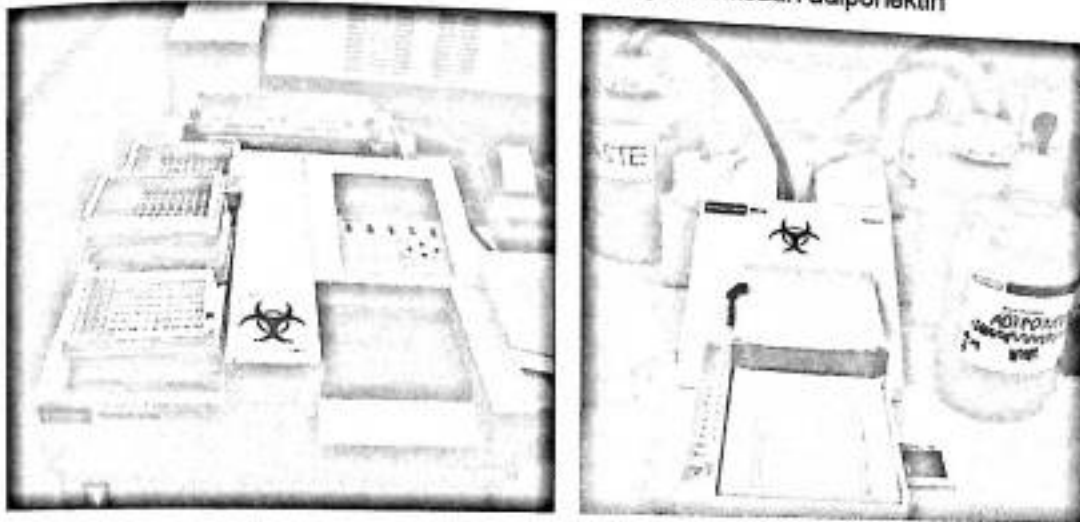
Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for KLP (101-111 / 90-100)	.765	.182	3.210
For cohort K_Poli = TG+TT	.882	.441	1.767
For cohort K_Poli = GG	1.154	.549	2.425
N of Valid Cases	40		

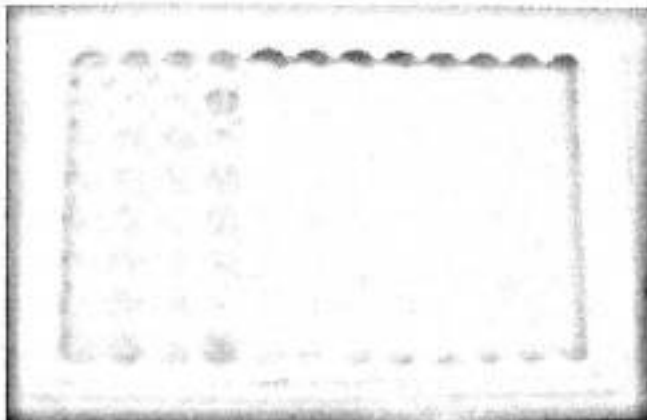
Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for K_ADIPOQ (<2.54 / >=2.54)	.050	.009	.289
For cohort K_Poli = TG+TT	.186	.051	.682
For cohort K_Poli = GG	3.714	1.783	7.736
N of Valid Cases	40		

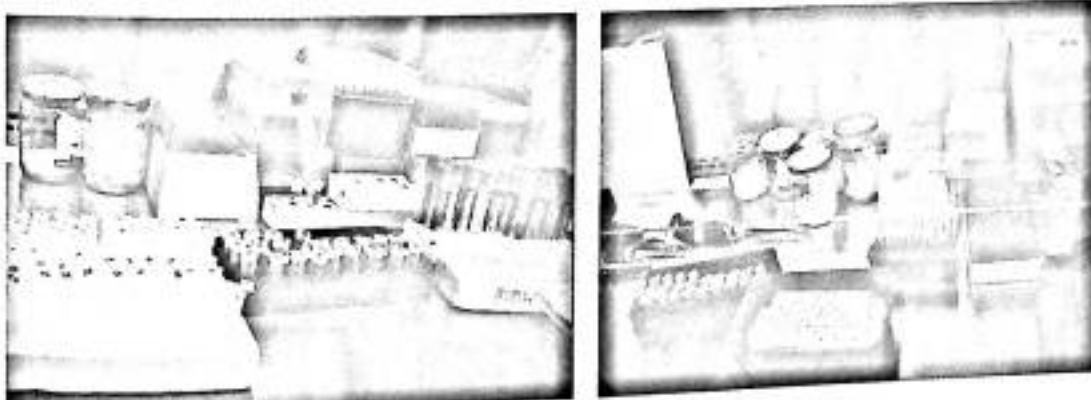
Lampiran 3. Gambar alat mikroplate reader untuk pemeriksaan adiponektin



Lampiran 4. Gambar hasil pemeriksaan adiponektin



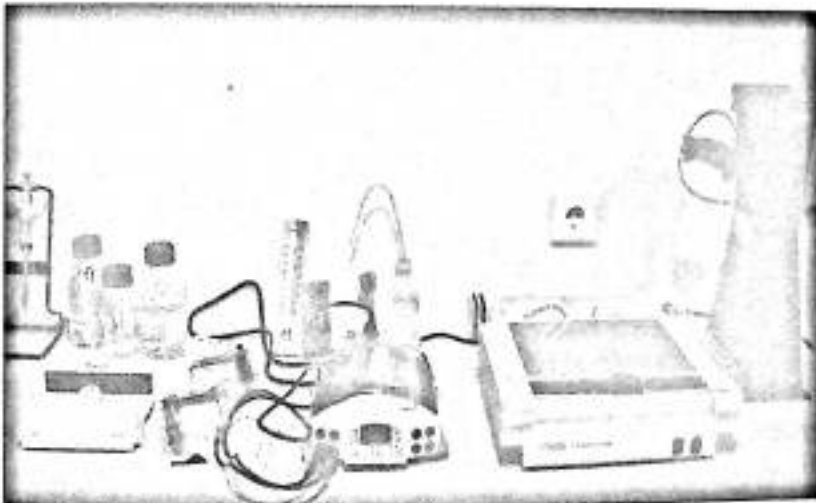
Lampiran 5. Alat dan bahan untuk ekstraksi



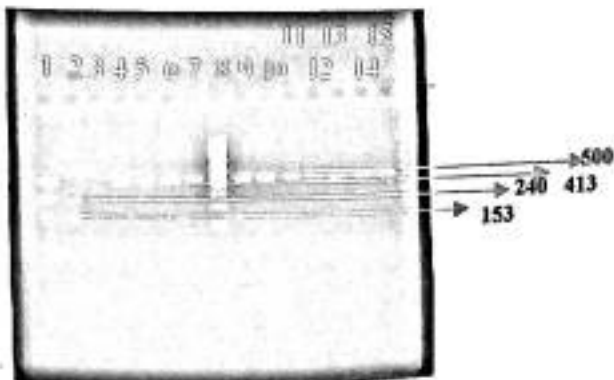
Lampiran 6. Gambar alat termocycler untuk amplifikasi



Lampiran 7 Gambar alat untuk deteksi DNA



Lampiran 8. Gambar hasil pemeriksaan PCR.



**FORMULIR PERSETUJUAN MENGIKUTI PENELITIAN SETELAH
MENDAPAT PENJELASAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama :

Umur :

Alamat :

setelah mendengar/membaca dan mengerti penjelasan yang diberikan mengenai tujuan, manfaat, serta hal-hal yang bisa terjadi akibat penelitian ini menyatakan setuju untuk berpartisipasi tanpa paksaan dalam penelitian ini.

Saya tahu bahwa keikutsertaan saya ini bersifat sukarela tanpa paksaan, sehingga saya bisa menolak ikut atau mengundurkan diri dari penelitian ini tanpa kehilangan hak saya untuk mendapat pelayanan kesehatan. Juga saya berhak bertanya atau meminta penjelasan bila masih ada hal yang belum jelas atau masih ada hal yang ingin saya ketahui tentang penelitian ini.

Saya juga mengerti bahwa semua biaya yang dikeluarkan sehubungan dengan penelitian ini, akan ditanggung oleh peneliti. Demikian juga biaya perawatan dan pengobatan bila terjadi hal-hal yang tidak diinginkan akibat penelitian ini, akan dibiayai oleh peneliti.

Saya percaya bahwa keamanan dan kerahasiaan data penelitian akan terjamin dan dengan ini saya menyetujui data saya yang dihasilkan pada penelitian ini disajikan dalam bentuk lisan dan tulisan. Bila terjadi perbedaan pendapatan di kemudian hari kami akan menyelesaikannya secara kekeluargaan.

	NAMA	TANDA TANGAN	TGL/BLN/THN
KLIEN
SAKSI 1
SAKSI 2

Identitas peneliti
Nama : Syahrul Mubarak
Hp : 085 255 546 765

DISETUJUI OLEH KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN NO Reg. UH090050069 SK : 0260/H04.8.4.5.31/PP36-KOMETIK/2009 Tgl. 10 JUNI 2009
--

Dokter penanggung jawab medis :
Nama : dr. Mansyur Arief, Ph.D, Sp.PK
Hp : 0816 277 020