

## HUBUNGAN KADAR SERUM AMH DENGAN JUMLAH MUTASI PADA GEN PROMOTER AMH (*ANTI-MULLERIAN HORMONE*) PADA PASIEN SOPK (SINDROM OVARIUM POLIKISTIK)

Mala Kurniati<sup>1</sup>, Dwi Anita Suryandari<sup>2\*</sup>, Budi Wiweko<sup>3</sup>, Pudji Sari<sup>2</sup>, Luluk Yunaini<sup>2</sup>, Roselina Panghiyangani<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi Medik, Fakultas Kedokteran, Universitas Malahayati

<sup>2</sup>Departemen Biologi Medik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

<sup>4</sup>Departemen Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat

\*) Email Korespondensi : anitabio@yahoo.co.uk

**Abstract: Relationship between Serum AMH Levels with Number of Mutations in AMH (Anti-Mullerian Hormone) Gene Promoter in Patients PCOS (Polycystic Ovary Syndrome).** Anti-Mullerian Hormone (AMH) is a member of the *Transforming Growth Factor-β* group which plays an important role in the regulation of the female reproductive folliculogenesis. A 2-3-fold increase in AMH levels was found in patients with PCOS (Polycystic Ovary Syndrome) compared to women with normal ovulation. The purpose of this study was to determine the relationship between serum AMH levels and the number of mutations in the AMH (Anti-Mullerian Hormone) promoter gene in PCOS (polycystic ovarian syndrome) patients. The sample size was 114 patients consisting of 60 PCOS patients and 54 non-PCOS patients as control. The AMH levels obtained from the patients' medical records of the Yasmin IVF Clinic, RSCM Kencana Hospital, Jakarta. Molecular analysis and genotyping were performed by PCR and sequencing was followed by bioinformatics analysis. There were 60-point mutations in the AMH gene promoter variants. The highest variant types of mutations found was -674 G/A (100%), followed by -245 C/CT (88.2%), and -444 A/G (17.9%) in the entire sample. Based on the results of the Wilcoxon Signed Rank test, the number of mutations in the PCOS group were significant to affect the serum AMH ( $p < 0.05$ ). In the control group, the number of mutations had no significant effect on the levels of AMH ( $p > 0.05$ ). The number of mutations in the gene promoter affected serum AMH levels in PCOS.

**Keywords:** AMH level, AMH Gene Promoter, PCOS

**Abstrak : Hubungan Kadar AMH Serum dengan Jumlah Mutasi pada Gen Promoter AMH (Anti-Mullerian Hormone) pada Pasien SOPK (Sindrom Ovarium Polikistik).** Anti-Mullerian Hormone (AMH) adalah anggota dari kelompok *Transforming Growth Factor-β* yang berperan penting dalam regulasi folikulogenesis reproduksi wanita. Peningkatan kadar AMH 2-3 kali lipat ditemukan pada pasien SOPK (Sindrom Ovarium Polikistik) dibandingkan dengan wanita dengan ovulasi normal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan kadar serum AMH dengan jumlah mutasi pada gen promoter AMH (Anti-Mullerian Hormone) pada pasien SOPK (Sindrom Ovarium Polikistik). Besar sampel adalah 114 pasien yang terdiri dari 60 pasien SOPK dan 54 pasien bukan SOPK sebagai kontrol. Kadar AMH didapatkan dari rekam medis pasien di Klinik Yasmin IVF RSCM Kencana Hospital, Jakarta. Analisis molekuler dan genotipe dilakukan dengan PCR dan sekuensing dilanjutkan dengan analisis bioinformatika. Terdapat 60 mutasi titik pada varian promotor gen AMH. Jenis mutasi varian tertinggi yang ditemukan adalah -674 G/A (100%), diikuti oleh -245 C/CT (88,2%), dan -444 A/G (17,9%) di seluruh sampel. Berdasarkan hasil uji *Wilcoxon Signed Rank test*, jumlah mutasi pada kelompok SOPK berpengaruh nyata terhadap AMH serum

( $p < 0,05$ ). Pada kelompok kontrol, jumlah mutasi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar AMH ( $p > 0,05$ ). Jumlah mutasi pada promotor gen mempengaruhi kadar serum AMH pada PCOS.

**Kata kunci : Kadar AMH, Promoter Gen AMH, SOPK**

## PENDAHULUAN

Sindrom ovarium polikistik (SOPK) adalah salah satu gangguan endokrin yang paling umum dan dapat ditemukan pada 5% -10% wanita usia reproduksi (Fu *et al.*, 2021; Lauritsen *et al.*, 2014). Hingga saat ini, penyebab SOPK masih belum jelas dan berbagai sumber telah menjelaskan bahwa penyebabnya adalah hasil interaksi kompleks antara faktor genetik dan lingkungan (Ndefo *et al.*, 2013). Pada SOPK, gangguan endokrinologi dapat berupa hiperandrogenemia, gangguan menstruasi, atau anovulasi dan mengakibatkan infertilitas. Perkembangan folikel antral yang gagal akan menyebabkan oosit matang dan tidak diproduksi (Kabel, 2016).

*Anti-Mullerian Hormone* (AMH) atau *Mullerian Inhibiting Substance* (MIS) termasuk dalam kelompok *Transforming Growth Factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) dan memiliki struktur homodimer glikoprotein. Gen AMH terletak pada lengan panjang kromosom 19 di lokus 13 (19p13.2-p13.3) dengan panjang 2.8 kb (Kim *et al.*, 2014; Unal *et al.*, 2018). *Anti-Mullerian Hormone* (AMH) memainkan peran penting selama perkembangan embriogenesis pria dan diproduksi oleh sel Sertoli. Selain itu AMH berperan meregresi duktus Mullerian, yang selama diferensiasi akan berkembang menjadi saluran reproduksi pria (Chen1 *et al.*, 2019). Pada wanita, AMH penting dalam mengatur folikulogenesis dan diproduksi oleh sel granulosa pada usia kehamilan 36 minggu (Bedenk *et al.*, 2020).

Pada reproduksi wanita, AMH terkait erat dengan peningkatan jumlah folikel ovarium berukuran 2-9 mm dan mengatur folikulogenesis, yang secara tidak langsung menggambarkan jumlah folikel antral (Dumont *et al.*, 2015). Pada pasien dengan sindrom ovarium polikistik, tingkat AMH meningkat 2-3

kali lebih tinggi dari pada wanita normal dan produksi AMH 4 kali lebih tinggi pada sel granulosa selama ovulasi dan 75 kali pada anovulasi (Tal *et al.*, 2020). Pada tahun 2014, Wiweko menemukan bahwa kadar AMH pada pasien SOPK di Jakarta 2-3 kali lebih tinggi dari pada wanita normal (Wiweko *et al.*, 2014). Adanya variasi pada promotor gen AMH diduga mempengaruhi proses transkripsi gen AMH lebih lanjut dan berimplikasi pada pembentukan protein AMH. Jika pembentukan protein AMH terganggu, maka kadar protein tersebut dalam darah akan terpengaruh dan erat kaitannya dengan jumlah folikel antra yang dapat diproduksi.

Prediksi dan pemahaman tentang manifestasi varian genetik menggunakan metode komputasi telah menjadi sangat penting untuk pemilihan polimorfisme genetik dalam studi genetik dan pemahaman penyakit berbasis molekuler. Saat ini bioinformatika merupakan metode pilihan bagi para peneliti yang mempelajari struktur dan fungsi genom, sehingga data identifikasi dan karakterisasi polimorfisme genetik dapat diakses oleh publik. Berdasarkan latar belakang di atas maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan kadar serum AMH dengan jumlah mutasi pada gen promotor AMH (*Anti-Mullerian Hormone*) pada pasien SOPK (*Sindrom Ovarium Polikistik*).

## METODE

Subyek penelitian adalah ibu-ibu yang menjalani program bayi tabung di Klinik Yasmin IVF RS Kencana Cipto Mangunkusumo (RSCM), Jakarta. Sampel berjumlah 114 pasien yang terdiri dari 60 pasien SOPK dan 54 pasien non SOPK (kontrol). Kadar serum AMH diperoleh dari rekam medis pasien. Tiga mL darah diambil dari vena *cubiti*, kemudian dilakukan isolasi DNA dan

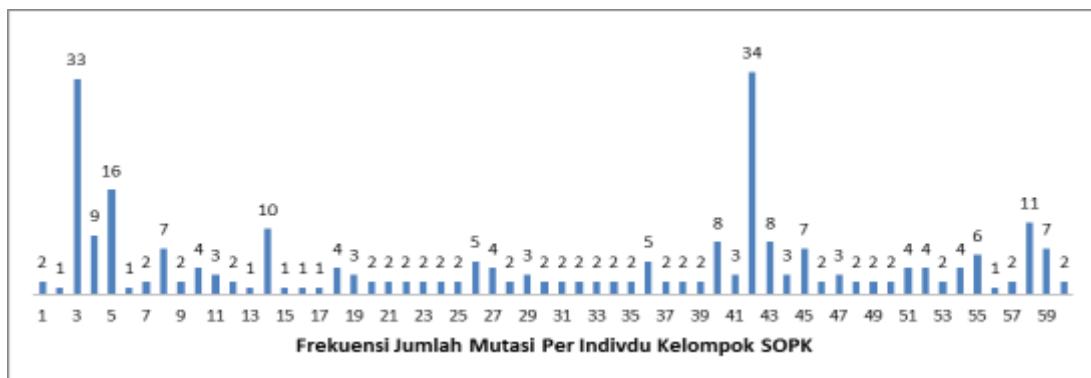
dilanjutkan dengan amplifikasi fragmen DNA dilakukan dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan *Thermal Cycler T100TM Biorad*. Urutan primer yang digunakan adalah *forward* 5'GTCCACCCTCAGCCTCCGGGAGTTCACC 3' dan *reverse* 3'GATGCCTGGAGGCCAGTCCAAGTCTTCTCG5' (IDT). Total volume reaksi PCR adalah 50 L yang terdiri dari 10 L genomic DNA, 1 L oligonucleotides (IDT) primer, 25 L Biorad<sup>TM</sup> master mix. dan 13 L ddH<sub>2</sub>O. Kondisi PCR ditetapkan sebagai: 94°C selama 5 menit, 35 siklus 94 °C selama 30 detik (denaturasi), 66 °C selama 30 detik (annealing) dan 72 °C selama 30 detik, 1 siklus untuk ekstensi akhir pada 72 °C selama 10 menit. Amplikon yang dihasilkan dideteksi dengan elektroforesis pada gel agarosa 3% (Promega). Fragmen pita DNA kemudian dipisahkan dengan elektroforesis pada tegangan 90 volt selama 50 menit. Tangga DNA 1000bp (1 kb) (Kappa) digunakan sebagai penanda. Visualisasi fragmen pita DNA yang dihasilkan oleh elektroforesis

diamati dengan iluminator UV. Panjang DNA target yang dihasilkan oleh promotor gen PCR AMH adalah 1066 bp. Analisis sequencing dilakukan oleh *First Base* di Singapura. Data dianalisis menggunakan SPSS versi 19 untuk mengetahui hubungan antara jumlah mutasi dan konsentrasi AMH dengan jumlah folikel antra pada kelompok PCOS dan kontrol. Hasil sekuensing dianalisis dengan menggunakan *software Mutation Surveyor* (<http://www.softgenetics.com>).

## HASIL

### 1. Jumlah mutasi per individu pada kelompok SOPK

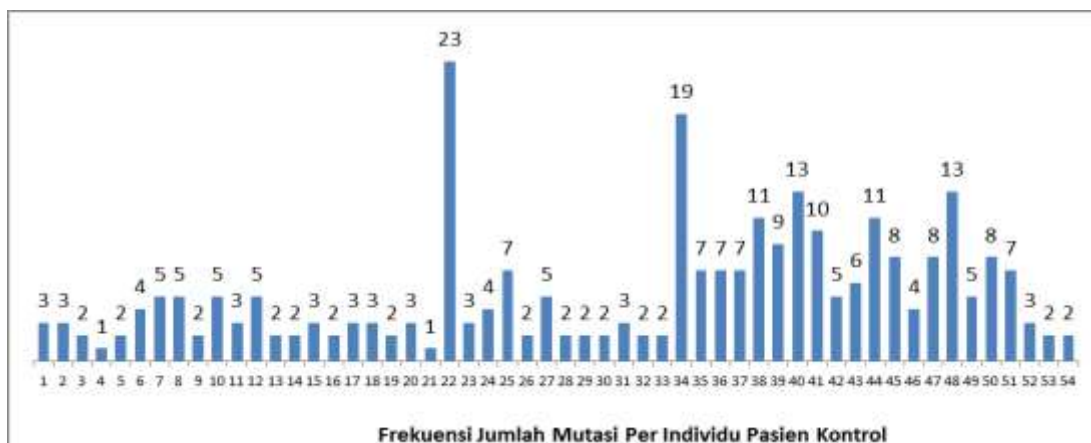
Berdasarkan jumlah mutasi yang ditemukan per individu pada kelompok SOPK didapatkan sebaran data yang disajikan pada gambar 1. Dari sebaran data tersebut terdapat 1 pasien yang memiliki 34 jenis mutasi dan sebanyak 42 pasien ditemukan memiliki 2 jenis mutasi yaitu pada titik -245 C/T dan -674 G/A.



**Gambar 1.** Grafik Frekuensi Jumlah Mutasi Per Individu Kelompok SOPK

Dari hasil jumlah mutasi yang didapat pada kelompok SOPK dilakukan uji statistik untuk melihat pengaruh antara jumlah mutasi terhadap kadar AMH. Pada kelompok kontrol dari 54 pasien, 1 pasien memiliki 23 jenis

mutasi yang ditemukan dan frekuensi tertinggi dengan 2 jenis mutasi yaitu pada titik -245 C/T dan -674 G/A ditemukan pada 15 pasien kelompok kontrol gambar 2.



Gambar 2. Frekuensi Jumlah Mutasi Per Individu Kelompok Kontrol.

**Tabel 1. Hasil uji normalitas untuk data jumlah mutasi, kadar AMH antral pada kelompok SOPK.**

Data	Kolmogoro-Smirnov			Kesimpulan
	Statistik	Df	Sig.	
Jumlah Mutasi	0,294	40	0,000	Tidak normal
Kadar AMH	0,110	40	0,200	Normal

Pada hasil uji statistik dengan menggunakan *Wilcoxon Signed Ranks* didapatkan pada kelompok SOPK ditemukan jumlah mutasi yang terjadi berpengaruh secara bermakna terhadap kadar AMH ( $p < 0,05$ ).

**Tabel 2. Hasil uji *Wilcoxon Signed Ranks* antara jumlah mutasi dengan kadar AMH pada kelompok SOPK.**

Data	N	Median (minimum-maksimum)	Rerata ± s.b.	P
Jumlah Mutasi	40	2,00 ( 1,00 – 34,00)	4,28 ± 5,64	0,011*
Kadar AMH	40	4,99 (1,00 – 16,54)	5,41 ± 3,32	P < 0,05

Ket : \*)signifikan

Pada kelompok kontrol diketahui memiliki sebaran data yang terdistribusi tidak normal menggunakan uji *Kolmogoro-Smirnov*. Dan untuk mengetahui pengaruh jumlah mutasi terhadap kadar AMH digunakan uji *Wilcoxon Signed Ranks*. Dari hasil perhitungan statistik didapatkan pada kelompok kontrol jumlah mutasi tidak berpengaruh secara bermakna terhadap kadar AMH ( $p > 0,05$ ).

**Tabel 3. Hasil uji normalitas untuk data jumlah mutasi dan kadar AMH dengan menggunakan uji *Kolmogoro-Smirnov* pada kelompok kontrol.**

Data	Kolmogoro-Smirnov			Kesimpulan
	Statistik	Df	Sig.	
Jumlah Mutasi	0,247	30	0,000	Tidak normal
Kadar AMH	0,144	30	0,117	Normal

**Tabel 4. Hasil uji Wilcoxon Signed Ranks antara jumlah mutasi dengan kadar AMH pada kelompok kontrol.**

Data	N	Median (Minimum-maksimum)	Rerata ± s.b.	P
Jumlah Mutasi	40	3,00 ( 1,00 - 19,00)	4,43 ± 3,80	0,245 P > 0,05
Kadar AMH	40	2,58 (0,36 - 8,40)	3,20 ± 2.26	

#### PEMBAHASAN

Amplifikasi dilakukan pada daerah promoter gen AMH yang menghasilkan amplicon 1066 bp (Gambar 4.3), menggunakan sepasang primer yaitu 5'-GTC-CAC-CCT-CAG-CCT-CCG-GGA-GTT-CAC-C-3' dan 3'-GAT-GCC-TGG-AGG-CCA-GTC-CAA-GTC-TTC-TCG-5'. Primer diperoleh dari referensi jurnal penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Oppelt, dkk (2005) dan dilakukan *blast* untuk memastikan bahwa sekuen primer spesifik berada pada gen AMH. Pemilihan daerah promoter gen AMH didasarkan pada dua hal yaitu pertama daerah sepanjang promoter gen AMH merupakan tempat melekatnya faktor-faktor transkripsi dan sekuen GC berada sehingga adanya variasi promoter gen AMH diduga mempengaruhi proses transkripsi gen AMH yang selanjutnya berimplikasi pada pembentukan protein AMH. Dasar kedua adalah penelitian terdahulu menunjukkan bahwa adanya variasi sekuen promoter gen AMH bertanggung jawab terhadap aktivasi peningkatan hormon AMH pada pasien MRKH (Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser) (Oppelt *et al.*, 2005).

Amplicon disekuensing di perusahaan 1<sup>st</sup>Base (First Base), Singapura. Hasil sekuensing menghasilkan data elektrogram dari seluruh sampel penelitian dan diolah secara bioinformatika menggunakan 3 *software*. Ketiga *software* tersebut yaitu *finch TV* sebagai aplikasi pertama untuk membaca dan membuka file elektrogram hasil sekuensing, dilanjutkan dengan aplikasi *mutation surveyor* yang secara otomatis mendeteksi mutasi yang terjadi pada masing-masing sampel dan memberikan informasi mengenai persentase mutasi pada keseluruhan populasi sampel. Aplikasi ketiga yang digunakan adalah

bioedit. Bioedit berfungsi untuk memastikan satu persatu sekuen sampel yang dihasilkan urutan mutasinya sesuai dengan aplikasi sebelumnya sehingga hasil yang didapatkan dapat lebih akurat dan menghindari bias.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan jumlah mutasi sampel pasien pada kelompok SOPK (Gambar 1) maupun pada kelompok kontrol (Gambar 2) memberikan hasil sebaran frekuensi yang bervariasi. Dari sebaran data pada kelompok SOPK tersebut terdapat 1 pasien yang memiliki 34 jenis mutasi dan sebanyak 42 pasien ditemukan memiliki 2 jenis mutasi yaitu pada titik -245 C/T dan -674 G/A. Pada kelompok kontrol dari 54 pasien, 1 pasien memiliki 23 jenis mutasi yang ditemukan dan frekuensi tertinggi dengan 2 jenis mutasi yaitu pada titik -245 C/T dan -674 G/A ditemukan pada 15 pasien kelompok kontrol.

Eksresi gen secara umum dipengaruhi oleh elemen promoternya yaitu terdiri atas empat elemen, yaitu sekuen pemulai (*inisiator*) yang terletak pada daerah inisiasi transkripsi, elemen hilir (*downstream*) yang terletak di sebelah hilir dari titik awal transkripsi, kotak TATA dan suatu elemen hulu (*upstream*) (Yuwono, 2008). Morikawa *et al.*, (2000) melaporkan bahwa promoter gen AMH pada manusia tidak ditemukan kotak TATA maupun CCAAT *box elements*. Transkripsi gen AMH berjalan tanpa adanya TATA box, fungsi inisiasinya digantikan oleh aktifitas faktor transkripsi TFII-I (Morikawa *et al.*, 2000). Meskipun kotak TATA mempunyai peranan sangat penting dalam menentukan inisiasi transkripsi beberapa gen, namun cukup banyak gen yang tidak mempunyai kotak TATA termasuk gen AMH. Selain kotak TATA,

ada sekuen lain yang terletak di sebelah hulu dari sekuen TATA yang juga diperlukan dalam proses transkripsi, yaitu sekuen GC yang terletak pada posisi sekitar -47 sampai -61 dan antara -80 sampai -105 (Tatosyan et al., 2020).

Sejumlah mutasi yang terdeteksi pada promotor gen AMH diduga berperan penting dalam memicu inisiasi proses transkripsi gen AMH sehingga protein gen AMH yang terbentuk menjadi lebih tinggi. Adanya perubahan pada daerah promotor gen menyebabkan adanya perubahan aktivitas ekspresi gen sehingga mempengaruhi laju transkripsi. Hal ini diperlihatkan pada penelitian Oppelt et al (2005) bahwa variasi sekuen promotor gen AMH menstimulasi ekspresi AMH pada penyakit MRKH (*Mayer Rokitanski Kuster Hauser*) (Oppelt et al., 2005). Li tahun 2011 melaporkan bahwa peningkatan AMH pada sel granulosa pasien SOPK disebabkan adanya aktivitas *enhancer* pada promotor gen AMH, namun aktifitas ini dapat ditekan dengan meningkatnya kadar FSH sehingga terjadi gangguan pada aktifitas promotor dan menyebabkan menurunnya ekspresi AMH (Li et al., 2011). Pada penelitian lain dengan gen yang berbeda dilaporkan bahwa variasi sekuen promotor gen akan menstimulasi ekspresi gen, diantaranya oleh De Vivo dkk (2002) bahwa polimorfisme promotor gen reseptor progesterone menghasilkan titik transkripsi baru sehingga terjadi peningkatan ekspresi h-PR-B isoform yang berasosiasi terhadap tingkat risiko kanker endometrium (De Vivo et al., 2002). Wang dkk (2019) melaporkan variasi DNA pada promotor gen AMH interleukin-10 (IL-10) berasosiasi dengan tingginya ekspresi IL-10 pada penyakit autoimun lupus (Wang et al., 2019).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa mutasi pada promotor gen AMH akan memicu peningkatan sekresi AMH. Ekspresi AMH lebih tinggi pada folikel preantral dan antral kecil ( $\leq 4$  mm), sedangkan pada

folikel antral besar dan preovulasi kadar AMH menurun. Peningkatan kadar AMH akan mempengaruhi perkembangan folikel sehingga AFC meningkat. Pada SOPK terjadi gangguan proses pematangan folikel yang diakibatkan oleh kerja AMH yang menekan sekresi FSH sehingga tidak tercapai ambang rangsang (*threshold*) FSH untuk proses pematangan folikel. Akibatnya tidak pernah terbentuk ovum yang matang (anovulasi) (Dewailly et al., 2016). Hasil penelitian terdahulu yang mendukung hasil penelitian ini diantaranya yang dilakukan oleh Renato Fanchin, dkk (2003) terhadap 93 orang wanita yang mengikuti program fertilisasi in vitro di Perancis mendapatkan korelasi yang bermakna antara kadar serum basal AMH dengan jumlah folikel preovulasi (Fanchin et al., 2003).

## KESIMPULAN

Jumlah mutasi yang terjadi berpengaruh terhadap kadar AMH pada kelompok SOPK dan bermakna secara statistik dengan nilai p lebih kecil dari 0,05. Pada kelompok kontrol jumlah mutasi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kadar AMH. Semakin tinggi jumlah mutasi pada individu maka semakin tinggi kadar AMH nya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset Pengabdian Masyarakat (DRPM UI) khususnya untuk program Hibah BOPTN sebagai sumber dana untuk proyek ini, Klinik Yasmin IVF di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Kencana (RSCM), Jakarta dan laboratorium biologi di Departemen Biologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia sebagai tempat penelitian kami.

## DAFTAR PUSTAKA

Bedenk, J., Vrtačnik-Bokal, E., & Virant-Klun, I. 2020. The role of anti-Müllerian hormone (AMH) in ovarian disease and infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 37(1), 89–100.

- <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01622-7>
- Chen1, R., Xin-Wen Nian1, X. C. L. W. \* X. S. S.-G. P., Zhou1, T., Li1, H.-Z., Liu2, Y.-W., De-Pei Kong1, G.-A. X. C. G.-H. C.-L. Z., Lu1, X., Liu1, Z.-Y. J. Z.-Y., & Ying-Hao Sun. 2019. Prostate cancer risk prediction models in Eastern Asian populations: current status, racial difference, and future directions. *Asian Journal of Andrology*, 21(July), 1-4. <https://doi.org/10.4103/aja.aja>
- De Vivo, I., Huggins, G. S., Hankinson, S. E., Lescault, P. J., Boezen, M., Colditz, G. A., & Hunter, D. J. 2002. A functional polymorphism in the promoter of the progesterone receptor gene associated with endometrial cancer risk. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(19), 12263-12268. <https://doi.org/10.1073/pnas.192172299>
- Dewailly, D., Robin, G., Peigne, M., Decanter, C., Pigny, P., & Catteau-Jonard, S. 2016. Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary. *Human Reproduction Update*, 22(6), 709-724. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw027>
- Dumont, A., Robin, G., Catteau-Jonard, S., & Dewailly, D. 2015. Role of Anti-Müllerian Hormone in pathophysiology, diagnosis and treatment of Polycystic Ovary Syndrome: A review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13(1), 8-10. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0134-9>
- Fanchin, R., Schonäuer, L. M., Righini, C., Frydman, N., Frydman, R., & Taieb, J. 2003. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Human Reproduction*, 18(2), 328-332. <https://doi.org/10.1093/humrep/deg043>
- Fu, L., Qu, F., Pan, J., Wang, T., & Wang, F. 2021. Polycystic ovary syndrome in adolescents with obesity. *Revista Da Associacao Medica Brasileira*, 67(3), 468-473. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20200890>
- Kabel, A. 2016. Polycystic Ovarian Syndrome: Insights into Pathogenesis, Diagnosis, Pathogenesis of Pcos, 1(1), 1-5.
- Kim, J. H., MacLaughlin, D. T., & Donahoe, P. K. 2014. Müllerian inhibiting substance/anti-Müllerian hormone: A novel treatment for gynecologic tumors. *Obstetrics & Gynecology Science*, 57(5), 343. <https://doi.org/10.5468/ogs.2014.57.5.343>
- Lauritsen, M. P., Bentzen, J. G., Pinborg, A., Loft, A., Forman, J. L., Thuesen, L. L., Cohen, A., Hougaard, D. M., & Nybo Andersen, A. 2014. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a normal population according to the Rotterdam criteria versus revised criteria including anti-Müllerian hormone. *Human Reproduction*, 29(4), 791-801. <https://doi.org/10.1093/humrep/det469>
- Li, Y., Wei, L. N., & Liang, X. Y. 2011. Follicle-stimulating hormone suppressed excessive production of antimüllerian hormone caused by abnormally enhanced promoter activity in polycystic ovary syndrome granulosa cells. *Fertility and Sterility*, 95(7), 2354-2359. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.03.047>
- Morikawa, N., Clarke, T. R., Novina, C. D., Watanabe, K., Haqq, C., Weiss, M., Roy, A. L., & Donahoe, P. K. 2000. Human müllerian-inhibiting substance promoter contains a functional TFII-I-binding initiator. *Biology of Reproduction*, 63(4), 1075-1083. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.63.4.1075>
- Ndefo, U. A., Eaton, A., & Green, M. R.

2013. Polycystic ovary syndrome: A review of treatment options with a focus on pharmacological approaches. *P and T*, 38(6), 336–355.
- Oppelt, P., Strissel, P. L., Kellermann, A., Seeber, S., Humeny, A., Beckmann, M. W., & Strick, R. 2005. DNA sequence variations of the entire anti-Müllerian hormone (AMH) gene promoter and AMH protein expression in patients with the Mayer-Rokitanski-Küster-Hauser syndrome. *Human Reproduction*, 20(1), 149–157. <https://doi.org/10.1093/humrep/d eh547>
- Tal, R., Seifer, C. M., Khanimov, M., Seifer, D. B., & Tal, O. 2020. High serum Antimüllerian hormone levels are associated with lower live birth rates in women with polycystic ovarian syndrome undergoing assisted reproductive technology. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 18(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00581-4>
- Tatosyan, K. A., Stasenko, D. V., Koval, A. P., Gogolevskaya, I. K., & Kramerov, D. A. 2020. TATA-like boxes in RNA polymerase iii promoters: Requirements for nucleotide sequences. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10), 1–26. <https://doi.org/10.3390/ijms21103706>
- Unal, E., Yıldırım, R., Tekin, S., Demir, V., Onay, H., & Haspolat, Y. K. 2018. A Novel Mutation of AMHR2 in Two Siblings with Persistent Müllerian Duct Syndrome. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 10(4), 387–390. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.0013>
- Wang, X., Wong, K., Ouyang, W., & Rutz, S. 2019. Targeting IL-10 family cytokines for the treatment of human diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 11(2). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028548>
- Wiweko, B., Maidarti, M., Priangga, M. D., Shafira, N., Fernando, D., Sumapraja, K., Natadisastra, M., & Hestiantoro, A. 2014. Anti-müllerian hormone as a diagnostic and prognostic tool for PCOS patients. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 31(10), 1311–1316. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0300-6>
- Yuwono, T. 2008. *Biologi Molekuler*. Erlangga.