

DAFTAR RUJUKAN

- Anderson, P.J., Critchley, J.A., and Chan, J.C. 2001. Factor Analysis of the Metabolic Syndrome: Obesity vs Insulin Resistance as the Central Abnormality. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 25: 1782-1790.
- Bochud, M., Nussberger, J., and Bovet, P. 2006. Plasma Aldosterone is Independently Associated with the Metabolic Syndrome. *Hypertension.* 48: 239-245.
- Carr, D.B., Utzschneider, K.M., and Hull, R.L. 2004. Intra Abdominal Fat is a Major Determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Criteria for the Metabolic Syndrome. *Diabetes.* 53 (8): 2087-2094.
- Dandona, P., Aljada, A., Chaudhari, A., Mohanty, P. and Garg R. 2005. Metabolic Syndrome, A Comprehensive Perspective Based on Interactions between Obesity, Diabetes, and Inflammation. *Circulation.* 111: 1448-1454.
- Dandona, P., Mohanty, P., Ghanim, H., Aljada, A., Browne, R., Hamouda, W., Prabhala. A., Afzal, A., and Garg, R. 2001. The Suppressive Effect of Dietary Restriction and Weight Loss in the Obese on the Generation of Reactive Oxygen Species by Leukocytes, Lipid Peroxidation, and Protein Carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab.* 86: 355-362.
- Droge, W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev.* 82: 47-95.
- Dunstan, D.W., Zimmet, P.Z., and Welborn, T.A. 2002. The Rising Prevalance of Diabetes and Impaired Glucose Tolerance. The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study. *Diabetes Care.* 25: 829-834.
- Egan, B.M., Papademetriou, V., Wofford, M., Calhoun, D., Fernandes, J., Riehle, J.E., Nesbitt, S., Mechelson, E., and Julius, S. 2005. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance in the TROPHY sub-Study: Contrasting Views in Patient with High Normal Blood Pressure. *Am J Hypertens.* 18: 3-12.
- Forouhi, N.G., Sattar, N., and McKeigue, P.M. 2001. Relation of C-Reactive Protein to Body Fat Distribution and Features of the Metabolic Syndrome in Europeans and South Asians. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 25: 1327-1331.

- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakamaya, O., Makishima, M., Matsuda M., and Shimomura S. 2004. Increased Oxidative Stress in Obesity and Its Impact On Metabolic Syndrome. *J Clin Invest* 12 : 1752-1761.
- Giacchetti, G., Faloia, E., Sardu, C., Camilloni, M.A., Mariniello, Gatti, C., Garrapa, G.G., Guerri, M., and Mantero F. 2000. Gene Expression of Angiotensinogen in Adipose Tissue of Obese Patients. *Int J Obes Relat Metab Disord* . 24 (suppl 2): S142-143.
- Goodfriend, T.L., Kelley D.E., Goodpaster, B.H., and Winters, S.J. 1999. Visceral Obesity and Insulin Resistance are Associated with Plasma Aldosterone Levels in Women. *Obes Res*. 7: 355-362.
- Goodfriend, T.L., Egan, B.M., and Kelley, D.E. 1999. Plasma Aldosterone, Plasma Lipoprotein, Obesity, and Insulin Resistance in Humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 60: 401-405.
- Grundey, S.M., Hansen B., Smith S.C., Cleeman J.I., and Kahn R.A. 2004. Clinical Management of Metabolic Syndrome : Report of the American Diabetes Association Conference on Scientific Issues Related to Management. *Circulation*. 109: 551-556.
- Haenni, A., Reneland, R., Lind, R., and Lithell, H. 2001. Serum Aldosterone Changes During Hyperinsulinemia are Correlated to Body Mass Index and Insulin Sensitivity in Patient with Essential Hypertension. *J Hypertens*. 19:107-112.
- Hotamisligil, G.S. 2006. Inflammation and Metabolic Disorders. *Nature*. 444: 860– 867.
- HU, G., Qiao, Q., and Tuomilehto, J. 2004. Prevalance of the Metabolic Syndrome and Its Relation to All Cause and Cardiovascular Mortality in Non Diabetic European Men and Women. *Arch Intern Med*. 164: 1066-1076.
- International Diabetes Federation. 2005. Metabolic Syndrome-Driving the CVD Epidemic. (Online). ([www. idf.org](http://www.idf.org). diakses 12 Agustus 2007)
- International Diabetes Federation. 2005. The IDF Consensus Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome. (Online). (www. idf.org. diakses 12 Agustus 2007)

- Isomaa, B., Almgren, P., and Tuomi, T. 2001. Cardiovascular Morbidity and Mortality Associated with Metabolic Syndrome. *Diab Care*. 24: 683-689.
- Janke, J., Engeli, S., and Gorzelnik, K. 2002. Mature Adipocytes Inhibit in Vitro Differentiation of Human Preadipocytes via Angiotensin Type 1 Receptors. *Diabetes*. 51: 1699-1707.
- Laragh, J. 2001. Laragh's Lessons in Pathophysiology and Clinical Pearls for Treating Hypertension. *Am J Hypertens*. 14: 307-310.
- Lind, L., Reneland, R., Andersson, P.E., Haenni, A., and Lithell, H. 1998. Insulin Resistance in Essential Hypertension is Related to Plasma Renin Activity. *J Hum Hypertens*. 12: 379-382.
- Lteif, A.A., Han, K., and Mather, K.J. 2005. Obesity, Insulin Resistance, and Metabolic Syndrome Determinant of Endothelial Dysfunction in White and Blacks. *Circulation*. 112: 32-38.
- Rana, J.S., Nieuwdorp, M., Jukema, J.W., and Kestelein, J.P. 2007. Cardiovascular Metabolic Syndrome—An Interplay of Obesity, Inflammation, Diabetes and Coronary Heart Disease. *Diabetes Obes Metab*. 9: 218 – 232.
- Saad, M.F., Lilioja, S., and Nyomba, B.L. 1991. Racial Difference in Relation Between Blood Pressure and Insulin Resistance. *N Eng J Med*. 324: 733-739.
- Strazullo, P., Galletti, F., 2004. Impact of Renin-Angiotensin System on Lipid and Carbohydrate Metabolism. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 13:325-332.
- Senn, J.J., Klover, P.J., Nowak, I.A., Zimmers, T.A., Koniaris, L.G., Furlanetto, R.W., and Mooney, R.A. 2003. Suppressors of Cytokine Signaling 3 (SCOS-3), A Potential Mediator of Interleukin 6-Dependent Insulin Resistance in Hepatocytes. *J Biol Chem*. 278: 13740-13746.
- Stern, S.E., Williams, K., Ferrannini, E., DeFronzo, R.A., Bogardus C., and Stern, M.P. 2005. Identification of Individuals with Insulin Resistance Using Routine Clinical Measurements. *Diabetes*. 54: 333-339.
- Selamoglu, S., and Turgay, F. 2000. Aerobic and Anaerobic Training Effects on the Antioxidant Enzymes of the Blood. *Acta Physiol*. 87: 267-273.

- Takebayashi, K., Aso, Y., and Inukai, T. 2004. Initiation of Insulin Therapy Reduces Serum Concentrations of High Sensitivity C- Reactive Protein in Patients With Type 2 Diabetes. *Metabolism*. 53: 693-699.
- Tarpey, M.M., and Fridovich, I. 2001. Methods of Detection of Vascular Reactive Species: Nitric Oxide, Superoxide, Hydrogen Peroxyde and Peroxynitrite. *Circ Res*. 89: 224–236.
- Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. 2002. *Circulation*. 106:3134-3135.
- Undurti, N. 2002. Is Metabolic Syndrome X an Inflammatory Condition ?. *Exp Biol Med*. 227: 989-997.
- Wellen, K.E., and Hotamisligil, G.S. 2005. Inflammation, Stress, and Diabetes. *J Clin Invest*. 115: 1111-1119.
- Wolin, M.S. 2000. Interaction of Oxidant with Vascular Signaling Systems. *Artheroscler Thromb Vasc Biol*. 20: 1430–1442.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Penjelasan untuk Peserta Penelitian

Saat ini Laboratorium Klinik Prodia dan Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin-Makassar, sedang melakukan penelitian yang berjudul :

Hubungan *Aldosteron, Plasma Renin Activity (PRA)* dan *Superoxide Dismutase (SOD)* dengan Inflamasi (*hsCRP*) dan Resistensi Insulin (*HOMA IR*) pada Pria Dewasa dengan Obesitas Sentral .

Penelitian ini berguna untuk memberikan pemahaman mengenai interaksi yang mungkin terjadi antara Aldosteron, PRA, dan SOD dengan inflamasi dan resistensi insulin pada penderita obesitas sentral, yang mungkin akan berkembang menjadi suatu keadaan bernama sindrom metabolik. Keadaan ini sangat berhubungan dengan peningkatan resiko penyakit kardiovaskular. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan baru tentang obesitas dan sindrom metabolik serta dapat dilakukan pengobatan yang lebih efektif untuk keadaan ini.

Bapak-bapak mengalami obesitas sentral, karena itu diminta ikut serta dalam penelitian ini. Bila bersedia ikut, peneliti akan melakukan wawancara dan pengukuran lingkaran pinggang serta petugas Laboratorium akan melakukan pengukuran tekanan darah dan pengambilan darah sebanyak kurang lebih 20 mL, dari pembuluh darah di lengan Bapak dengan menggunakan jarum khusus yang steril dan sekali pakai.

Pengambilan darah ini akan dilakukan satu kali setelah Bapak berpuasa tidak makan atau minum (kecuali air putih) selama dua belas sampai empat belas jam dan juga tidak merokok. Sebelum dilakukan pengambilan darah, Bapak akan diminta untuk duduk selama kurang lebih 20 menit di tempat yang telah kami sediakan.

Pengambilan darah dari pembuluh darah lengan biasanya hanya menimbulkan rasa nyeri ringan, namun terkadang juga dapat terjadi bengkak dan warna biru yang baru sembuh setelah beberapa hari. Untuk mengantisipasi kami menyediakan salep khusus.

Hanya Bapak yang masuk dalam kriteria inklusi yang akan dilakukan pemeriksaan laboratorium lebih lengkap (Aldosteron, PRA, SOD, hsCRP, Glukosa Puasa, Insulin Puasa, Natrium, Kalium, Kreatinin, Glukosa Puasa, Kolesterol HDL dan Trigliserida), jika Bapak tidak memenuhi

kriteria inklusi penelitian maka kami hanya akan melakukan pemeriksaan fisik, Glukosa Puasa, Kreatinin, SOD, Kolesterol HDL dan Trigliserida, Natrium dan Kalium.

Pada penelitian ini, Bapak tidak dipungut biaya apapun. Semua biaya pemeriksaan fisik maupun laboratorium ditanggung oleh Laboratorium Klinik Prodia. Bapak bebas untuk menolak ikut dalam penelitian ini. Bila Bapak memutuskan ikut, Bapak juga bebas untuk mengundurkan diri setiap saat tanpa konsekuensi apapun. Semua data penelitian ini akan diperlakukan secara rahasia, sehingga tidak memungkinkan orang lain untuk menghubungkannya dengan Bapak.

Bila Bapak bersedia ikut dalam penelitian ini, mohon kiranya surat persetujuan mengikuti penelitian ini dapat ditandatangani, dan selanjutnya kami akan mendata, melakukan wawancara, melakukan pemeriksaan fisik, dan pengambilan darah di pembuluh lengan. Bapak diberi kesempatan untuk menanyakan semua hal yang belum jelas sehubungan dengan penelitian ini.

Bila sewaktu-waktu membutuhkan penjelasan berkaitan dengan penelitian ini, Bapak dapat menghubungi peneliti, Hera Yuliana Intantri, S.Si, Apt di Laboratorium Klinik Prodia, Jl. Kramat Sentiong No.1, Jakarta Pusat atau melalui telp di nomor 021-3144182.

**Lampiran 2. Formulir Persetujuan Mengikuti Penelitian
(*Informed Consent*)**

Formulir Persetujuan

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :.....
Umur :.....
Alamat :.....

Telah diberi penjelasan oleh peneliti mengenai tujuan dan manfaat dari penelitian yang berjudul :

Hubungan *Aldosteron, Plasma Renin Activity (PRA)* dan *Superoxide Dismutase (SOD)* dengan Inflamasi (hsCRP) dan Resistensi Insulin (HOMA IR) pada Pria Dewasa dengan Obesitas Sentral

(Peneliti Hera Yuliana Intantri)

Semua penjelasan mengenai kemungkinan resiko dan manfaat dari penelitian telah disampaikan kepada saya dan semua pertanyaan saya telah dijawab oleh peneliti. Saya mengerti bila masih memerlukan penjelasan, saya akan mendapatkan jawaban dari peneliti yang bersangkutan. Karenanya dengan menandatangani formulir ini, saya tidak berkeberatan untuk ikut serta dalam penelitian.

Jakarta,.....

(.....)

Lampiran 3. Lembar Wawancara Pasien

Lembar Wawancara Pasien Penelitian	
No. Pasien :	Tekanan Darah :
Nama Pasien :	Tinggi Badan :
Jenis Kelamin : Laki-laki / Perempuan	Berat Badan :
Umur :	Lingkar Perut :
Alamat :	Suhu Tubuh : Demam / Tidak Demam
:	Tanggal Wawancara :
Riwayat Penyakit yang Diderita	
- Hipertensi : ya / tidak	
Lamanya menderita hipertensi : <input type="checkbox"/> < 1 tahun <input type="checkbox"/> 1 - 5 tahun <input type="checkbox"/> > 5 tahun <input type="checkbox"/> Lainnya	
<input type="checkbox"/> Belum pernah diobati <input type="checkbox"/> Sedang diobati <input type="checkbox"/> Pernah diobati <input type="checkbox"/> Jenis obat	
- Diabetes : ya / tidak	
- Riwayat PJK : ya / tidak	
- Rematik/asam urat : ya / tidak	
- Hepatitis C kronik/Hep. Virus lain/penyakit liver : ya / tidak	
Lamanya menderita hepatitis <input type="checkbox"/> < 1 tahun <input type="checkbox"/> 1 - 5 tahun <input type="checkbox"/> > 5 tahun <input type="checkbox"/> Lainnya	
- Penyakit/gangguan ginjal : ya / tidak	
Lamanya menderita Peny. ginjal <input type="checkbox"/> < 1 tahun <input type="checkbox"/> 1 - 5 tahun <input type="checkbox"/> > 5 tahun <input type="checkbox"/> Lainnya	
- Stress : ya / tidak	
- Kelainan hematologi : ya / tidak	
- Alergi : ya / tidak	
- Penyakit lainnya : ya / tidak	
Riwayat minum obat / suplemen	
- Obat Penurun Lipid :	
- Obat Kortikosteroid / Inflamasi :	
- Antioksidan / Suplemen (Vit. C, teh hijau dll) :	
Lain-lain	
- Status Sosial : Pendidikan terakhir	
- Merokok : ya / tidak	
..... Batang/hari	
- Olahraga : jenis :	
Frekuensi : <input type="checkbox"/> 1-2x/minggu <input type="checkbox"/> 3-4x/minggu <input type="checkbox"/> > 4x/minggu	
- Minum alkohol : ya / tidak	

Lampiran 4. Hasil Penelitian

Lampiran 5. Prosedur Pemeriksaan Aldosteron

a. Alat :

- Gamma Counter – kompatibel dengan standar tabung 12 x 75 mm
- Vortex Mixer
- Graduated Cylinder
- Pipet Volumetrik, Pipet Tip
- Tabung Polipropilen plain 12x75 mm
- Kertas Logarith -log graph
- Mikropipet

b. Bahan :

- Tabung Aldosteron yang telah dicoating aldosteron antibodi
- *Lyophilized Iodinated Aldosterone*
- Kalibrator aldosterone

c. Prinsip Pemeriksaan :

- Prinsip pemeriksaan Coat-A-Count adalah *radioimmunoassay* fase padat, berdasarkan prinsip antibodi spesifik aldosteron akan bergerak ke dinding dari tabung polipropilen.
- ¹²⁵I Aldosteron akan berkompetisi pada waktu yang tetap dengan aldosteron yang terdapat di sample pasien untuk menempati tempat antibodi. Tabung kemudian didekantasi, untuk memisahkan aldosteron yang sudah terikat dengan yang bebas, dan dihitung di gamma counter. Jumlah aldosteron yang ada dalam sample pasien akan diukur menggunakan kurva determinasi.

Lampiran 6. Prosedur Pemeriksaan PRA

a. Alat :

- *Water Bath* yang mempunyai suhu konstan $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Tempat yang berisi es.
- Pipet Volumetrik (1,2,3 dan 5 mL)
- *Graduated Cylinder*
- Pipet yang presisi (10,100, 500, dan 1000 μL)
- Tabung plastik atau gelas ukuran 12 x 75 mm (untuk pembentukan angiotensin I)
- Rak Tabung
- Vortex mixer

b. Bahan :

- Air Murni
- Buffer Angiotensin.
- Buffer Angiotensin Maleate Generation
- Angiotensin PMSF
- Kontrol Aktivitas Renin
- Kalibrator Angiotensin
- Tracer Angiotensin

c. Prinsip pemeriksaan :

- Melibatkan inkubasi plasma (yang mengandung renin dan substrat renin) untuk menghasilkan angiotensin I.

- Kemudian mengkuantifikasi angiotensin I yang dihasilkan tersebut secara *competitive radioimmunoassay*.
- Inkubasi dilakukan pada 2 suhu yang berbeda (4°C dan 37°C).
- Nilai PRA kemudian didapatkan dari hasil perhitungan, dengan mengurangi konsentrasi angiotensin I pada suhu 37°C dengan konsentrasi pada suhu 4°C , dan dikalkulasi terhadap faktor pengenceran dan lama waktu inkubasi (dalam satuan jam).
- Nilai PRA dinyatakan dalam satuan ng/ml/jam.

Lampiran 7 : Prosedur Pemeriksaan SOD

Alat :

- Pipet Volumetrik (1,2,3 dan 5 mL)
- Pipet yang presisi (10,100, 500, dan 1000 μ L)
- Tabung gelas ukuran Rak Tabung
- Vortex mixer

Bahan :

- Substrat campuran
- Buffer
- Xanthine Oxidase
- Standard
- Pelarut Ransod
- Kontrol Ransod

c. Prinsip pemeriksaan

- Fungsi dari SOD adalah untuk mempercepat dismutasi dari superoksida yang berbahaya ($O_2^{\cdot-}$), yang diproduksi saat proses oksidasi energi, menjadi hidrogen peroksia dan oksigen.
- Metode ini menggunakan xanthine dan xanthine oksidase untuk menghasilkan superoksida radikal yang akan bereaksi dengan *2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride* (INT) untuk membentuk warna merah.

- Aktivitas SOD kemudian diukur dengan melihat tingkat inhibisi dari reaksi ini. Satu unit SOD adalah yang menyebabkan inhibisi 50% dari rata-rata reduksi INT pada kondisi pengukuran.

Lampiran 8. Hasil Pemeriksaan Kontrol Mutu QC**Hasil Presisi Aldosteron (R&D System)**

No	Standard	CV (%)
1	Standard 1	2.15
2	Standard 2	6.84
3	Standard 3	2.03
4	Standard 4	0.83
5	Standard 5	6.42
6	Standard 6	2.92
7	Standard 7	1.95
8	Standard 8	1.14
9	Standard 9	4.78

Hasil Presisi PRA (R&D System)

No	Standard	CV (%)
1	Standard 1	2.28
2	Standard 2	1.04
3	Standard 3	0.06
4	Standard 4	1.73
5	Standard 5	1.85
6	Standard 6	5.79
7	Standard 7	4.24

QC Pemeriksaan hsCRP

QC Pemeriksaan Insulin

QC Pemeriksaan Glukosa Puasa

QC Pemeriksaan Kolesterol HDL

QC Pemeriksaan Trigliserida

Lampiran 9 . Anggaran Biaya Penelitian

Penelitian ini membutuhkan biaya dengan anggaran sebagai berikut:

Biaya Kit Reagen Penelitian (1 kit)		Harga (Rp)
1	Plasma Aldosteron	2.500.000
2	<i>Plasma Renin Activity</i>	4.000.000
3	Superoxide Dismutase	4.382.318
4	hsCRP	4.314.860
Biaya Kit Reagen Pemeriksaan Rutin		
1	Glukosa Puasa	1.515.745
2	Insulin Puasa	13.930.698
3	Trigliserida	4.618.589
4	HDL	1.155.775
3	Na	3.003.825
Biaya Pengambilan Darah : Sudah terhitung dalam tes rutin		
	Total Biaya	39.421.810