

DAFTAR PUSTAKA

- Antoniades C, Antonopoulos AS, Tousoulis D, and Stefanadis C, 2009. Adiponectin: from obesity to cardiovascular disease, *Obesity reviews*, 10:269-279
- Ardawi MSM and Rouzi AA, 2005. Plasma adiponectin and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome, *Fertil Steril*, 83:1708-1716
- Baptiste CG, Battista MC, Trottier A, Baillargeon JP, 2010. Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome, *Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 122:42-52
- Beauchamp TL, Childress JF, 2001. Principles of Biomedical Ethics, Fifth Edition, Oxford University Press, Oxford, UK
- Bråkenhielm E, Veitonmäki N, Cao R, Kihara S, Matsuzawa Y, Zhitovovskiy B, Funahashi T, and Cao Y, 2004. Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101: 2476–2481
- Burghen GA, Givens JR, 1980. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease, *J Clin Endocrinol Metab*, 50:1113-6
- Campos DB, Palin M-F, Bordignon V, Murphy BD, 2008. The 'beneficial' adipokines in reproduction and fertility, *Int J Obes*, 32:223-231
- Carmina E, Orio F, Palomba S, Cascella T, Longo RA, Colao AM, Lombardi G and Lobo RA, 2005. Evidence for altered adipocyte function in polycystic ovary syndrome, *European Journal of Endocrinology*, 152:389-394
- Cedars MI, Steingold KA, de Ziegler D, Lapolt PS, Chang RJ, Judd HL, 1992. Long-term administration of gonadotropin-releasing hormone agonist and dexamethasone: assessment of the adrenal role in ovarian dysfunction, *Fertil Steril*, 57:495-500
- Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR, 2003. Adiponectin: more than just another fat cell hormone?, *Diabetes Care*, 26:2442-2450
- Chabrolle C, Tosca L, and Dupont J, 2007. Regulation of adiponectin and its receptors in rat ovary by human chorionic gonadotrophin treatment and

- potential involvement of adiponectin in granulosa cell steroidogenesis. *Reprod*, 133:1741-1789
- Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL *et al.*, 2003. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 Report, *JAMA*, 289:2560-2571
- Ciaraldi TP, Morales AJ, Hickman MG, Odom-Ford R, Olefsky JM, Yen SS, 1997. Cellular insulin resistance in adipocytes from obese polycystic ovary syndrome subjects involves adenosine modulation of insulin sensitivity, *J Clin Endocrinol Metab*, 82:1421-1425
- Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Klebanov S, Iyengar P, Jimenes-Chillaron JC, Patti ME, Klein SL, Weinstein RS and Scherer PE, 2003. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction and aging affect the adipocyte-specific secretory protein Acrp30/adiponectin, *Diabetes*, 52:268–276
- Costa and Eaton, 2006. Gene-Environment Interactions, Fundamentals of Ecogenetics, John Wiley & Sons, New Jersey
- Dale PO, Tanbo T, Vaaler S, Abyholm T, 1992. Body weight, hyperinsulinemia, and gonadotropin levels in the polycystic ovarian syndrome: evidence of two distinct populations, *Fertil Steril*, 58:487-491
- DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R, 1979. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance, *Am J Physiol*, 237:E214-E223
- Després JP, Moorjani S, Ferland M, Tremblay A, Lupien PJ, Nadeau A, Pinault S, Thériault G, Bouchard C, 1989. Adipose tissue distribution and plasma lipoprotein levels in obese women. Importance of intra-abdominal fat, *Arteriosclerosis*, 9:203-210
- Dhindsa G, 2004. Insulin resistance, Insulin sensitization and inflammation in polycystic ovarian syndrome, *J of Postgraduate Medicine*, 50:140-144
- Diamanti-Kandarakis E, 1997. The polycystic ovary syndrome : Pathogenesis, metabolic implications, and therapeutic approach, *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 816:177-193
- Diamanti-Kandarakis E, 2007. Role of obesity and adiposity in polycystic ovary syndrome, *Int J Obes*, 31:S8-S13

- Diamanti-Kandarakis E, Argyrakopoulou G, Economou F, Kandaraki E, Koutsilieris M, 2008. Defects in insulin signaling pathways in ovarian steroidogenesis and other tissues in polycystic ovary syndrome (PCOS), *J Steroid Biochem Mol Biol*, 109:242-246
- Diamanti-Kandarakis E and Papavassiliou AG, 2006. Molecular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovary syndrome, *TRENDS in Mol Med*, 12:324-332
- Diamanti-Kandarakis E, Paterakis T, Kandarakis HA, 2006. Indices of low-grade inflammation in polycystic ovary syndrome, *Ann N.Y. Acad Sci*, 1092:175-186
- Diez JJ and Iglesias P, 2003. The role of the novel adipocyte – derived hormone adiponectin in human disease, *Eur J Endocrinol*, 148:293-300
- Ducluzeau PH, 2003. Glucose-to-Insulin Ratio Rather than Sex Hormone Binding Globulin and Adiponectin Levels is the Best Predictor of Insulin Resistance in Nonobese Women with *Polycystic Ovary Syndrome*, *J of Clin Endocrinol & Metab*, 88:3626-3631
- Dunaif A, 1997. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome : mechanism and implications for pathogenesis, *Endocrin Rev*, 18:774-800
- Dunaif A, Scott D, Finegood D, Quintana B, Whitcomb R, 1996. The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and reproductive abnormalities in the polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab*, 81:3299-3306
- Dunaif A, Wu X, Lee A, Diamanti-Kandarakis E, 2001. Defects in insulin receptor signalling in vivo in the polycystic ovary syndrome (PCOS), *Am. J. Physiol Endocrinol. Metab.*, 281:E392-E399
- Duncan MH, Singh BM, Wise PH, Carter G and Alaghband-Zadeh J, 1995. A simple measure of insulin resistance, *Lancet*, 346:120-121
- Echiburú B, Pérez-Bravo F, Maliqueo M, Sánchez F, Crisosto N, Sir-Petermann T, 2008. Polymorphism T → C (–34 base pairs) of gene *CYP17* promoter in women with polycystic ovary syndrome is associated with increased body weight and insulin resistance: a preliminary study), *Metabolism*, 57:1765-1771
- Ehrhart-Bornstein M, Hinson JP, Bornstein SR, Scherbaum WA, Vinson GP, 1998. Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis, *Endocr Rev*, 19:101-143

- Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, 1995. Polycystic ovary syndrome as a form of functional ovarian hyperandrogenism due to dysregulation of androgen secretion, *Endocr Rev* 16:332-353
- Ehrmann DA, 2005. Medical Progress *Polycystic Ovary Syndrome*, *N Engl J Med*, 352:1223-1236
- Ek I, Arner A, Bergqvist A, Carlstrom K, Wahrenberg H, 1997. Impaired adipocyte lipolysis in nonobese women with the polycystic ovary syndrome: a possible link to insulin resistance? *J Clin Endocrinol and Metab*, 82:1147-1153
- Endoh A, Kristiansen SB, Casson PR, Buster JE, Hornsby PJ, 1996. The zona reticularis is the site of biosynthesis of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in the adult human adrenal cortex resulting from its low expression of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase, *J Clin Endocrinol Metab*, 81:3558-3565
- Escobar-Morreale HF, Calvo RM, Sancho J, and Millan JLS, 2001. TNF- α and Hyperandrogenism: A Clinical, Biochemical and Molecular Genetic Study. *J Clin Endocrinol Metabol*, 86:3761-3767
- Escobar-Morreale HF, Villuendas G, Botella-Carretero JI, Alvarez-Blasco F, Sanchon R, Luque-Ramirez M, et al., 2006. Adiponectin and resistin in PCOS: a clinical, biochemical and molecular genetic study, *Hum Reprod*, 21/9:2257-2265
- Evans JL, 2004. Are Oxidative Stress – Activated Signal Pathways Mediators of Insulin Resistance b-cell Dysfunction?, *Diabetes*, 52:1-8
- Eysenck HJ, 2009. Genetic and Environmental Contributions to Individual Differences: The Three Major Dimensions of Personality, *J Personality*, 58:245-261
- Fang X and Sweeney G, 2006. Mechanism regulating energy metabolism by adiponectin in obesity and diabetes, *Biochemical Society Transactions*, 34:789-801
- Fauser BCJM, 2004. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS), *Hum Reprod*, 19:41-47
- Filippi E, Sentinelli F, Trischitta V, Romeo S, Arca M, Leonetti F, Di Mario U, Baroni MG, 2004. Association of the human adiponectin gene and insulin resistance, *Eur J Hum Genet.*, 12:199-205

- Franks S, 1995. Polycystic Ovary Syndrome, *N Engl J Med*, 333:853-861
- Fujioka S, Matsuzawa Y, Tokunaga K, Tarui S, 1987. Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity, *Metabolism*, 36:54-59
- Galas DJ., Hood L., 2009. Systems biology and emerging technologies will catalyze the transition from reactive medicine to predictive, personalized, preventive and participatory (P4 medicine), *Interdisciplinary Bio Central*, 1:1-4
- Gilling-Smith C, Story H, Rogers V, Franks S, 1997. Evidence for a primary abnormality of thecal cell steroidogenesis in the polycystic ovary syndrome, *Clin Endocrinol (Oxf.)*, 47:93-99
- Greenberg AS, Obin MS, 2006. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism, *Am J of Clinical Nutrition*, 83:461S-465S
- Gromadzka-Ostrowska, 2006. Effects of dietary fat on androgen secretion and metabolism, *Reprod Biol*, 6/Suppl.2:13-20
- Haluzík M, Pařízková J, Haluzík MM, 2004. Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications, *Physiol Res*, 53:123-129
- Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K *et al.*, 2002. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population, *Diabetes*, 51:536–540
- Hattori Y, Suzuki M, Hattori S, Kasai K, 2003. Globular adiponectin upregulates nitric oxide production in vascular endothelial cells, *Diabetologia*, 46:1543-1549
- Hogeveen KN, Cousin P, Pugeat M, Dewailly D, Soudan B, Hammond GL, 2002. Human sex hormone-binding globulin variants associated with hyperandrogenism and ovarian dysfunction, *J Clin Invest*, 109:973-981
- Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeyer HK, Arita Y, Hansen BC, Matsuzawa Y, 2001. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys, *Diabetes*, 50:1126-1133

- Hu E, Liang P, Spiegelman BM, 1996. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *JBC*, 271:10697-10703
- Hudson RW, Lochnan HA, Danby FW, Margesson LJ, Strang BK, Kimmett SM, 1990. 11 beta-hydroxyandrostenedione: a marker of adrenal function in hirsutism, *Fertil Steril*, 54:1065-1071
- Jackson MB and Ahima RS, 2006. Neuroendocrine and metabolic effects of adipocyte-derived hormones, *Clinical Science*, 110:143-152
- Jayagopal V, 2003. The Biological Variation of Testosterone and Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) in Polycystic Ovarian Syndrome : Implications for SHBG as a Surrogate Marker of Insulin Resistance, *J. Clin Endocrinol Metab*, 88:1528-1533
- Jonard S, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Pigny P, Decanter C, and Dewailly D, 2003. Ultrasound examination of polycystic ovaries: is it worth counting the follicles?, *Hum Reprod*, 18:598-603
- Kadowaki T and Yamauchi T, 2005. Adiponectin and Adiponectin Receptors, *Endocrine Reviews*, 26:439-451
- Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergmen RN, Schwartz MW, Neifing JL, Ward WK, Beard JC, Palmer JP and Porte D, 1993. Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function, *Diabetes*, 42:1663-1672
- Kajaia N, Binder H, Dittrich R, Oppelt PG, Flor B, Cupisti S, Beckmann MW, Mueller A, 2007. Low sex hormone-binding globulin as a predictive marker for insulin resistance in women with hyperandrogenic syndrome, *Eur J Endocrinol*, 157:499-507
- Kanai H, Matsuzawa Y, Kotani K, Keno Y, Kobatake T, Nagai Y, Fujioka S, Tokunaga K, Tarui S, 1990. Close correlation of intra-abdominal fat accumulation to hypertension in obese women, *Hypertension*, 16:484-490
- Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G and Quon MJ, 2000. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans, *J Clin Endocrinol Metab*, 85:2402-2410
- Kern PA, Di Gregorio GB, Lu T, Rassouli N and Ranganathan G, 2003. Adiponectin expression from human adipose tissue; Relation to obesity,

- insulin resistance, and tumor necrosis faktor- α expression, *Diabetes*, 52:1779-1785
- Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, *et al.*, 2000. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97:14478-14483
- Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots LR, Azziz R.1998. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study, *J Clin Endocrinol Metab*, 83:3078-3082
- Koivunen R, 2001. Endocrine and metabolic changes in women with polycystic ovaries and with polycystic ovary syndrome, Oulu University Press, Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Oulu, Finland
- Kumar S, O'Rahilly S, 2005. Insulin Resistance : Insulin action and its disturbances in disease, John Wiley & Sons Ltd, England
- Lam TK, van de WG, Giacca A, 2003. Free fatty acids increase basal hepatic glucose production and induce hepatic insulin resistance at different sites, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 284:E281-E290
- Legaly DV, Aad PY, Grado-Ahuir JA, Hulsey LB, Spicer LJ, 2008. Role of adiponectin in regulating ovarian theca and granulosa cell function, *Mol Cell Endocrinol*, 284:38-45
- Legro R,S, 2002, Diabetes prevalence and risk factors in polycystic ovary syndrome, *Curr Opin in Endocrinol & Diab*, 9:451-458
- Leo VD, La Marca A and Petraglia F., 2003. Insulin-Lowering Agents In The Management of Polycystic Ovary Syndrome, *Endocrin Rev*, 24:633-667
- Li TC, Tuckerman EM and Laird SM, 2002. Endometrial factors in recurrent miscarriage, *Hum Reprod Update*, 8:43-52
- Lihn AS, Bruun JM, He G, Pedersen SB, Jensen PF, Richelsen B, 2004. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects, *Mol Cell Endocrinol*, 219:5-15
- Lord E, Ledoux S, Murphy BD, Beaudry D & Palin MF, 2005. Expression of Adiponectin and its Receptors in Swine. *J Animal Science*, 83:99-109

- Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K *et al.*, 2001. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein, *Diabetes*, 50:2094-2099
- Mai K, Bobbert T, Reinecke F, Andres J, Maser-Gluth C, Wudy SA, Mohlig M, Weickert MO, Hartmann MF, Schulte HM, Diederich S, Pfeiffer AF, Spranger J, 2008. Intravenous lipid and heparin infusion-induced elevation in free fatty acids and triglycerides modifies circulating androgen levels in women: a randomized, controlled trial, *J Clin Endocrinol Metab*, 93:3900-3906
- Maillard V, Uzbekova S, Guignot F, Perreau C, Ramé C, Coyral-Castel S, Dupont J, 2010. Effect of adiponectin on bovine granulosa cell steroidogenesis, oocyte maturation and embryo development, *Reprod Biol Endocrinol*, 8:23
- Martin RM, Lin CJ, Costa EM, de Oliveira ML, Carrilho A, Villar H, *et al.*, 2003. P450c17 deficiency in Brazilian patients: biochemical diagnosis through progesterone level confirmed by CYP17 genotyping, *J Clin Endocrinol Metab*, 88:5739-5746
- Matsuda M and DeFronzo RA, 1999. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp, *Diabetes Care*, 22:1462-1470
- Matthews DR, Hosker Jp, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF and Turner RC, 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man, *Diabetologia*, 28:412-419
- Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, Trischitta V and Doria A, 2002. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, 51:2306–2312
- Mesiano S, Katz SL, Lee JY, Jaffe RB, 1997. Insulin-like growth factors augment steroid production and expression of steroidogenic enzymes in human fetal adrenal cortical cells: implications for adrenal androgen regulation, *J Clin Endocrinol Metab*, 82:1390-1396
- Michelmore KF, Balen AH, Dunger DB and Vessey MP, 1999. Polycystic ovaries and associated clinical and biochemical features in young women, *Clin Endocrinol Oxf*, 51:779–786

- Moggetti P, 2002. Insulin resistance : what is its role in the polycystic ovary syndrome?, *Curr Opin in Endocrinol & Diab*, 9:444-450
- Mohlig M, Spranger J, Ristow M, Pfeiffer A, Brabant G and Schofl C, 2003. Hypoadiponectinemia in women with polycystic ovary syndrome – Adiponectin in PCOS, *Clin Endocrinol Diabetes*, 26
- Moran L, Norman RJ, 2004. Understanding and managing disturbances in insulin metabolism and body weight in women with polycystic ovary syndrome, *Best Prac Res Clin Obstet and Gynaecol*, 18:719-736
- Morin-Papunen LC, Vauhkonen I, Koivunen RM, Ruukonen A, Tapanainen JS, 2000. Insulin sensitivity, insulin secretion, and metabolic and hormonal parameters in healthy women and women with polycystic ovarian syndrome, *Hum Reprod*, 15:1266-1274
- Mukherjee S, Maitra A, 2010, Molecular & genetic factor contributing to insulin resistance in polycystic ovary syndrome, *Indian J Med Res*, 131:743-760
- Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M, 1996. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma, *J Biochem*, 120:803–812
- Nakamura T, Tokunaga K, Shimomura I, Nishida M, Yoshida S, Kotani K, Islam AH, Keno Y *et al.*, 1994. Contribution of visceral fat accumulation to the development of coronary artery disease in non-obese men, *Atherosclerosis*, 107:239-246
- Nelson VL, Qin Kn KN, Rosenfield RL, Wood JR, Penning TM, Legro RS, Strauss Illrd JF & McAllister JM, 2001. The biochemical basis for increased testosterone production in theca cells propagated from patients with polycystic ovary syndrome, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86:5925-5933
- Nelson-Degrave VL, Wickenheisser JK, Hendricks KL, Asano T, Fujishiro M, Legro RS, Kimball SR, Strauss JF 3rd, McAllister JM, 2005. Alterations in mitogen-activated protein kinase kinase and extracellular regulated kinase signaling in theca cells contribute to excessive androgen production in polycystic ovary syndrome, *Mol Endocrinol*, 19:379-390
- Nestler JE, Powers LP, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Rittmaster RS, Clore JN, Blackard WG, 1991. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab*, 72:83-89

- Nestler JE, Jakubowicz DJ, 1997. Decreases in ovarian cytochrome P450c17 alpha activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion in polycystic ovary syndrome, *N Engl J Med*, 335:617-623
- Nestler JE, Jakubnowicz DJ, Evans Ws and Pasquali R, 1998. Effects of metformin on spontaneous and clomiphene-induced ovulation in the polycystic ovary syndrome, *N Engl J Med*, 338:1876-1880
- Onat A, Hergenç G, Karabulut A, Albayrak S, Can G, Kaya Z, 2007. Serum sex hormone-binding globulin, a determinant of cardiometabolic disorders independent of abdominal obesity and insulin resistance in elderly men and women, *Metabolism*, 56:1356-1362
- Orio F, 2003. Adiponectin Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome, *J of Clin Endocrinol & Metab*, 88:2619-2623
- Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K, 2003. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease, *Curr Opin Lipidol.*, 14: 561–566
- Pandey AV, Miller WL, 2005. Regulation of 17,20 lyase activity by cytochrome b5 and by serine phosphorylation of P450c17, *J Biol Chem*, 280:13265-13271
- Pangaribuan B, Yusuf I, Lawrence G, 2006. Hubungan Resistensi Insulin, Adiponektin, Resistin, dan *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG) dengan *Polycystic Ovary Syndrome* (PCOS), Fakultas Kedokteran, Universitas Hassanuddin, Makassar
- Panidis D, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Rousso D, and Koliakos G, 2003. Serum adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome, *Hum Reprod*, 18:1790-1796
- Panidis D, Kourtis A, Kukuvtis A, Farmakiotis D, Xita N, Georgiou I, and Tsatsoulis A, 2004. Association of the T45G polymorphism in exon 2 of the adiponectin gene with polycystic ovary syndrome: role of Δ_4 -androstenedione, *Hum Reprod*, 19:1728-1733
- Payne AH, Hales DB, 2004. Overview of Steroidogenic Enzymes in the Pathway from Cholesterol to Active Steroid Hormones, *Endocrine Reviews*, 25:947-970
- Pierre P, Froment P, Negre D, Ramel C, Barateau V, Chabrolle C, Lecomte P, Dupont J, 2009. Role of adiponektin receptors, AdipoR1 and

- AdipoR2, in the steroidogenesis of the human granulosa cell line, KGN, *Hum Reprod*, 24:2890-2901
- Piltonen T, Koivunen R, Morin-Papunen L, Ruokonen A, Huhtaniemi IT, Tapanainen JS, 2002. Ovarian and adrenal steroid production: regulatory role of LH/HCG, *Hum Reprod*, 17:620-624.
- Polonsky KS, Given BD, Hirsch L, Shapiro ET, Tillil H, Beebe C, Galloway JA, Frank BH, Karrison T, Van Cauter E, 1988. Quantitative study of insulin secretion and clearance in normal and obese subjects, *J Clin Invest*, 81:435-441
- Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, and Giudice LC, 1999. The Insulin-Related Ovarian Regulatory System in Health and Disease, *Endo Rev*, 20:535-582
- Rajala ME and Sherer PE, 2003. Minireviews: The adipocyte – At the crossroads of energy homeostasis, inflammations, and atherosclerosis, *Endocrinology*, 144:3765-3773
- Ramachandran R, Ocon-Grove Om & Metzger SL, 2007. Molecular cloning and tissue Expression of Chicken AdipoR1 and AdipoR2 Complementary DNA. *Domest Anim Endocrinol*, 33:19-31
- Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and longterm health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS), *Human Reproduction* 19: 41-47
- Riffenburgh RH, 2006. Statistics in Medicine, Elsevier Academic Press, 30 Corporate Drive, Suite 400, Burlington, MA 01803, USA
- Rodin A, Thakkar H, Taylor N, Clayton R, 1994. Hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. Evidence of dysregulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase, *N Engl J Med*, 330:460-465
- Romualdi D, Giuliani M, Draisci G, Costantini B, Cristello F, Lanzone A, Guido M, 2007. Pioglitazone reduces the adrenal androgen response to corticotropin-releasing factor without changes in ACTH release in hyperinsulinemic women with polycystic ovary syndrome, *Fertil Steril*, 88:131-138
- Schaffler A, Barth N, Palitzsch KD, Drobnik W, Scholmerich J and Schmitz G, 2000. Mutation analysis of the human adipocyte-specific apM-1 gene, *Eur J Clin Invest*, 30:879–887

- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G and Lodish HF, 1995. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes, *JBC*, 270:26746–26749
- Sekar, N, LaVoie HA, Veldhuis JD, 2000. Concerted regulation of steroidogenic acute regulatory gene expression by luteinizing hormone and insulin (or insulin-like growth factor I) in primary cultures of porcine granulosa-luteal cells, *Endocrinology*, 141:3983-3992
- Seow KM, Juan CH, Wu LY, Hsu YP, Yang WM, Tsai YL, Hwang JL and Ho LT, 2004. Serum and adipocyte resistin in polycystic ovary syndrome with insulin resistance, *Hum Reprod* 19:48-53
- Sewer MB, Waterman MR, 2003. ACTH modulation of transcription factors responsible for steroid hydroxylase gene expression in the adrenal cortex, *Microsc Res Tech* 61:300-307
- Silha JV, Krsek M, Skrha JV, Sucharda P, Nyomba BLG and Murphy LJ, 2003. Plasma Resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance, *Eur J Endocrinol*, 149:331-335
- Silfen ME, Manibo AM, McMahon DJ, Levine LS, Murphy AR and Oberfield SE, 2001. Comparison of simple measures of insulin sensitivity in young girls with premature adrenarche: the fasting glucose to insulin ratio may be a simple and useful measure, *J Clin Endocrinol Metab*, 86:2863-2868
- Small CM, Marcus M, Sherman SL, Sullivan AK, Manatunga AK, Feigelson HS, 2005. CYP17 genotype predicts serum hormone levels among premenopausal women, *Hum Reprod*, 20:2162-2167
- Speroff L, 2005. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Lippincott Williams & Wilkins, 7:465-491
- Stumvoll M, Tschratter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, Machicao F and Haaring H, 2002. Association of the T-G polymorphism in adiponectin gene (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes, *Diabetes*, 51:37–41
- Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M, Himomura I, Hotta K, Kuriyama H, Kihara S *et al.*, 2000. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin, *Int J Obes Relat Metab Disord*, 24:861–868

- Taponen S, 2004. Metabolic and clinical characteristics of women with self-reported symptoms of polycystic ovary syndrome, Academic Dissertation to be presented with the assent of the Faculty of Medicine, University of Oulu
- The Asia Pacific Perspective, 2002. Redefining obesity and its treatment, WHO Western Pacific Region, International Association for the Study of Obesity and the International Obesity Task Force
- Tsilchorozidou T, Overton C and Conway GS, 2004. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome, *Clin Endocrinol*, 60:1-17
- Trayhurn P, and Wood IS, 2004. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition* 92:347-55
- Toulis KA, Goulis DG, Farmakiotis D, Georgopoulos NA, Katsikis I, Tarlatzis BC, *et al.*, 2009. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and a meta-analysis, *Hum Reprod Update*, 15:297-307
- Tritos NA and Matzoros CS, 1998. Syndromes of severe insulin resistance, *J Clin Endocrinol Metab*, 83:3125-3030
- Trujillo ME, Schere PE, 2005. Adiponectin-journey from an adipocyte secretory protein to biomarker of the metabolic syndrome, *J Intern Med*, 257:167-175
- Tsilchorozidou T, 2004. The Pathophysiology of Polycystic Ovary Syndrome, *Clin Endocrinol*, 60:1-17
- Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Sjostrom L and Bouchard C, 2003. Mutations in the adiponectin gene in lean and obese subjects from the Swedish obese subjects cohort, *Metabolism*, 52:881–884
- Wallace TM, Levy JC and Matthews DR, 2004. Use and Abuse of HOMA modelling, *Diabetes Care Rev*, 27:1487-1495
- Xita N, Georgiou I, Chatzikyriakidou A, Vounatsou M, Papassotiriou GP, Papassotiriou I and Tsatsoulis A, 2005. Effect of Adiponectin Gene Polymorphisms on Circulating Adiponectin and Insulin Resistance Indexes in Women with Polycystic Ovary Syndrome, *Clin Chem*, 51:416-423

- Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, et al., 2003. The cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects, *Nature*, 423:762-769
- Yang WS, Tsou PL, Lee WJ, Tseng DL, Chen CL, Peng CC, Lee KC, Chen MJ, Huang CJ, Tai TY *et al.*, 2003. Allele-specific differential expression of a common adiponectin gene polymorphism related to obesity, *J Mol Med*, 81:428–434
- Zietz B, Barth N, Scholmerich J, Schmitz G and Schaffler A, 2001. Gly15Gly polymorphism within the human adipocyte specific apM-1 gene but not Tyr111His polymorphism is associated with higher levels of cholesterol and LDL-cholesterol in caucasian patients with type 2 diabetes, *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 109:320–325

Lampiran 1

Perhitungan Besar Sampel Penelitian

Digunakan rumus besar sampel dari dua kelompok tidak berpasangan (independen) dengan studi kasus kontrol tidak berpasangan (Dahlan, 2009) :

$$N_1 = N_2 = \frac{\left\{ Z_{\alpha} \sqrt{2PQ} + Z_{\beta} \sqrt{P_1Q_1 + P_2Q_2} \right\}^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

Keterangan :

- N_1 = N_2 = Perkiraan besar sampel kelompok kontrol dan kelompok kasus
- Z_{α} = Deviat baku alfa
- Z_{β} = Deviat baku beta
- P_2 = Proporsi pada kelompok standar, tidak berisiko, tidak terpajan atau kontrol
- Q_2 = $1 - P_2$
- $P_1 - P_2$ = Selisih proporsi minimal yang dianggap bermakna
- P_1 = Proporsi pada kelompok uji, berisiko, terpajan atau kasus
- Q_1 = $1 - P_1$
- $P_1 - P_2$ = proporsi total = $(P_1 + P_2)/2$
- Q = $1 - P$

Hasil perhitungan :

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Pangaribuan (2004):

1. Variabel adiponektin:

$$P_2 \text{ (proporsi kadar adiponektin rendah pada kelompok tidak PCOS)} = 0,29$$

$$Q_2 = 1 - P_2 = 0,71$$

$$P_1 - P_2 = 0,38$$

$$P_1 = 0,38 + 0,29 = 0,67$$

$$Q_1 = 1 - P_1 = 0,33$$

$$P = (P_1 + P_2)/2 = (0,67 + 0,29)/2 = 0,48$$

$$Q = 1 - P = 1 - 0,48 = 0,52$$

$$N_1 = N_2 = \frac{(1,64 \sqrt{(2 \times 0,48 \times 0,52)} + 0,84 \sqrt{((0,67 \times 0,33) + (0,29 \times 0,71))})^2}{(0,67 - 0,29)^2}$$

$$N_1 = N_2 = 21 \approx 25$$

2. Variabel testosteron:

$$P_2 \text{ (proporsi kadar testosteron tinggi pada kelompok tidak PCOS)} = 0,29$$

$$Q_2 = 1 - P_2 = 0,71$$

$$P_1 - P_2 = 0,42$$

$$P_1 = 0,42 + 0,29 = 0,71$$

$$Q_1 = 1 - P_1 = 0,29$$

$$P = (P_1 + P_2)/2 = (0,71 + 0,29)/2 = 0,5$$

$$Q = 1 - P = 1 - 0,5 = 0,5$$

$$N_1 = N_2 = \frac{(1,64 \sqrt{(2 \times 0,5 \times 0,5)} + 0,84 \sqrt{((0,71 \times 0,29) + (0,29 \times 0,71))})^2}{(0,71 - 0,29)^2}$$

$$N_1 = N_2 = 17 \approx 20$$

3. Variabel HOMA:

P_2 (proporsi yang mengalami resistensi insulin pada kelompok tidak PCOS) = 0,04

$$Q_2 = 1 - P_2 = 0,96$$

$$P_1 - P_2 = 0,38$$

$$P_1 = 0,38 + 0,04 = 0,42$$

$$Q_1 = 1 - P_1 = 0,58$$

$$P = (P_1 + P_2)/2 = (0,42 + 0,04)/2 = 0,23$$

$$Q = 1 - P = 1 - 0,23 = 0,77$$

$$N_1 = N_2 = \frac{(1,64 \sqrt{(2 \times 0,23 \times 0,77)} + 0,84 \sqrt{((0,42 \times 0,58) + (0,04 \times 0,96))})^2}{(0,42 - 0,04)^2}$$

$$N_1 = N_2 = 14 \approx 15$$

Dari hasil perhitungan besar sampel berdasarkan ketiga variabel tersebut, maka minimal besar sampel yang digunakan adalah **25 (yaitu besar sampel yang tertinggi)**.

Lampiran 2

PENJELASAN BAGI PESERTA PENELITIAN

Assalamualaikum/ Selamat pagi/siang/sore, perkenalkan saya Bertha, mahasiswa Program Pasca sarjana S3 dari Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin Makassar, sedang melakukan penelitian tentang sindrom polikistik ovarium yang sering terjadi pada wanita yang tidak subur. Sebelumnya perkenankan saya untuk menjelaskan terlebih dahulu kepada Ibu mengenai maksud dan tujuan dari penelitian yang akan saya lakukan.

Salah satu penyebab terjadinya kegagalan kehamilan pada wanita subur (wanita reproduktif) adalah anovulasi, yaitu suatu keadaan dimana rahim (ovarium) tidak dapat melepaskan sel telur yang matang disetiap siklus menstruasi normal. Banyak faktor penyebab terjadinya anovulasi, salah satu diantaranya adalah sindrom polikistik ovarium (*polycystic ovary syndrome*, PCOS). PCOS adalah suatu sindroma dari kegagalan fungsi rahim (disfungsi ovarium) yang disertai dengan keadaan peningkatan hormon kelakian (hiperandrogenisme) dan ditemukannya banyak kistik di rahim (*polycystic ovary*, PCO). PCOS merupakan satu diantara beberapa penyakit endokrin yang paling sering terjadi pada wanita, yang tidak hanya mengakibatkan terjadinya anovulasi dan tanda kelakian seperti tumbuhnya rambut-rambut di daerah tubuh yang umumnya terjadi pada lelaki (hirsutisme), tetapi juga erat kaitannya dengan terjadinya gangguan metabolik yang pada waktu jangka panjang dapat mengakibatkan terjadinya keadaan Diabetes Melitus (DM), penyakit kardiovaskular, atau keganasan pada ovarium. Sampai saat ini PCOS belum dapat diatasi dengan baik, karena banyak faktor yang dapat mempengaruhi keadaan PCOS, salah satunya adalah Adiponektin. Adiponektin adalah suatu hormon protein yang diproduksi dan dikeluarkan secara eksklusif oleh sel-sel lemak, dan diduga pada penderita PCOS kadar Adiponektin cenderung rendah. Namun demikian sampai saat ini hubungan antara Adiponektin dengan PCOS belum jelas benar.

Sehubungan dengan hal tersebut saya bermaksud mengadakan penelitian untuk melihat peran dari Adiponektin dan faktor-faktor genetik yang terkait dengan Adiponektin dan PCOS pada wanita usia subur (reproduktif)

yang mengalami PCOS. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara Adiponektin dan faktor-faktor genetik yang terkait dengan Adiponektin dan PCOS yang diduga berperan dalam proses terjadinya PCOS pada wanita usia subur (reproduktif).

Dengan lebih diketahuinya hubungan tersebut, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi dunia ilmu kedokteran dalam mengatasi kasus-kasus infertil yang disebabkan oleh PCOS mulai dari upaya deteksi dini, pencegahan dan penanganan yang tepat.

Berdasarkan hal tersebut maka saya sangat mengharapkan kesediaan ibu untuk ikut serta dalam penelitian ini. Keikutsertaan ibu dalam penelitian ini bersifat sukarela dan tanpa paksaan, oleh karena itu ibu berhak untuk menolak atau mengundurkan diri tanpa risiko kehilangan hak untuk mendapat pelayanan kesehatan di rumah sakit / klinik ini.

Bila ibu bersedia ikut serta dalam penelitian ini, diharapkan ibu dapat memberikan persetujuan secara tertulis pada formulir yang telah disediakan. Selanjutnya akan ada beberapa pertanyaan mengenai ibu, antara lain data pribadi, riwayat kesehatan dan pekerjaan/aktivitas ibu. Dokter akan melakukan beberapa pemeriksaan antara lain pemeriksaan tekanan darah dan keadaan umum ibu, serta pemeriksaan rahim ibu dengan menggunakan alat USG. Ibu juga akan diambil darahnya untuk dilakukan pemeriksaan laboratorium berupa Adiponektin, hormon-hormon reproduksi, dan pemeriksaan lainnya yang terkait dengan PCOS. Untuk lebih jelasnya dapat ibu lihat pada Lembar Permintaan Pemeriksaan yang akan dibuat oleh Dokter dan dibawa oleh ibu ke laboratorium. Identitas dan semua data yang terkait dengan ibu akan kami jaga kerahasiaannya.

Pemeriksaan laboratorium akan dilakukan oleh petugas dari Laboratorium Klinik Prodia dengan cara diambil darah pada pembuluh darah di lipatan siku ibu sebanyak 3 kali dengan selang waktu 20 menit antar proses pengambilan. Hal ini dikarenakan sifat hormon yang tidak stabil dan dapat berubah-ubah kadarnya saat diperiksa. Sehingga untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang dapat mewakili kadar hormon yang sebenarnya, dapat diantisipasi dengan cara pengambilan darah 3 kali dengan selang waktu 15-30 menit. Untuk dapat memenuhi kebutuhan pemeriksaan laboratorium tersebut, total darah ibu yang akan diambil adalah sebanyak kira-kira 24 cc

(darah I : 10 cc, darah II dan III : @ 7 cc). Pada saat melakukan pemeriksaan laboratorium ibu diminta untuk puasa antara 10-12 jam (contoh : terakhir makan jam 8 malam, datang ke Laboratorium Klinik Prodia jam 7 pagi), dan ibu juga akan diberi asupan minuman glukosa setara dengan 75 gram setelah proses pengambilan darah pertama. Serta diakhir proses ibu juga akan diberi makan oleh petugas Laboratorium Klinik Prodia.

Proses pengambilan darah akan menimbulkan sedikit rasa sakit sebagaimana rasanya bila disuntik, juga bisa timbul memar ringan atau terjadi infeksi, namun terjadinya hal ini sangat kecil kemungkinannya karena pengambilan darah dilakukan secara bebas hama oleh petugas yang sudah terlatih dan ahli dibidangnya. Walaupun kemungkinannya kecil, namun bila terjadi dampak buruk akibat pengambilan darah ini, maka akan ditangani sebagaimana mestinya dengan mengikuti standar prosedur operasional yang ada di Laboratorium Klinik Prodia. Darah yang diambil tadi akan digunakan untuk beberapa pemeriksaan, yaitu pemeriksaan darah yang biasa dilakukan di rumah sakit untuk melihat kadar dari jenis-jenis pemeriksaan hormon yang berhubungan dengan PCOS dan sifat genetik yang berhubungan dengan Adiponektin pada PCOS.

Keuntungan yang akan ibu dapatkan dengan mengikuti penelitian ini adalah dapat mengetahui status kesehatan ibu khususnya yang terkait dengan kasus infertil dan penyakit PCOS, melalui pemeriksaan USG dan laboratorium secara cuma-cuma (tidak dikenakan biaya), yang apabila dihitung nilai nominalnya yaitu sekitar Rp.5.000.000 (lima juta rupiah). Semua biaya yang ada hubungannya dengan penelitian ini akan ditanggung oleh peneliti. Tentunya disamping memberikan manfaat bagi ibu sendiri, hasil penelitian ini juga diharapkan akan sangat bermanfaat bagi ibu-ibu lain yang menderita penyakit ini. Demikian pula halnya dalam dunia ilmu pengetahuan kesehatan di bidang laboratorium klinik dan kedokteran, hasil penelitian ini akan menambah informasi mengenai pengaruh Adiponektin dan faktor-faktor genetik yang terkait pada kejadian PCOS. Oleh karena itu saya akan sangat menghargai dan berterima kasih akan kepedulian serta keikutsertaan ibu terhadap pengembangan ilmu kedokteran.

Sekali lagi perlu ibu ketahui, bahwa keikutsertaan ibu dalam penelitian ini bersifat sukarela dan tanpa paksaan, sehingga ibu mempunyai hak untuk

menolak ikut dalam penelitian ini. Demikian juga bila nantinya terjadi hal-hal yang tidak memungkinkan ibu untuk terus ikut dalam penelitian ini, atau ibu merasa tidak bersedia lagi ikut, maka ibu berhak untuk mengundurkan diri. Penolakan atau pengunduran diri ibu tersebut tidak akan mempengaruhi pelayanan kesehatan yang seharusnya ibu dapatkan. Apabila di kemudian hari terjadi perbedaan pendapat yang berkaitan dengan keikutsertaan ibu dalam penelitian ini, maka hal tersebut akan diselesaikan secara kekeluargaan.

Data hasil penelitian ini akan dikumpulkan, diolah, dianalisis dan disimpan tanpa menyebutkan nama ibu dalam arsip tertulis atau elektronik (komputer), tidak bisa dilihat oleh orang lain selain peneliti atau tim dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNHAS Makassar. Identitas ibu akan tetap dirahasiakan (anonim) apabila penelitian ini akan diajukan atau dipublikasikan pada :

- Forum ilmiah Program Pasca Sarjana (S3) Universitas Hasanuddin
- Publikasi pada jurnal ilmiah kedokteran yang ada di dalam maupun luar negeri

Apabila masih ada hal-hal yang belum jelas atau belum dimengerti dengan baik oleh ibu, dapat menanyakan atau minta penjelasan pada saya : Dra. Bertha Pangaribuan, MSi, Apt (No. HP : 08129291415, No. Flexi : 02170555541).

Akhir kata jika ibu setuju untuk ikut serta dalam penelitian ini, saya mengharapkan ibu dapat menandatangani surat persetujuan untuk mengikuti penelitian (*Informed Consent*). Atas kesediaan dan kerjasama yang ibu berikan, saya ucapkan terima kasih.

**DISETUJUI OLEH
KOMISI ETIK PENELITIAN
KESEHATAN
FAK. KEDOKTERAN UNHAS
Tgl. 16 Januari 2009**

Identitas peneliti :

Nama : **Dra. Bertha Pangaribuan, MSi, Apt**

Alamat : Taman Meruya Ilir Blok H5 No.5, Meruya Ilir, Jakarta -
11530

Telepon : 021-70555541 / HP. 08129291415

Dokter penanggung jawab medis :

Nama :

HP :

Lampiran 3**FORMULIR PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN
(Informed Consent)****SURAT PERSETUJUAN**

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama :
 Tanggal lahir :
 Alamat :

Setelah mendengar, membaca dan mengerti penjelasan yang diberikan oleh, baik mengenai tujuan penelitian, manfaat yang akan diperoleh pada penelitian ini, serta risiko yang mungkin terjadi, maka dengan ini saya menyatakan setuju untuk ikut serta dalam penelitian ini secara sukarela, tanpa paksaan dan dalam keadaan sadar sepenuhnya.

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, dan kemungkinan terjadinya hal-hal yang tidak diinginkan, menjadi beban peneliti.

Apabila terjadi perselisihan akan diselesaikan secara musyawarah untuk mencapai mufakat.

Jakarta,2009

(Saksi)

(Subyek penelitian)

(.....)
 (.....)

Identitas peneliti

Nama :

HP. :

**DISETUJUI OLEH
 KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
 FAK. KEDOKTERAN UNHAS
 Tgl. 16 Januari 2009**

Dokteranggung jawab medis:

Nama :

HP. :

Lampiran 4

FORMULIR RIWAYAT KESEHATAN SUBYEK PENELITIAN

PenSIP/00508-Bartf

FORM RIWAYAT PASIEN

A. IDENTITAS

Nama : _____
 Tanggal Lahir : _____
 Suku Bangsa : _____
 Lokasi Penelitian : _____
 Dr. Penghiti : _____
 Pendidikan terakhir : SD / SMP / SLTA / ST / Lainnya

B. RIWAYAT MEDIS

Pemeriksaan dilakukan oleh Peluang Pro dia :

- Tinggi badan (m) : _____
 - Berat badan (kg) : _____
 - Lingkar perut (cm) : _____
 - Tekanan darah sistolik : _____
 - Tekanan darah diastolik : _____

Riwayat Menstruasid :

- Umur pertama kali haid : _____
 - Lama hari haid : _____
 - Apakah haid anda teratur? Ya Tidak
 - Berapakah selang antar tiap siklus haid? : _____
 - Tanggal haid terakhir terakhir : _____

Riwayat Hirsutisme :

ya, di area : tidak
 - bawah hidung (kumis)
 - luar telinga (dambong)
 - dada
 - lainnya :

Berikut ini adalah daftar penyakit yang pernah dialami oleh subjek dalam penelitian ini. Apakah benar?		
Penyakit / Kondisi	Ya	Tidak
Kencing manis		
Jantung		
Tekanan Darah Tinggi		
Stroke / Lumpuh		
TBC		
Penyakit Ginjal		
Tumor Ganas / Kanker		
Penyakit Gondok / Tiroid		
Asma		
Alergi		
Gangguan Tikur		

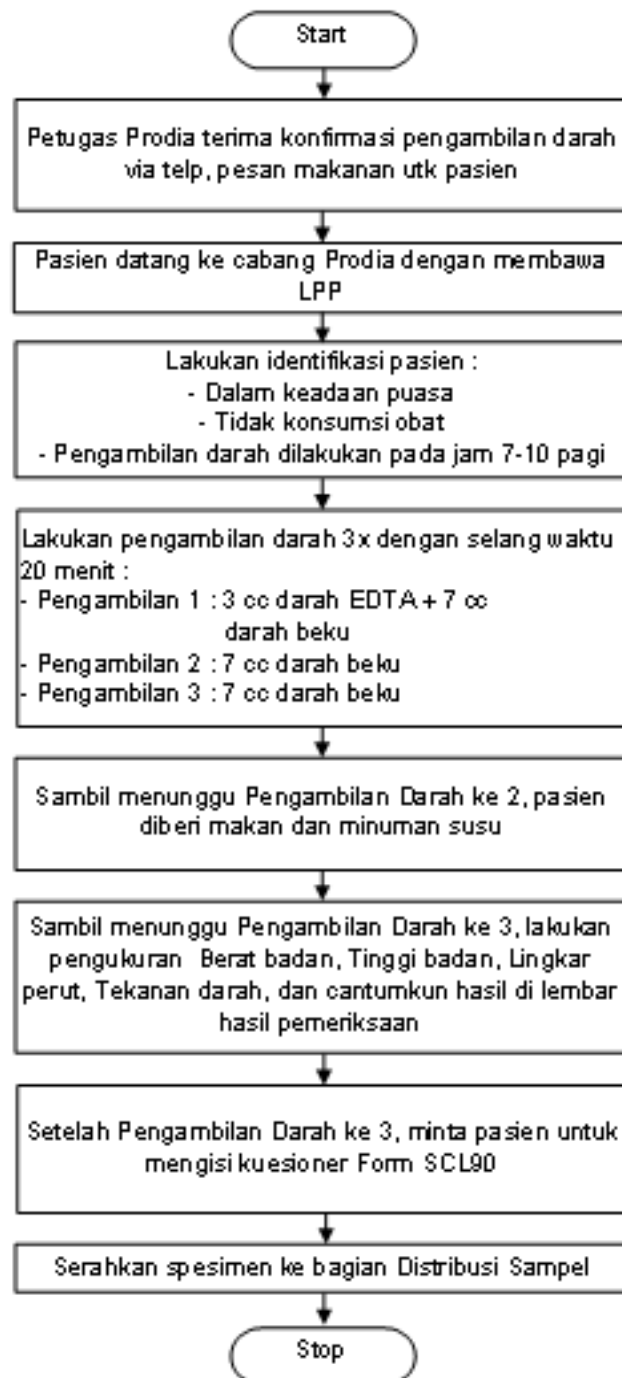
Berikut adalah daftar kebiasaan yang pernah dialami oleh subjek dalam penelitian ini.		
Kebiasaan	Ya	Tidak
Minuman Alkohol		
Merokok	(.... Batang/hari)	

C. RIWAYAT KESEHATAN KELUARGA

Berikut ini adalah daftar riwayat kesehatan yang dialami oleh keluarga inti (ayah, ibu, dan saudara kandung) subjek dalam penelitian ini.		
Penyakit / Kondisi	Ya	Tidak
Imunil / tidak punya keturunan		
Kanker osokum / leher rahim		
Kencing manis		
Diabetes		
Jantung		
Lahir kembar /twins		

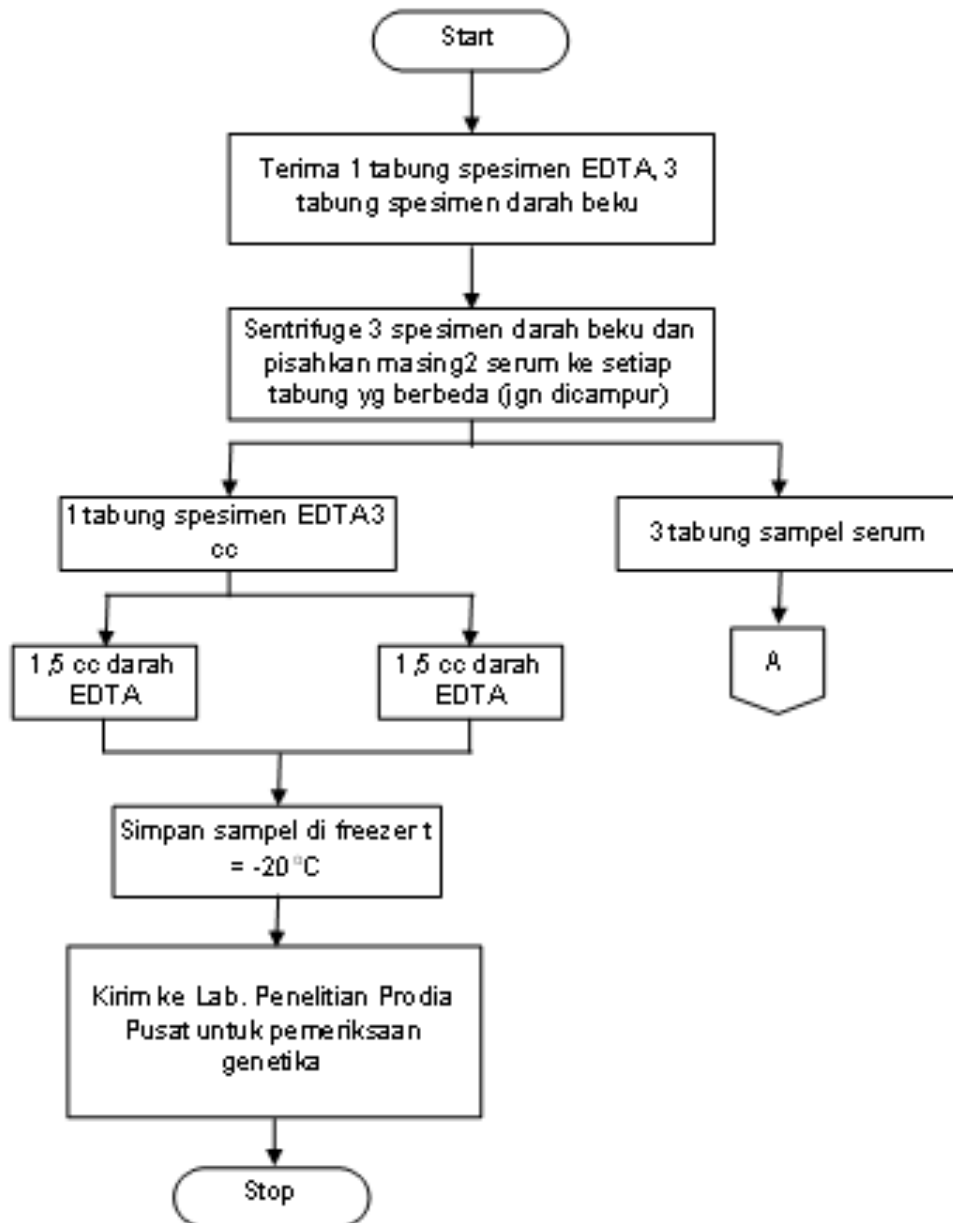
Lampiran 5

ALUR PENANGANAN SUBYEK PENELITIAN DI LABORATORIUM



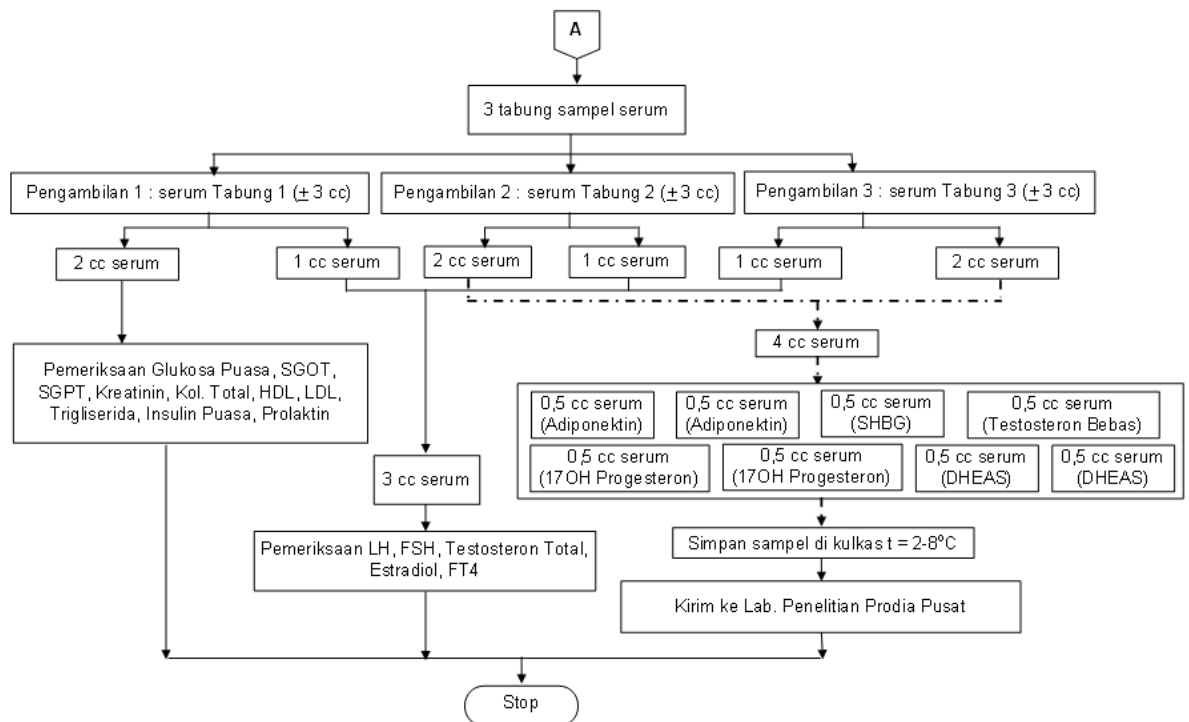
Lampiran 6

ALUR PENANGANAN SAMPEL PENELITIAN



Lampiran 6 (lanjutan)

ALUR PENANGANAN SAMPEL PENELITIAN



Lampiran 7

Pemeriksaan Polimorfisme Gen Adiponektin

Pemeriksaan polimorfisme genetik adiponektin dilakukan di Laboratorium Molekular (Laboratorium Klinik Prodia), pelaksana laboratorium adalah staf yang terlatih dan mempunyai kompetensi dalam bidangnya. Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggunakan sampel darah EDTA. Tahapan pengerjaan pemeriksaan ini adalah :

1. Ekstraksi dan isolasi DNA
2. Amplifikasi DNA dengan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)
3. Deteksi dengan metode elektroforesis
4. RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN

I. Reagen

Ekstraksi:

- QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit (Qiagen. Cat: 5110:50 reaksi atau Qiagen Cat: 51106:250 reaksi).
- Ethanol 96%-100%

Amplifikasi:

- Primer Adiponectine- F (Eurogentec AIT)

- Primer Adiponectine- R (Eurogentec AIT)
- Taq DNA Polymerase (Invitrogen.Cat.No.10966-018)
- dNTP Mix (Invitrogen. Cat.No.10297-018)
- ddH₂O-DEPC

Deteksi:

- Agarose (Diastika. Cat. No.V3121)
- TAE 10 X (Duastika. Cat. No.V 4271)
- Ethidium Bromide (Diastika. Cat. No.H5041)
- Blue Orange Loading Dye 6X (Promega. Cat.No.G1881)
- Ladder 100 bp (Promega. Cat. No.G 2101)
- Aquabidest

RFLP:

- Enzim REstriksi Sma I (AIT)
- ddH₂O-DEPC

II. Barang Pembantu

- Tabung PCR (0.2 mL)
- Tabung *Microcentrifuge* 0.5 mL
- Tabung *Microcentrifuge* 1.5 mL
- *Barrier Tips Set* (0.2 μ L-1000 μ L)
- *Tips* (0.2 μ L-1000 μ L)

- *Polaroid Film*
- *Gloves*
- *Tissue*
- Parafilm

III. Peralatan

- *Thermal Cycler* (Perkin-Elmer 2400)
- *Micropipet set* (0.2 μ L-1000 μ L)
- *Electroforesis Set*
- *UV Transluminator*
- Kamera Polaroid
- Gelas Ukur (100 mL -1L)
- *Erlenmeyer* (100 mL -250 mL)
- Neraca Analitik
- *Microwave*
- Centrifuge

PROSEDUR

Ekstraksi dan isolasi DNA

Reagen : QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit (Qiagen. Cat:
51104)

Sampel : Darah EDTA (*Buffy Coat*)

Preparasi :

a. Reagen

1. Qiagen Protease (untuk 50 reaksi) :

- Larutkan Lyophilized QIAGEN Protease dengan 1.2 mL Protease Solvent.
- Stabil selama 2 bulan pada temperatur 2-8°C.
- Stabil lebih lama pada temperatur -20°C.
- Dibuat *aliquot* untuk menghindari beku cair.

2. Buffer AL

- Kocok Buffer AL sebelum digunakan.
- Stabil pada suhu kamar selama 1 tahun.

3. Buffer AW1

- Larutkan Buffer AW1 dengan 25 µL etanol (96-100%).
- Stabil pada suhu kamar selama 1 tahun.

4. Buffer AW2

- Larutkan Buffer AW2 dengan 30 μ L etanol (96-100%).
- Stabil pada suhu kamar selama 1 tahun.

b. Prosedur :

1. Cairkan sampel pada suhu kamar.
2. Set *waterbath* pada temperatur 56°C.
3. Cairkan buffer AE atau ddH₂O pada suhu kamar.
4. Pastikan bahwa buffer AW1, buffer AW2 dan QIAGEN Protease telah disiapkan.
5. Jika endapan terbentuk pada Buffer AL, inkubasi pada 56°C hingga endapan larut.

Prosedur :

1. Pipet 20 μ L QIAGEN Protease (Proteinase K) ke dalam tabung *microcentrifuge* 1,5 mL.
2. Tambahkan 200 μ L sampel ke dalamnya.
3. Tambahkan 200 μ L Buffer AL pada suhu kamar *vortex* selama 15 detik.
4. Inkubasi pada 56°C selama 10 menit.
5. *Spindown*.

6. Tambahkan 200 μ L etanol (96%-100%) pada suhu kamar *vortex* selama 15 detik. *Spindown*.
7. Pindahkan campuran (620 μ L) ke QIAamp Mini Spin Column (jangan membasahi rim). *Centrifuge* pada 20000xg (14000 rpm) selama 1 menit (selain Buffy Coat : 6000xg (8000rpm) selama 1 menit). Ganti *collection tube*. Buang filtrat.
8. Tambahkan 500 μ L Buffer AW1 (jangan membasahi rim). *centrifuge* pada 6000 xg (8000 rpm) selama 1 menit. Buang filtrat ganti *collection tube*.
9. Tambahkan 500 μ L Buffer AW2 (jangan membasahi rim). *centrifuge* pada 20.000xg (14.000 rpm) selama 3 menit.
10. Ganti *collection tube* dengan tabung *microcentrifuge* 1,5 mL. *Sentrifuge* pada 20.000xg (14.000 rpm) selama 1 menit.
11. Ganti tabung *microcentrifuge* 1,5 mL dengan tabung *microcentrifuge* 1.5 mL baru. Tambahkan 200 μ L Buffer AE atau *aquadest*. Inkubasi selama 5 menit pada suhu kamar. *Centrifuge* pada 6000xg (8000 rpm) selama 1 menit.
12. Segera gunakan ekstrak DNA atau simpan pada 2-8°C atau pada -15 °C sampai - 25°C untuk waktu penyimpanan lebih lama.

Amplifikasi :

1. Buat Master Mix sesuai tabel (*on ice*) :

Reagen & konsentrasi <i>stock</i>	Volume total 25 μL per 1 tes	Konsentrasi akhir
	Volume (μL)	
Buffer PCR 5x	5	1x
dNTP Mix 10mM	0,5	0.2 mM
MgCl 25 mM	1,5	1.5 mM
Taq DNA Polymerase 5U/ μL	0,1	01 unit
Template	5	(20-150) ng
Primer Forward 20 μM	0,5	0.4 μM
Primer Reverse 40 μM	0,25	0.4 μM
ddH ₂ O	12,15	
Total volume	25	

Primer adiponektin :**Forward :**

GAAGTAGACTCTGCTGAGATGG

Reverse :

AGATGCAGCAAAGCCAAAGT

2. Masukkan 20 μL *master mix* ke dalam tabung *microcentrifuge* 200 μL .
3. Tambahkan *template* / ekstrak ke dalamnya.
4. *Vortex* sesaat kemudian *spindown*.
5. Masukkan ke *thermocycler* yang telah di-*setting* untuk proses amplifikasi.

Cycle Condition :

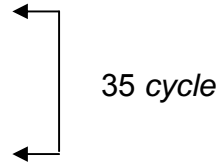
Step 1 : 94°C selama 3 menit

Step 2 : 94°C selama 30 detik

Step 3 : 55°C selama 30 detik

Step 4 : 72°C selama 1 menit

Step 5 : 72°C selama 5 menit



6. Segera gunakan amplikon atau simpan pada suhu -15°C sampai -25°C.

Deteksi dengan metode elektroforesis**Pembuatan Gel 2% :**

1. Timbang 0.6 gr Agarose Gel.
2. Tambahkan 30 mL TAE satu kali. Kocok hingga homogen.
3. Masukkan ke *microwave* hingga mendidih. Keluarkan setiap 30 detik.
Kocok.
4. Ulangi sebanyak dua kali.
5. Setelah $\pm 50^\circ\text{C}$. Masukkan 3 μL Ethidium Bromida. Tutup dengan *aluminium foil*.
6. Kocok hingga homogen.
7. Tuang ke *UV gel tray*. Letakkan *comb*. Hindari terjadinya *bubble*.
8. Setelah beku, tarik *comb* dari gel secara perlahan.

9. Masukkan gel dan *UV Gel Tray* ke dalam elektroforesis *tank* yang telah berisi TAE 1x hingga batas maksimum.

Prosedur elektroforesis :

1. Renggangkan parafilm di atas *box tips* kosong.
2. Pipet 2 μL Loading Dye ke atas parafilm sebanyak sampel yang di butuhkan.
3. Pipet 5 μL sampel atau 5 μL kemudian campur dengan memipet *up* dan *down*.
4. Masukkan campuran ke dalam gel.
5. Tutup elektroforesis *tank*.
6. *Running* pada 100 V selama ± 30 menit .
7. Tekan *Stop*.
8. Pindahkan *UV gel tray* dan gel ke atas *transiluminator* . .
9. Dokumentasikan.

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

RFLP dilakukan dengan menggunakan **enzim restriksi *Sma***

1. Buat *master mix* sesuai tabel (*on ice*):

Reagen & Konsentrasi Stok	Untuk Vol 20 μ L
	Per 1 tes
	Vol (μ L)
<i>Sma</i>	0.2
Buffer M 10x	1
Amplicon	7
H ₂ O	1.8
Total Volume	10

2. Masukkan 3 μ L *master mix* ke dalam tabung *microcentrifuge* 200 μ L.
3. Tambahkan dengan 7 μ L amplicon DNA positif.
4. Inkubasi pada suhu kamar selama 1 jam
5. Lanjutkan ke prosedur elektroforesis.

Lampiran 8

Pemeriksaan Polimorfisme Gen CYP17

Pemeriksaan polimorfisme genetik CYP17 dilakukan di Laboratorium Molekular (Laboratorium Klinik Prodia), pelaksana laboratorium adalah staf yang terlatih dan mempunyai kompetensi dalam bidangnya. Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggunakan sampel darah EDTA (*Buffy Coat*). Tahapan pengerjaan pemeriksaan ini adalah :

1. Ekstraksi dan isolasi DNA
2. Amplifikasi DNA dengan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)
3. Deteksi dengan metode elektroforesis
4. RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN

II. Reagen

Ekstraksi:

- QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit (Qiagen. Cat: 5110:50 reaksi atau Qiagen Cat: 51106:250 reaksi).
- Ethanol 96%-100%

Amplifikasi:

- Primer CYP17-F (Eurogentec AIT).

- Primer CYP17-R (Eurogentec AIT)
- Taq DNA Polymerase (Invitrogen.Cat.No.10966-018)
- dNTP Mix (Invitrogen. Cat.No.10297-018)
- ddH₂O-DEPC

Deteksi:

- Agarose (Diastika. Cat. No.V3121)
- TAE 10 X (Duastika. Cat. No.V 4271)
- Ethidium Bromide (Diastika. Cat. No.H5041)
- Blue Orange Loading Dye 6X (Promega. Cat.No.G1881)
- Ladder 100 bp (Promega. Cat. No.G 2101)
- Aquabidest

RFLP:

- Enzim Restriksi MspA1 I (AIT)
- ddH₂O-DEPC

II. Barang Pembantu

- Tabung PCR (0.2 mL)
- Tabung *Microcentrifuge* 0.5 mL
- Tabung *Microcentrifuge* 1.5 mL
- *Barrier Tips Set* (0.2 µL-1000 µL)
- *Tips* (0.2 µL-1000 µL)

- *Polaroid Film*
- *Gloves*
- *Tissue*
- Parafilm

III. Peralatan

- *Thermal Cycler* (Perkin-Elmer 2400)
- *Micropipet set* (0.2 μ L-1000 μ L)
- *Electroforesis Set*
- *UV Transluminator*
- Kamera Polaroid
- Gelas Ukur (100 mL -1L)
- *Erlenmeyer* (100 mL -250 mL)
- Neraca Analitik
- *Microwave*
- Centrifuge

PROSEDUR

Ekstraksi dan isolasi DNA

Reagen : QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit (Qiagen. Cat:
51104)

Sampel : Darah EDTA (*Buffy Coat*)

Preparasi :

a. Reagen

1. Qiagen Protease (untuk 50 reaksi) :

- Larutkan Lyophilized QIAGEN Protease dengan 1.2 mL Protease Solvent.
- Stabil selama 2 bulan pada temperatur 2-8°C.
- Stabil lebih lama pada temperatur -20°C.
- Dibuat *aliquot* untuk menghindari beku cair.

2. Buffer AL

- Kocok Buffer AL sebelum digunakan.
- Stabil pada suhu kamar selama 1 tahun.

3. Buffer AW1

- Larutkan Buffer AW1 dengan 25 µL etanol (96-100%).
- Stabil pada suhu kamar selama 1 tahun.

4. Buffer AW2

- Larutkan Buffer AW2 dengan 30 μ L etanol (96-100%).
- Stabil pada suhu kamar selama 1 tahun.

b. Prosedur :

1. Cairkan sampel pada suhu kamar.
2. Set *waterbath* pada temperatur 56°C.
3. Cairkan buffer AE atau ddH₂O pada suhu kamar.
4. Pastikan bahwa buffer AW1, buffer AW2 dan QIAGEN Protease telah disiapkan.
5. Jika endapan terbentuk pada Buffer AL, inkubasi pada 56°C hingga endapan larut.

Prosedur :

1. Pipet 20 μ L QIAGEN Protease (Proteinase K) ke dalam tabung *microcentrifuge* 1,5 mL.
2. Tambahkan 200 μ L sampel ke dalamnya.
3. Tambahkan 200 μ L Buffer AL pada suhu kamar *vortex* selama 15 detik.
4. Inkubasi pada 56°C selama 10 menit.
5. *Spindown*.

6. Tambahkan 200 μL etanol (96%-100%) pada suhu kamar *vortex* selama 15 detik. *Spindown*.
7. Pindahkan campuran (620 μL) ke QIAamp Mini Spin Column (jangan membasahi rim). *Centrifuge* pada 20000xg (14000 rpm) selama 1 menit (selain Buffy Coat : 6000xg (8000rpm) selama 1 menit). Ganti *collection tube*. Buang filtrat.
8. Tambahkan 500 μL Buffer AW1 (jangan membasahi rim). *centrifuge* pada 6000 xg (8000 rpm) selama 1 menit. Buang filtrat ganti *collection tube*.
9. Tambahkan 500 μL Buffer AW2 (jangan membasahi rim). *centrifuge* pada 20.000xg (14.000 rpm) selama 3 menit.
10. Ganti *collection tube* dengan tabung *microcentrifuge* 1,5 mL. *Sentrifuge* pada 20.000xg (14.000 rpm) selama 1 menit.
11. Ganti tabung *microcentrifuge* 1,5 mL dengan tabung *microcentrifuge* 1.5 mL baru. Tambahkan 200 μL Buffer AE atau *aquadest*. Inkubasi selama 5 menit pada suhu kamar. *Centrifuge* pada 6000xg (8000 rpm) selama 1 menit.
12. Segera gunakan ekstrak DNA atau simpan pada 2-8°C atau pada -15°C sampai - 25°C untuk waktu penyimpanan lebih lama.

Amplifikasi :

1. Buat Master Mix sesuai tabel (on ice) (CYP17):

Reagen & Konsentrasi Stock	Vol total 25 μ L per 1 tes	Konsentrasi akhir
	Vol (μ L)	
Buffer PCR 5x	5	1x
dNTP Mix 10mM	0.5	0.2 mM
MgCl 25 mM	1.5	1.5 mM
Taq DNA Polymerase 5U/ μ L	0.1	01 unit
Template	5	(20-150) ng
Primer Forward 20 μ M	0.5	0.4 μ M
Primer Reverse 20 μ M	0.5	0.4 μ M
ddH ₂ O	11.9	
Total Volume	25	

Primer CYP17 :

Forward :

CATTCGCACTCTGGAGTC

Reverse :

AGGCTCTTGGGGTACTTG

2. Masukkan 20 μ L *master mix* ke dalam tabung *microcentrifuge* 200 μ L.
3. Tambahkan *template* / ekstrak ke dalamnya.
4. *Vortex* sesaat kemudian *spindown*.
5. Masukkan ke *thermocycler* yang telah di-*setting* untuk proses amplifikasi.

Cycle Condition :

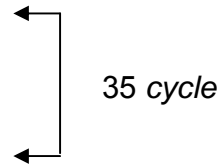
Step 1 : 94°C selama 3 menit

Step 2 : 94°C selama 30 detik

Step 3 : 55°C selama 30 detik

Step 4 : 72°C selama 1 menit

Step 5 : 72°C selama 5 menit



6. Segera gunakan amplikon atau simpan pada suhu -15°C sampai -25°C.

Deteksi dengan metode elektroforesis**Pembuatan Gel 2% :**

1. Timbang 0.6 gr Agarose Gel.
2. Tambahkan 30 mL TAE satu kali. Kocok hingga homogen.
3. Masukkan ke *microwave* hingga mendidih. Keluarkan setiap 30 detik.
Kocok.
4. Ulangi sebanyak dua kali.
5. Setelah $\pm 50^{\circ}\text{C}$. Masukkan 3 μL Ethidium Bromida. Tutup dengan *aluminium foil*.
6. Kocok hingga homogen.
7. Tuang ke *UV gel tray*. Letakkan *comb*. Hindari terjadinya *bubble*.
8. Setelah beku, tarik *comb* dari gel secara perlahan.

9. Masukkan gel dan *UV Gel Tray* ke dalam elektroforesis *tank* yang telah berisi TAE 1x hingga batas maksimum.

Prosedur elektroforesis :

1. Renggangkan parafilm di atas *box tips* kosong.
2. Pipet 2 μL Loading Dye ke atas parafilm sebanyak sampel yang di butuhkan.
3. Pipet 5 μL sampel atau 5 μL kemudian campur dengan memipet *up* dan *down*.
4. Masukkan campuran ke dalam gel.
5. Tutup elektroforesis *tank*.
6. *Running* pada 100 V selama ± 30 menit .
7. Tekan *Stop*.
8. Pindahkan *UV gel tray* dan gel ke atas *transiluminator* . .
9. Dokumentasikan.

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

RFLP dilakukan dengan menggunakan **enzim restriksi *MspA1I***

1. Buat *master mix* sesuai tabel (*on ice*):

Reagen & Konsentrasi Stok	Untuk Vol 20 μ L
	Per 1 tes
	Vol (μ L)
<i>MspA1I</i>	0.5
Buffer M 10x	1.5
Amplicon	7
BSA	0.15
H ₂ O	5.85
Total Volume	15

6. Masukkan 8 μ L *master mix* ke dalam tabung *microcentrifuge* 200 μ L.
7. Tambahkan dengan 7 μ L amplicon DNA positif.
8. Inkubasi pada 37°C selama 1 jam .
9. Lanjutkan ke prosedur elektroforesis.

Lampiran 9

Perhitungan Persamaan Hardy-Weinberg

1. Gen adiponektin

A simple calculator to determine whether observed genotype frequencies are consistent with Hardy-Weinberg equilibrium

Genotypes	Observed #	Expected #
Homozygote reference:	58	58.5
Heterozygote:	40	39.0
Homozygote variant:	6	6.5
	^Put your values here^	
Var allele freq:	0.25	

$$X^2 = 0.068376068$$

$$X^2 \text{ test } P \text{ value} = 0.793716 \quad \text{with 1 degree of freedom.}$$

1. If $P < 0.05$ - not consistent with HWE.
2. Not accurate if < 5 individuals in any genotype group.

Michael H. Court (2005-2008)

2. Gen CYP17

A simple calculator to determine whether observed genotype frequencies are consistent with Hardy-Weinberg equilibrium

Genotypes	Observed #	Expected #
Homozygote reference:	45	45.8
Heterozygote:	48	46.4
Homozygote variant:	11	11.8
	^Put your values here^	
Var allele freq:	0.34	

$$X^2 = 0.116995486$$

$$X^2 \text{ test } P \text{ value} = 0.732316 \quad \text{with 1 degree of freedom.}$$

1. If $P < 0.05$ - not consistent with HWE.
2. Not accurate if < 5 individuals in any genotype group.

Michael H. Court (2005-2008)