

**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN CLOMIPHENE  
CITRATE DAN LETROZOLE TERHADAP  
PERKEMBANGAN FOLIKEL SERTA PROFIL  
HORMONAL PADA WANITA DENGAN *UNEXPLAINED  
INFERTILITY***

***DIFFERENCE OF THE EFFECT OF CLOMIPHENE CITRATE AND  
LETROZOLE ON THE FOLLICLE GROWTH AND HORMONAL  
PROFILE IN WOMAN WITH UNEXPLAINED INFERTILITY***



**Tesis**

**untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2  
dan memperoleh keahlian dalam bidang Obstetri dan Ginekologi**

**S u g o n o**

**PROGRAM PASCA SARJANA  
MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
DAN  
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I  
OBSTETRI DAN GINEKOLOGI  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2008**

## TESIS

**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN CLOMIPHENE CITRATE ATAU  
LETROZOLE TERHADAP PERKEMBANGAN FOLIKEL DAN PROFIL  
HORMONAL PADA WANITA DENGAN *UNEXPLAINED INFERTILITY***

disusun oleh

S u g o n o

telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
pada tanggal 23 September 2008  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Kedua

dr. Syarif Thaufik Hidayat, SpOG(K)  
NIP: 140 255 451

dr. Fajar Siswanto, SpOG(K)  
NIP: 140 090 444

Mengetahui,

Ketua Program Studi  
Obstetri dan Ginekologi  
Fakultas Kedokteran UNDIP

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik  
Program Pascasarjana UNDIP

dr. Syarif Thaufik Hidayat, SpOG(K)  
NIP: 140 255 451

Prof.dr.H. Soebowo, SpPA(K)  
NIP: 130 352 549

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : dr. Sugono  
Tempat / Tanggal Lahir : Kandang Aceh Selatan, 29 Maret 1968  
Agama : Katolik  
Jenis Kelamin : Laki – laki  
Alamat : Jl. Wologito Utara No. 60, Semarang Barat

### B. Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri 21 Banda Aceh : Lulus tahun 1980
2. SMP Negeri 4 Banda Aceh : Lulus tahun 1983
3. SMAN 3 Banda Aceh : Lulus tahun 1986
4. FK UNSYIAH Banda Aceh : Lulus tahun 1997
5. PPDS I Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP Semarang: lulus tahun 2008
6. Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana UNDIP Semarang

### C. Riwayat Pekerjaan

1. Tahun 1997-2000 : Dokter PTT di RSUD Sabang, Prop. NAD
2. Tahun 2000-2002 : Dokter PNS di RSUD Sabang, Prop. NAD
3. Tahun 1997-2002 : Dokter mitra Pertamina, PLN, Telkom Sabang Prop. NAD

### D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang tua
  - a. Nama Ayah : Thomas Supardi
  - b. Nama Ibu : Theresia Armila
2. Nama Istri : Angelina Mita Su
3. Nama Anak : - Giovan Pratama  
- Gina Giovani Gemilang  
- Kelvina Gemilang  
- Steven Austin Gemilang

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat TUHAN YANG MAHA KUASA, karena berkat Kasih dan Karunia-Nya, kami dapat menyelesaikan tulisan karya akhir berjudul **“Perbedaan pengaruh pemberian clomiphene citrate dan letrozole terhadap perkembangan folikel serta profil hormonal pada wanita dengan *unexplained infertility*”**. Penelitian ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Obstetri dan Ginekologi pada Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP. Dr. Kariadi Semarang. Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Prof. Dr. dr. Susilo Wibowo, MSMed, SpAnd** selaku Rektor UNDIP yang telah memberi kesempatan untuk menempuh Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik dan PPDS Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP.
2. **Prof. Drs. Y. Warella, MPA, PhD** selaku Direktur Program Pasca Sarjana UNDIP yang telah memberi kesempatan untuk menjadi peserta Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik.
3. **Prof. dr. Soebowo, SpPA(K)** selaku ketua program studi magister ilmu biomedik program pasca sarjana UNDIP yang telah memberi kesempatan mengikuti program pendidikan pasca sarjana.
4. **dr. Soejoto, PAK, SpKK(K)** selaku Dekan FK UNDIP dan **Prof. Dr. dr. Tjahjono, SpPA(K), FIAC** selaku ketua komisi etik penelitian kesehatan FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi yang telah menyetujui Ethical Clearance.
5. **dr. Budi Riyanto, MSc, SpPD-KPTI** selaku direktur RSUP Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan ijin tempat pengambilan sampel penelitian.
6. **dr. Herman Kristanto, MS, SpOG(K)** selaku Ketua Bagian/SMF Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP/RSUP. Dr. Kariadi yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menjalani pendidikan PPDS I Obstetri dan Ginekologi dan selalu memacu semangat saya dalam menyelesaikan tesis ini dan telah meluangkan waktu, tenaga, fikiran dan dengan sabar, tekun serta

bijaksana memberikan dorongan, arahan, kritik, saran, koreksi dan nasehat kepada saya selama masa pendidikan.

7. **dr. Syarief Thaufik H, SpOG(K)** selaku Ketua Program Studi PPDS I Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP/RSUP. Dr. Kariadi dan Pembimbing I, atas segala kebijaksanaan, arahan, bimbingan dan telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan dengan sabar, tekun dan bijaksana memberikan dorongan, arahan, kritik, saran, koreksi dan nasehat kepada saya selama masa pendidikan dan dalam penyusunan tesis ini.
8. **dr. Fadjar Siswanto, SpOG(K)** selaku Pembimbing II, yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dan dengan sabar, tekun dan bijaksana memberikan dorongan, bimbingan, arahan, kritik, saran, koreksi, dan nasehat dengan penuh keterbukaan dan kehangatan dalam penyusunan tesis ini.
9. **Prof. dr. Noor Pramono, MMedSc, SpOG(K)** selaku Pembimbing Metodologi dan selaku Guru Besar yang telah banyak memberikan inspirasi dengan kedisiplinan, ketegasan, ketelitian dan kesabaran dalam mendorong, membimbing dan mengarahkan saya selama pendidikan dan penyusunan tesis ini.
10. **Seluruh Guru Besar dan Staf Pengajar** di Bagian/ SMF Obstetri Ginekologi FK UNDIP/ RSUP Dr. Kariadi Semarang dan di Program Magister Biomedik FK UNDIP yang dengan sabar mendidik dan membimbing kami selama masa pendidikan.
11. **Prof.Dr.dr. Tjahjono, SpPA(K) FIAC** dan **dr. Banundari Rachmawati, SpPK (K)** selaku penguji kami yang sekaligus juga telah banyak memberikan asupan selama penulisan proposal hingga seminar hasil penelitian ini.
12. **dr. Suhartono, MKes** yang telah banyak sekali memberikan bimbingan dan membantu dalam statistik dan analisis data dalam penyusunan tesis ini.
13. **Pimpinan dan Staf Laboratorium GAKI FK UNDIP** yang telah mengizinkan dan membantu kami melakukan pemeriksaan hormonal di laboratorium tersebut.
14. Kepada Ayahanda dan Ibunda tercinta **Thomas Supardi** dan **Theresia Armila** serta kedua mertua Bapak **Suhendra (alm)** dan ibu **Marni (alm)**

yang dengan penuh kasih sayang telah membesarkan, mendidik, memberikan dorongan semangat dan doa serta dukungan moril maupun material, sujud dan bakti kami haturkan dengan tulus hati.

15. Kepada istriku tercinta **Mita Su** serta anak-anakku tersayang: **Giovan Pratama, Gina Giovani Gemilang, Kelvina Gemilang** dan **Steven Austin Gemilang**, yang dengan penuh kasih sayang, telah begitu luar biasa, dengan setia dan tabah mendampingi, memberikan dorongan semangat, pengorbanan dan senyuman, serta berdoa tiada henti sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan ini. Penulis sampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga.
16. Kepada segenap sejawat residen, bidan, *coass*, perawat, karyawan / karyawanati Bagian / SMF Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP / RSUP. Dr. Kariadi Semarang serta di Program Pasca Sarjana, khususnya Magister Biomedik, atas bantuan, dan kerjasamanya selama pendidikan dan dalam penyusunan tesis ini.

Akhirnya kami haturkan terima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu atas bantuannya dalam menjalani pendidikan dan terlaksananya penelitian ini hingga selesai. Semoga Tuhan Yang Maha Kuasa membalas kebaikan yang telah Bapak/Ibu berikan kepada kami.

Semarang, Agustus 2008

**S u g o n o**

## DAFTAR ISI

Kata pengantar .....	v
Daftar isi .....	viii
Daftar tabel .....	xii
Daftar gambar .....	xiii
Daftar lampiran .....	xiv
Daftar singkatan .....	xv
Abstrak .....	xvi
Abstract .....	xvii
1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang .....	1
1.2. Permasalahan .....	3
1.3. Tujuan penelitian .....	4
1.4. Keaslian Penelitian .....	4
1.5. Manfaat penelitian .....	7
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Infertilitas .....	9
2.2. Follikulogenesis .....	10
2.2.1. Fase perekrutan .....	10
2.2.2. Fase seleksi dan dominasi .....	11
2.2.3. Fase ovulasi .....	11
2.2.3.1. Periode pre antral .....	11
2.2.3.2. Periode antral .....	13
2.3. Diagnosis terjadinya ovulasi .....	22

2.4. Infertilitas tak terjelaskan ( <i>Unexplained infertility</i> ) .....	24
2.5. Peran transvaginal sonografi dalam menentukan perkembangan folikel.....	25
2.5.1. Gambaran folikel .....	25
2.6. Induksi ovulasi dan super ovulasi .....	26
2.6.1. Clomiphene citrate .....	28
2.6.1.1. Farmakologi CC .....	28
2.6.1.2. Pengaruh CC terhadap pembentukan dan perkembangan folikel .....	30
2.6.1.3. Protokol pemberian CC .....	31
2.6.1.4. Angka keberhasilan CC .....	32
2.6.1.5. Efek samping CC .....	33
2.6.2. Aromatase inhibitor .....	33
2.6.2.1. Letrozole .....	35
2.6.2.1.1. Farmakologi letrozole .....	36
2.6.2.1.2. Pengaruh letrozole terhadap pembentukan dan Perkembangan folikel .	39
2.6.2.1.3. Protokol pemberian letrozole .....	40
2.6.2.1.4. Angka keberhasilan letrozole .....	42
2.6.2.1.5. Efek samping letrozole .....	43
2.7. Patofisiologi .....	44
2.8. Kerangka teori.....	45
2.9. Kerangka konsep.....	47
3. Hipotesis .....	48
4. Metode penelitian .....	49

4.1. Ruang lingkup penelitian .....	49
4.2. Tempat dan waktu penelitian .....	49
4.3. Jenis dan rancangan penelitian .....	49
4.4. Populasi dan sampel .....	49
4.4.1. Populasi target .....	49
4.4.2. Populasi terjangkau .....	50
4.4.3. Sampel penelitian .....	50
4.4.3.1. Kriteria inklusi .....	50
4.4.3.2. Kriteria eksklusi .....	51
4.4.4. Cara pengambilan sampel .....	51
4.4.5. Besar sampel .....	52
4.4.6. Cara randomisasi .....	53
4.4.7. Cara blinding .....	53
4.5. Variabel penelitian .....	54
4.6. Definisi operasional .....	54
4.7. Bahan dan cara kerja .....	56
4.7.1. Alat-alat yang digunakan .....	56
4.7.2. Cara kerja .....	56
4.8. Alur penelitian .....	59
4.9. Pengolahan dan analisis data .....	60
4.10. Etika penelitian .....	61
5. Hasil penelitian .....	62
5.1. Uji normalitas data .....	62
5.2. Karakteristik subyek .....	64
5.3. Diameter dan jumlah folikel hari ke-8 dan 12 siklus haid .....	64

	10
5.4. Perbedaan jumlah folikel matur pada hari ke-8 dan 12 siklus haid .....	65
5.5. Perbedaan hari terjadinya ovulasi pada kelompok CC dan letrozole .....	66
5.6. Perbedaan kadar FSH, LH dan E2 hari ke-3 siklus haid .....	67
5.7. Perbedaan kadar FSH, LH, dan E2 hari ke-8 siklus haid .....	68
5.8. Perbedaan kadar FSH, LH, dan E2 hari ke-12 siklus haid .....	68
5.9. Hubungan kadar FSH dengan diameter folikel .....	69
6. Pembahasan .....	71
7. Simpulan dan saran .....	80
7.1. Simpulan .....	80
7.2. Saran .....	80
Daftar pustaka .....	81

**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor</b>	<b>Halaman</b>
1. Penelitian penelitian yang berkenaan dengan penggunaan CC atau letrozole untuk stimulasi ovarium	8
2. Hasil uji normalitas data penelitian dengan metode Shapiro Wilk	63
3. Karakteristik subyek penelitian	64
4. Perbedaan diameter folikel terbesar hari ke-8 dan 12 siklus haid	65
5. Perbedaan kategori jumlah folikel matur hari ke-8 dan 12 siklus haid	66
6. Perbedaan hari terjadinya ovulasi pada kelompok CC dan letrozole	67
7. Perbedaan kadar FSH, LH, dan E <sub>2</sub> hari ke-3 siklus haid	67
8. Perbedaan kadar FSH, LH, dan E <sub>2</sub> hari ke-8 siklus haid	68
9. Perbedaan kadar FSH, LH, dan E <sub>2</sub> hari ke-8 siklus haid	69

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Perubahan morfologi folikel selama pertumbuhan dan perkembangan	13
2. Kronologi pertumbuhan dan perkembangan folikel dalam ovarium manusia	14
3. Waktu relatif yang diperlukan folikel Graafian untuk menyelesaikan periode preantral	14
4. The two-cell, two gonadotropin system	16
5. Peran hormonal pada fase folikuler awal	17
6. Peran hormon dan peptida pada fase folikuler awal	17
7. Kadar hormon dan peptida pada siklus menstruasi	18
8. Proses perubahan androgen menjadi estrogen	20
9. Profil hormon FSH, LH, E <sub>2</sub> dan P pada siklus menstruasi natural	21
10. Metode pemeriksaan terjadinya ovulasi	24
11. Struktur kimia CC dan DES	29
12. Pengaruh pemberian CC	30
13. Profil hormonal setelah pemberian CC	32
14. Pengaruh pemberian aromatase inhibitor terhadap profil hormonal	35
15. Pengaruh pemberian aromatase inhibitor terhadap folikel	39
16. Protokol pemberian CC dan Letrozole	42
17. Hubungan antara kadar FSH dan diameter folikel pada Hari ke-8 siklus haid	70
18. Hubungan antara kadar FSH dan diameter folikel pada Hari ke-12 siklus haid	70

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Nomor</b>	<b>Halaman</b>
1. Ijin Penelitian di RSUP Dr. Kariadi Semarang	86
2. <i>Ethical clearance</i>	87
3. Lembar informasi dan penjelasan	88
4. Persetujuan setelah penjelasan	90
5. Data peserta penelitian	91
6. Analisis statistik dengan program SPSS	92
7. Lembar persetujuan penguji	100

**DAFTAR SINGKATAN**

A	=	Androstenedion
CC	=	Clomiphene citrate
CRH	=	<i>Corticotropin Releasing Hormone</i>
DNA	=	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
E <sub>2</sub>	=	Estradiol
FER	=	Fertilitas, Endokrinologi, dan Reproduksi Manusia
FSH	=	<i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GnRH	=	<i>Gonadotropin Releasing hormone</i>
hCG	=	<i>Human Chorionic Gonadotropin</i>
hMG	=	<i>Human Menopausal Gonadotropin</i>
HSG	=	<i>Histerosalphingography</i>
IGF	=	<i>Insulinlike Growth Factor</i>
IUI	=	<i>Intrauterine Insemination</i>
IVF	=	<i>Invitro Fertilisation</i>
IMT	=	Indeks Massa Tubuh
LDL	=	<i>Low Density Lipoporotein</i>
LH	=	<i>Lutenizing Hormone</i>
LTZ	=	Letrozole
PCOS	=	<i>Policystic ovarian syndrome</i>
RCT	=	<i>Randomized Controlled Trial</i>
RSUP	=	Rumah Sakit Umum Pusat
SBB	=	Suhu Basal Badan
SPSS	=	<i>Statistical Product and Service Solutions</i>
SOPK	=	Sindroma Ovarium Polikistik
T	=	Testosteron
TRB	=	Tehnik Reproduksi Berbantu
TSH	=	<i>Thyroid Stimulating Hormone</i>
TSHS	=	<i>Thyroid Stimulating Hormone Sensitive</i>
T <sub>3</sub>	=	<i>Triiodothyronin</i>
T <sub>4</sub>	=	<i>Thyroxine</i>
TVS	=	<i>Transvaginal sonography</i>
USG	=	<i>Ultrasonography</i>

## ABSTRAK

**Latar belakang:** Pada *unexplained infertility*, dilakukan superovulasi dengan clomiphene citrate (CC). Bila gagal dilanjutkan dengan hormon gonadotropin, disertai dengan inseminasi atau IVF. Dijumpai beberapa kelemahan, yaitu: *Pregnancy rate* yang rendah (CC), menghasilkan folikel matur multipel dan peningkatan resiko terjadinya *ovarian hyperstimulation syndrome* (CC dan gonadotropin), serta biaya yang mahal (gonadotropin). Letrozole dengan kelebihanannya, diduga dapat menggantikan peran CC atau pun gonadotropin sebagai lini pertama untuk induksi ovulasi maupun superovulasi.

**Tujuan:** Membandingkan perbedaan pengaruh pemberian CC atau letrozole terhadap pertumbuhan folikel, keberhasilan ovulasi dan profil hormonal pada wanita dengan *unexplained infertility*.

**Tempat:** Klinik Infertilitas Sub Bagian Fertilitas Endokrinologi dan Reproduksi manusia Bagian/SMF Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang.

**Rancangan:** Uji klinik buta berganda (*randomized controlled double blind trial*) tanpa matching.

**Bahan dan cara kerja:** Selama kurun waktu April 2008 - Juni 2008 didapat 27 subyek pada kelompok CC dan 28 subyek pada kelompok letrozole. Pada hari ke-3 siklus haid seluruh subyek dilakukan pemeriksaan TVS dan pengambilan sampel darah vena untuk pemeriksaan kadar FSH, LH dan E<sub>2</sub> (estradiol). Mulai hari ke- 3-7 siklus haid, masing-masing kelompok mendapat CC 50 mg atau letrozole 2,5 mg per hari. Pada hari ke-8 dan 12 siklus, subyek menjalani pemeriksaan ulang. Jika pada hari ke-12 siklus belum terjadi ovulasi, TVS dilanjutkan hingga hari ke-14, 16, dan 18 siklus.

**Hasil:** Pada kelompok CC didapatkan: hari ke-8 dan ke-12 siklus, diameter folikel lebih besar. Diameter folikel telah mencapai 18 mm pada hari ke-8 dan > 25 mm pada hari ke-12 siklus, seluruhnya berupa folikel matur *multipel*, terjadi ovulasi mulai pada hari 12-13 siklus haid, kadar FSH, LH, dan E<sub>2</sub> lebih tinggi baik pada hari ke-8 maupun ke-12 siklus. Pada kelompok letrozole didapatkan: seluruh subyek berupa folikel matur tunggal, ovulasi terjadi pada hari ke-14-15.

**Kesimpulan:** Pada kelompok CC didapatkan: Diameter folikel lebih besar, seluruhnya berupa folikel matur multipel, terjadi ovulasi lebih awal, kadar hormon FSH, LH, E<sub>2</sub> lebih tinggi. Pada kelompok letrozole didapatkan: seluruhnya berupa folikel matur tunggal, ovulasi terjadi mulai pada hari ke-14 dan 15 siklus.

**Kata kunci:** clomiphene citrate, letrozole, induksi ovulasi, superovulasi, diameter folikel, FSH, LH, Estradiol, E<sub>2</sub>.

**ABSTRACT**

**Background:** *Woman with unexplained infertility were usually approach by superovulation with clomiphene citrate (CC). If it is fail, continued by giving gonadotropin and IUI or IVF. There are some weakness, include: low pregnancy rate (CC), multiple mature follicles, higher risk for ovarian hyperstimulation syndrome event (CC and gonadotropin), and higher cost (gonadotropin). Letrozole with its feature is estimated could be use as the first line for ovulation induction or superovulation.*

**Objective:** *To compare the difference of the effect of CC or letrozole on follicle growth, ovulation event and hormonal profile (FSH, LH, E<sub>2</sub>) in woman with unexplained infertility.*

**Setting:** *Infertility clinic of FER Sub-division of Obstetrics and Gynecology Division, Medical Faculty of Undip University / Dr. Kariadi Central General Hospital, Semarang, Indonesia.*

**Design:** *Randomized double blind controlled trial non matching study.*

**Method:** *From april 2008 – June 2008, there were 27 subjects in CC group and 28 in letrozole group. On the 3<sup>rd</sup> day of menstrual periode, all subject underwent transvaginal sonography (TVS) and examine of FSH, LH, and E<sub>2</sub> level. Subject then received 50 mg of CC or 2.5 mg of letrozole, per oral, once a day until the 7<sup>th</sup> day of t periode. On the 8<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> day of peride, all subject underwent TVS and hormonal examination. If ovulation did not event yet, TVS was continued on the 14<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> until 18<sup>th</sup> day of periode.*

**Result:** *In CC group: On the 8<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> of periode, follicles diameter were bigger, 18mm on 8<sup>th</sup> day and > 25 mm on 12<sup>nd</sup>, all were multiple mature follicles; ovulation event on 12<sup>nd</sup>-13<sup>th</sup> day; FSH, LH and E<sub>2</sub> level were higher. In letrozole group: all subjects were single mature follicles; ovulation event on 14<sup>th</sup>-15<sup>th</sup> day.*

**Conclusion:** *Bigger in follicle diameter, all were multiple mature follicles, and earlier ovulation event in CC group. In letrozole group: all were single mature follicles, ovulation event on 14<sup>th</sup>-15<sup>th</sup> day of periode.*

**Keywords:** *clomiphene citrate, letrozole, ovulation induction, superovulation, follicle diameter, FSH, LH, Estradiol, E<sub>2</sub>.*

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar belakang

Pengelolaan infertilitas pada wanita, yang paling sering dilakukan adalah induksi ovulasi dan superovulasi. Induksi ovulasi dilakukan pada wanita infertil anovulatoar yang bertujuan untuk menginduksi pertumbuhan sekurang-kurangnya satu folikel. Sedangkan pada *unexplained infertility*, stimulasi ovarium dilakukan berupa superovulasi dengan tujuan untuk meningkatkan jumlah folikel – suatu pendekatan yang dikenal sebagai hiperstimulasi ovarium terkontrol (*controlled ovarian hyperstimulation*)<sup>1</sup>.

Stimulasi ovarium selama ini dilakukan dengan pemberian gonatropin eksogen atau dengan augmentasi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) endogen dengan pemberian *Clomiphene citrate* (CC). Namun kekurangan terapi ini berhubungan dengan resiko terjadinya *ovarian hyperstimulation syndrome* dan kehamilan múltiple (10-20%)<sup>2</sup>.

Selama lebih dari empat dekade, CC telah digunakan sebagai terapi lini pertama untuk wanita dengan gangguan ovulasi karena CC mudah digunakan dan mengakibatkan ovulasi pada kebanyakan pasien (60%-90%)<sup>3</sup>. Namun *pregnancy rate*-nya mengecewakan, yaitu sekitar 10%-40%. Hal ini diketahui karena efek anti estrogennya di perifer, terutama terhadap endometrium dan lendir serviks<sup>4</sup>. Penggunaan CC terhadap wanita yang ovulatoar, belum diketahui dengan pasti manfaatnya. Terdapat suatu studi meta analisis yang melaporkan adanya manfaat yang signifikan<sup>5</sup>, namun beberapa studi menunjukkan kesempatan untuk hamil lebih rendah dibandingkan dengan kelompok plasebo<sup>6</sup>.

Gonadotropin lebih efektif dibanding CC, namun harganya jauh lebih mahal dan ia berhubungan dengan risiko tinggi terjadinya *ovarian hyperstimulation syndrome* dan kehamilan multipel. Tidak seperti CC, gonadotropin tidak mengeluarkan efek antiestrogenik perifer.

Sehubungan dengan kekecewaan terhadap hasil terapi dengan CC dan mahalnnya harga serta komplikasi yang bisa terjadi pada penggunaan gonadotropin, para ahli berusaha menemukan obat baru yang mudah digunakan, relatif tidak mahal, dan lebih efektif serta menghasilkan folikel matur tunggal.

Dalam tahun 2000-an, Mitwally dan Casper melaporkan bahwa induksi ovulasi dengan letrozole (suatu obat yang selama ini digunakan untuk pengelolaan kanker payudara), pada wanita ovulatoar dan anovulatoar. Disimpulkan bahwa letrozole dapat mengakibatkan stimulasi ovarium yang moderat dan meningkatkan respon ovarium terhadap FSH pada wanita dengan *unexplained infertility* dan wanita yang memiliki respon yang buruk terhadap FSH<sup>7-9</sup>.

Sejak tahun 2001 mulai banyak penelitian yang mendukung pemakaian letrozole sebagai induksi ovulasi, baik tunggal maupun dikombinasikan dengan FSH eksogen pada wanita yang mengalami maupun tidak mengalami gangguan ovulasi<sup>10</sup>.

Karena adanya keunggulan-keunggulan yang dimiliki letrozole sebagai induksi ovulasi maupun superovulasi, banyak peneliti yang meramalkan penggunaan letrozole sebagai obat pilihan utama pada pengobatan infertilitas anovulatoar maupun ovulatoar.

Penggunaan letrozole sebagai induksi ovulasi maupun superovulasi juga tidak memerlukan pengawasan yang ketat yang memerlukan biaya yang cukup mahal. Namun masih sedikit penelitian uji klinik yang mendukung hipotesis bahwa letrozole lebih baik bila dibandingkan CC dan masih perlu banyak penelitian agar letrozole dapat menggantikan CC sebagai obat pilihan pertama induksi ovulasi maupun superovulasi.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan hipotesis tersebut dengan meneliti keberhasilan superovulasi dengan menilai pembentukan dan perkembangan folikel serta profil hormonal yang ditimbulkannya, khususnya FSH, LH dan estradiol ( $E_2$ ).

## **1.2 Permasalahan**

Dengan memperhatikan latar belakang masalah di atas, dapatlah dirumuskan permasalahan penelitian ini, yaitu apakah Letrozole dapat digunakan untuk stimulasi ovarium pada wanita *unexplained infertility* dengan variabel-variabel pengukuran sebagai berikut:

1. Apakah stimulasi ovarium dengan Letrozole akan menyebabkan diameter folikel  $\geq 18$  mm ?
2. Berapakah jumlah folikel matur yang terbentuk setelah pemberian CC atau Letrozole?
3. Adakah perbedaan saat terjadinya ovulasi setelah pemberian CC atau Letrozole?
4. Bagaimanakah perbedaan kadar hormonal setelah pemberian CC atau Letrozole?

## **1.3 Tujuan penelitian**

Tujuan umum: Mengetahui perbedaan pengaruh pemberian CC atau letrozole terhadap perkembangan folikel, saat terjadinya ovulasi dan profil hormonal pada wanita dengan *unexplained infertility*.

Tujuan khusus :

1. Mengetahui perbedaan ukuran dan jumlah folikel matur yang terbentuk setelah pemberian CC atau Letrozole berdasarkan pemeriksaan transvaginal sonografi (TVS).
2. Mengetahui perbedaan kadar hormon FSH, LH dan Estradiol pada hari ke-8 dan 12 siklus haid setelah pemberian CC atau Letrozole.
3. Mengetahui perbedaan saat terjadinya ovulasi setelah pemberian CC atau Letrozole berdasarkan pemeriksaan TVS serial.

#### **1.4 Keaslian penelitian**

Penelitian tentang perbedaan penggunaan CC dan Letrozole untuk induksi ovulasi atau pun superovulasi sering dilakukan di luar negeri, namun perbedaan kadar hormonalnya masih jarang diteliti. Sedangkan di Indonesia, hingga kini masih sedikit yang meneliti penggunaan letrozole untuk induksi ovulasi maupun superovulasi.

Pertama kali penelitian ini dilakukan di Canada dengan metode prospektif yang memberikan letrozole 2,5 mg pada 12 wanita dengan sindroma ovarium polikistik (SOPK) dan 10 wanita yang gagal mencapai ovulasi dan gagal hamil akibat endometrium yang tipis setelah pemberian CC. Didapatkan angka keberhasilan ovulasi 75 % dan angka kehamilan 25 %, ketebalan endometrium 8 mm dan rata-rata ukuran folikel 23 mm. Dibandingkan dengan pemberian CC sebelumnya, ketebalan endometrium hanya  $\leq 5$  mm dan rata-rata ukuran folikel 25 mm<sup>11,12</sup>. Subyek penelitian adalah wanita infertil yang menderita sindroma ovarium polikistik dan yang memiliki

endometrium yang tipis akibat pemberian CC sebelumnya, bukan wanita infertil yang mengalami menstruasi ovulatoar atau non ovulatoar yang tidak menderita SOPK dan tebal endometrium yang normal.

Peneliti yang sama juga melakukan penelitian prospektif observasional pada 12 wanita dengan infertilitas yang tak terjelaskan (*unexplained infertility*) yang sebelumnya telah mendapat gonadotropin dalam program inseminasi buatan. Letrozole 2,5 mg/hari diberikan pada siklus haid hari ke-3 sampai 7, FSH 50–225 IU/hari pada siklus haid hari ke-5 sampai 7 dan hCG 10.000 IU diberikan pada saat folikel dominan  $\geq 20$  mm. Disimpulkan bahwa letrozole dapat meningkatkan respon folikel terhadap FSH dengan dosis FSH yang lebih rendah dan jumlah folikel matur yang lebih banyak. Angka kehamilan mencapai 21% selama pemberian 3 siklus<sup>13</sup>. Namun peneliti tidak membandingkannya dengan kelompok CC.

Peneliti yang sama juga mengamati 994 wanita yang mendapat CC, dengan angka kehamilan 5,5% dan angka kehamilan ganda 22%. Sementara pada 167 wanita yang mendapat letrozole didapatkan angka keberhasilan kehamilan 23% dan 4,3% mengalami kehamilan ganda<sup>14</sup>. Peneliti tidak meneliti perbedaan profil hormonal dan perkembangan folikel kedua kelompok.

Penelitian di India dengan metode penelitian uji klinik acak dilakukan pada 38 wanita dengan riwayat respon jelek terhadap pemberian gonadotropin sebelumnya. Sebanyak 13 wanita mendapat letrozole-FSH dan 25 wanita mendapat GnRH-FSH. Tidak didapatkan perbedaan bermakna dalam hal jumlah folikel dan ketebalan endometrium. Dosis pemberian FSH lebih rendah pada kelompok letrozole – FSH. Namun, tidak didapatkan perbedaan angka keberhasilan kehamilan. Disimpulkan bahwa letrozole dapat digunakan pada wanita yang sebelumnya mempunyai respon

buruk terhadap gonadotropin dan biaya yang dikeluarkan oleh penderita lebih rendah<sup>15</sup>. Peneliti tidak membandingkannya dengan kelompok CC.

Penelitian uji prospektif di Santiago, Chile pada 2002 dilakukan pada 8 pasien berusia 25 dan 35 tahun yang mendapat letrozole 5 mg per hari pada hari ketiga sampai hari ketujuh dibanding kelompok plasebo. Didapatkan peningkatan yang signifikan kadar *Luteinizing hormone* (LH), Androstenedion (A), dan Testosteron (T) pada siklus dengan letrozole. Sedangkan kadar FSH berbeda tidak bermakna antara siklus kelompok perlakuan dan siklus kelompok natural. Kadar estradiol (E<sub>2</sub>) preovulasi berbeda tidak bermakna antara siklus natural dan siklus letrozole. Namun jika konsentrasi E<sub>2</sub> dinyatakan berdasarkan jumlah tiap folikel matur, terdapat penurunan yang bermakna (50%) pada kelompok siklus letrozole ( $P=0,8$ , *paired t test*). Kadar progesteron serum pasca ovulasi (fase midluteal) hampir dua kali lipatnya pada siklus dengan letrozole dibanding siklus natural, konsisten dengan terbentuknya korpus luteum<sup>16</sup>. Namun penelitian ini menggunakan sampel yang sedikit, membandingkan kelompok letrozole dengan kelompok wanita yang sama namun tidak diberi perlakuan (siklus natural) dan tidak membandingkannya dengan CC yang telah 4 dekade digunakan sebagai lini pertama untuk induksi ovulasi.

Penelitian terhadap 8 pasien yang mendapat 2,5 mg letrozole selama 5 hari didapatkan penurunan yang signifikan kadar E<sub>2</sub> dan lebih sedikit folikel dibanding kelompok CC 100 mg per hari. Mereka menyimpulkan bahwa pada wanita ovulator dengan respon yang tidak adekuat terhadap CC (endometrium yang tipis) tampaknya lebih baik diterapi dengan aromatase inhibitor<sup>3</sup>. Peneliti langsung menggunakan dosis CC 100 mg/hari.

Di RSUP Dr. Kariadi pada 2008 pernah dilakukan penelitian terhadap perbedaan efek induksi ovulasi dengan CC atau letrozole pada wanita infertil dengan

haid yang tidak teratur terhadap ketebalan dan gambaran *triple line* pada endometrium, pembentukan folikel dan lendir serviks, namun peneliti tidak menilai perbedaan profil hormonalnya serta subyek yang digunakan wanita infertil dengan haid tak teratur<sup>17</sup>.

Pada Tabel 1 dapat dilihat penelitian yang pernah dilakukan berkenaan dengan letrozole.

### **1.5. Manfaat penelitian**

Penelitian ini berupaya membuktikan penemuan obat superovulasi letrozole yang diduga mempunyai keuntungan yang lebih baik bila dibandingkan dengan CC, sehingga dapat memberikan sumbangan keilmuan bagi pengelolaan infertilitas selanjutnya.

**Tabel 1. Penelitian-penelitian yang berhubungan dengan Letrozole**

Peneliti	Tempat	Tahun	Desain	Subyek / Dosis	Hasil / Kesimpulan
Mitwally & Casper <sup>7</sup>	Kanada	2000	Prospektif	12 ♀ SPOK (10 gagal ovulasi & gagal hamil ak. endomet tipis setelah pemberian CC LTZ 2,5 mg/hr	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ovulation rate 75%</li> <li>- Pregnancy rate 25%</li> <li>- Uk.fol. 23 mm</li> <li>- LTZ dpt digunakan untuk induksi ovulasi</li> </ul>
Mitwally & Casper <sup>9</sup>	Kanada	2001	Prospektif	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 12 unexplained infert. telah dapat gonadotropin</li> <li>- LTZ 2,5 mg/hr (hr 3-7)</li> <li>- FSH 50-225 IU/hr (hr 5-7)</li> <li>- hCG 10.000 IU (saat fol. ≥ 20 mm)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>LTZ → ↑ respon fol thdp FSH</li> <li>- dosis FSH &lt;</li> <li>- fol. matur lb byk</li> </ul>
Goswami <sup>15</sup>	India	2002	RCT	<ul style="list-style-type: none"> <li>38 ♀ respon buruk thd gonadotropin</li> <li>- 13 LTZ – FSH</li> <li>- 25 GnRH – FSH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Jml.fol.&amp; ketebalan endomet, pregnancy rate berbeda tidak bermakna</li> <li>- Dosis FSH &lt; pd LTZ – FSH</li> <li>- LTZ dpt digunakan pd wanita yg sebelumnya respon buruk thd gonadotropin</li> <li>- Biaya lebih murah</li> </ul>
Cortinez A <sup>16</sup>	Chile	2002	Prospektif	<ul style="list-style-type: none"> <li>8 ♀ infert. ovulatoar, 25-35 th</li> <li>- LTZ 5 mg/hr (hr 3-7) dibanding siklus alami</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Siklus LTZ ↑ kadar LH, A, T</li> <li>- Kadar FSH tdk berbeda</li> <li>- Kadar E2 pre ovulasi tdk berbeda</li> <li>- Kadar E2 dinyatakan berdasarkan jml tiap fol. matur → ↓ bermakna (50%)</li> </ul>
Healey S <sup>19</sup>	Kanada	2003	Prospektif	<ul style="list-style-type: none"> <li>8 ♀ infert. ovulatoar</li> <li>LTZ 2,5 mg/hr, CC 100 mg/hr</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♀ ovulatoar dgn respons tdk adekuat thd CC (endomet tipis) lebih baik diterapi dgn AI</li> </ul>
Julian <sup>17</sup>	Semarang	2008	RCT	<ul style="list-style-type: none"> <li>♀ infert, haid tdk teratur</li> <li>20 : LTZ 2,5 mg/hr</li> <li>20 : CC 50 mg/hr</li> <li>(hr 3-7)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- tdk terdpt perbedaan Ø, jml. fol. matur</li> <li>- tdk terdpt perbedaan ovulasi</li> </ul>

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Infertilitas**

Infertilitas adalah ketidakmampuan pasangan untuk menghasilkan konsepsi dalam 1 tahun hubungan seksual tanpa alat kontrasepsi<sup>18</sup>. WHO menggunakan terminologi infertilitas yang disusun oleh *The Scientific Groups on the Epidemiology of Infertility* menggunakan batasan dua tahun. Namun banyak ahli dan penelitian yang menganut batasan waktu satu tahun<sup>18,19</sup>. Pada penelitian ini kami menggunakan batasan waktu satu tahun.

Selanjutnya WHO membagi infertilitas menjadi:

**Infertilitas primer**, bila pasangan tidak pernah hamil meskipun telah berhubungan dan terpapar supaya hamil, tanpa menggunakan alat kontrasepsi selama dua tahun. Infertilitas primer disebut juga sebagai **sterilitas primer**.

**Infertilitas sekunder**, bila pasangan gagal hamil setelah kehamilan sebelumnya, meskipun telah terpapar supaya hamil (tanpa kontrasepsi, tanpa menyusui, atau amenorea post partum).

Penyebab utama infertilitas adalah kelainan ovulasi (15%), kelainan tuba dan peritoneum (30-40%), faktor pria (30-40%) dan sisanya adalah penyebab yang tidak diketahui. Prevalensi ini akan berubah pada masing-masing kelompok umur. Kelainan ovulasi lebih sering dijumpai pada wanita usia lebih muda dibandingkan wanita usia tua. Kelainan tuba dan peritoneum pada dua kelompok umur tersebut mempunyai angka prevalensi yang sama. Faktor pria dan infertilitas yang tidak diketahui penyebabnya akan sering dijumpai pada pasangan usia tua<sup>18</sup>.

Proses reproduksi manusia adalah hal yang kompleks. Sehingga untuk evaluasi pasangan infertilitas harus mencakup beberapa komponen dasar yaitu<sup>18</sup>.

1. Spermatozoa harus diletakkan pada atau dekat serviks, pada saat mendekati waktu ovulasi, mampu menuju *tuba fallopii* dan mempunyai kemampuan untuk membuahi oosit yang masak (faktor pria).
2. Pada setiap ovulasi harus dihasilkan 1 oosit yang masak secara teratur, siklik dan bisa diramalkan (faktor ovarium).
3. Serviks mampu untuk menangkap, memilih, menyimpan dan melepaskan spermatozoa ke dalam uterus dan *tuba fallopii* (faktor serviks).
4. *Tuba fallopii* harus dapat menangkap oosit yang masak dan dapat berfungsi dalam transportasi spermatozoa dan embrio (faktor *tuba fallopii*).
5. Uterus mampu untuk menerima implantasi embrio dan mampu mendukung pertumbuhan embrio secara normal (faktor uterus).

## **2.2 Folikulogenesis**

Selama usia reproduksi, struktur, komposisi dan aktifitas hormonal ovarium terus menerus berubah. Perubahan-perubahan ini berpengaruh terhadap peristiwa-peristiwa fisiologis dalam proses siklus menstruasi normal. Fase folikuler siklus menstruasi dapat dibagi menjadi 3 bagian fungsional selama folikulogenesis<sup>20,21</sup>.

### **2.2.1 Fase perekrutan**

Prosesnya dimulai pada saat kelompok folikel primordial direkrut untuk mulai tumbuh. Keberhasilan perekrutan menyebabkan folikel-folikel tumbuh

menjadi matang melalui beberapa tahap; folikel primer, sekunder (folikel pre antral), folikel tersier (folikel antral), dan folikel pre ovulatori (folikel Grafian).

### **2.2.2 Fase Seleksi dan dominasi**

Tidak semua folikel yang tumbuh mampu menjadi folikel dominan. Terdapat satu folikel yang tumbuh dan berkembang dengan baik sementara folikel-folikel lain yang tidak direkrut menjadi atresia.

### **2.2.3 Fase Ovulasi**

Terjadi pada saat folikel dominan ruptur dan mengeluarkan oosit atau kompleks kumulus. Pada wanita normal, folikulogenesis merupakan proses yang panjang. Dalam setiap siklus menstruasi, folikel dominan yang akan menovulasikan oositnya ke dalam tuba berasal dari folikel primordial yang direkrut kurang lebih satu tahun sebelumnya. Kronologi pertumbuhan dan perkembangan folikel dalam ovarium manusia normal dapat dibagi menjadi dua periode.

#### **2.2.3.1 Periode pre antral (tak tergantung FSH)**

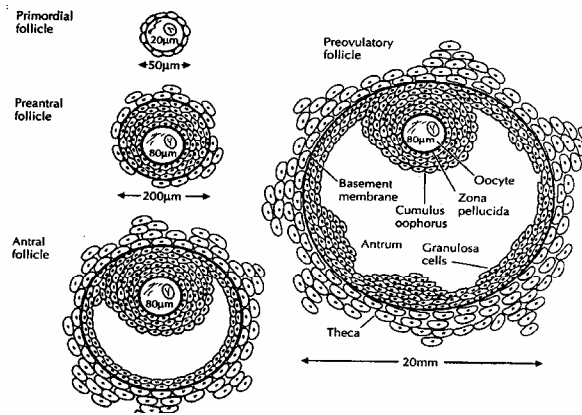
Mula-mula perekrutan folikel primordial berlangsung secara perlahan-lahan, membutuhkan 300 hari atau lebih untuk menyelesaikan periode antral. Dengan multiplikasi sel-sel kuboidal granulosa (rata-rata 15 sel), folikel primordial tumbuh menjadi folikel primer (tidak tergantung FSH). Lapisan granulosa terpisah dari sel-sel stroma melalui membran basal yang disebut lamina basal. Selanjutnya terjadi percepatan pertumbuhan folikel menuju ke stadium pre antral atau folikel sekunder

(kelas 1), oosit membesar dan dikelilingi oleh zona pelusida beberapa hari setelah ovulasi pada fase luteal awal. Sel-sel granulosa mengalami proliferasi berlapis-lapis membentuk lapisan teka. Terjadi produksi dan akumulasi cairan di dalam lapisan sel-sel granulosa yang menyebabkan terbentuknya sebuah kavitas folikuler yang disebut antrum. Pertumbuhan berlanjut hingga stadium antrum awal, atau tingkat folikel tersier awal (kelas 2), dua puluh lima hari kemudian di antara hari ke-11 dan ke-14 siklus haid berikutnya. Waktu yang dibutuhkan untuk masuk ke kelas berikutnya sekitar 5 hari. Oleh karena indeks mitosis yang lebih tinggi dari ovarium yang berovulasi, maka folikel membutuhkan kurang lebih 20 hari untuk melewati kelas 2 pada satu ovarium dan 25 hari untuk ovarium lainnya. Perbedaan ini menjelaskan *alternating-ovulation* pada ovarium kiri dan kanan<sup>22,23</sup>.

Pertumbuhan folikel pre antral ini tergantung pada gonadotropin dan berkorelasi dengan peningkatan produksi estrogen. Reseptor FSH tidak ditemukan pada sel-sel granulosa hingga stadium preantral. Folikel pre antral membutuhkan FSH untuk proses aromatisasi androgen dan menghasilkan lingkungan mikro yang estrogenik. Sel-sel granulosa folikel pre antral mampu mensintesis ketiga kelas dari steroid, namun lebih signifikan memproduksi estrogen daripada androgen lain atau progesteron. Estradiol adalah estrogen yang paling aktif yang dihasilkan oleh ovarium, disintesis dari androgen oleh enzim aromatase P450 yang terjadi di dalam mikrosom<sup>21</sup>.

FSH bekerja melalui sistem adenilat siklase dan protein G. FSH dengan estrogen secara sinergis akan meningkatkan proses mitogenik sel-sel granulosa untuk menstimulasi proliferasi sel-sel tersebut. FSH dan estrogen bekerja sama memacu akumulasi reseptor FSH. Adanya estrogen di dalam folikel menyebabkan folikel

berrespon terhadap kadar FSH yang relatif rendah, sebuah fungsi autokrin dari estrogen di dalam folikel.<sup>21</sup>

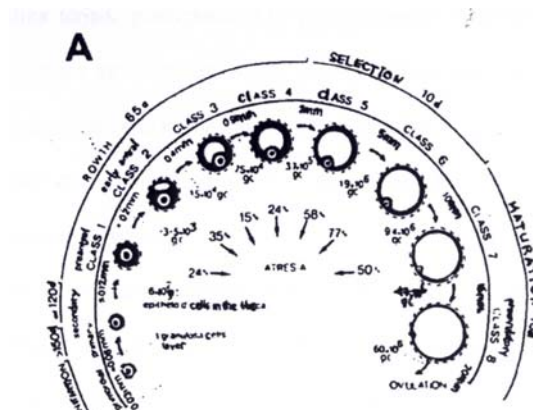


**Gambar 1.** Perubahan morfologi folikel selama pertumbuhan dan perkembangan. (Dikutip dari *Clinical Gynecology, Endocrinology and Infertility*, 2005)<sup>1</sup>

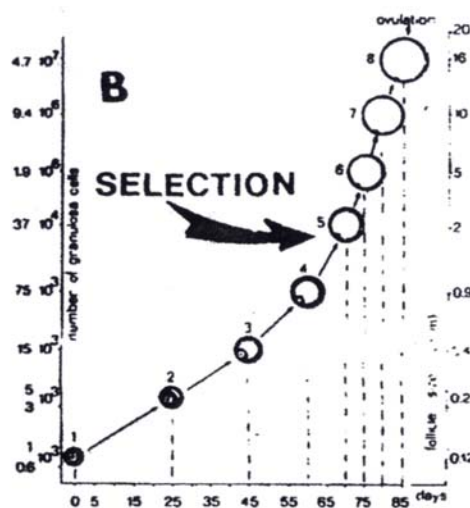
### 2.2.3.2 Periode antral (tergantung FSH)

Di bawah pengaruh FSH dan estrogen, akumulasi cairan di dalam lapisan sel-sel granulosa akan membentuk kavitas folikuler yang disebut antrum. Oosit dan bagian sel-sel granulosa yang mengelilinginya (sel-sel kumulus) secara bertahap bergeser ke salah satu sisi dari kavitas folikuler, terbentuklah folikel antral (folikel tersier). Kemudian terjadi akumulasi cairan folikel secara cepat dan pertumbuhan sel-sel granulosa yang menyebabkan folikel bertambah besar disebut folikel preovulatori atau folikel Graafian. Selama periode antral, folikel Graafian tumbuh melalui tahap-tahap ukuran dari yang kecil (kelas 3,4 dan 5), medium (kelas 6,7), besar (kelas 8). Folikel-folikel yang berhasil bertahan untuk ovulasi membutuhkan waktu sekitar 40-50 hari untuk menyelesaikan periode antral. Folikel-folikel berkembang secara simultan pada kedua ovarium. Folikel berada di kelas 3 (0,3-0,4 mm) selama 15 hari, kelas 4 (0,9-2,0 mm) selama 10 hari, kelas 5 (2-5 mm) selama 5 hari, kelas 6 (6-10

mm) selama 5 hari, kelas 7 (10-16 mm) selama 5 hari. Folikel secara acak masuk ke dalam kelas 5 pada fase luteal akhir. Folikel dominan yang terseleksi berasal dari folikel Graafian kecil (kelas 5)<sup>23</sup>. Proses seleksi terjadi pada fase awal folikuler dan selesai pada hari ke 5-6 siklus menstruasi<sup>25</sup>. Dibutuhkan waktu sekitar 20 hari bagi folikel dominan untuk menyempurnakan pertumbuhannya untuk memasuki stadium ovulasi. Folikel-folikel yang tidak terseleksi akan mengalami atresia, suatu proses yang disebut apoptosis, program kematian sel<sup>21, 24</sup>.



Gambar 2. Kronologi pertumbuhan dan perkembangan folikel dalam ovarium manusia (Dikutip dari *In vitro* maturation of Oocytes)<sup>24</sup>



Gambar 3. Waktu relatif yang diperlukan folikel Graafian untuk menyelesaikan periode antral (Dikutip dari *In vitro* maturation of Oocytes)<sup>24</sup>

Dengan adanya FSH, estrogen menjadi substansi yang dominan di dalam cairan folikuler. Sebaliknya bila tidak terdapat FSH, maka ditemukan androgen yang pre dominan. Normalnya LH tidak terdapat dalam cairan folikular. Hingga pertengahan siklus. Jika terjadi peningkatan LH yang prematur di dalam sirkulasi dan cairan antral, maka aktivitas mitotik sel-sel granulosa akan berkurang, terjadi perubahan degeneratif, dan kadar androgen intrafolikular meningkat.

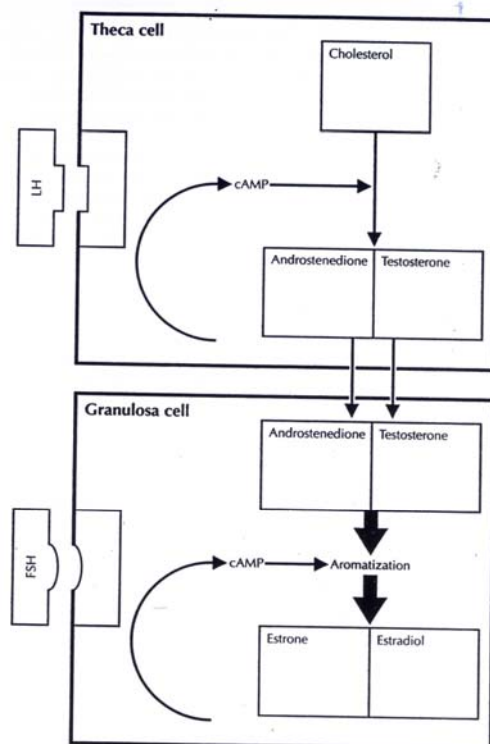
Sintesis hormon-hormon steroid terpisah secara fungsional di dalam folikel-  
*the two cell system*

***The two cell, two-gonadotropin system.*** Pada folikel pre antral dan antral manusia, reseptor LH hanya terdapat pada sel-sel teka dan reseptor FSH hanya terdapat pada sel-sel granulosa. Sel-sel teka interstisial terletak di dalam teka interna, mempunyai sekitar 20.000 reseptor LH di dalam membran sel. Sebagai respon terhadap LH, jaringan teka akan memproduksi androgen yang akan dirubah melalui aromatisasi yang diinduksi oleh FSH menjadi estrogen di dalam sel-sel granulosa.

Seiring dengan berkembangnya folikel, sel-sel teka mulai mengekspresikan gen-gen untuk reseptor LH, p450<sub>scc</sub>, dan *3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase*. Pengaturan secara terpisah (oleh LH), memasukkan kolesterol ke dalam mitokondria menggunakan internalisasi kolesterol-LDL, sebagai substansi esensial untuk steroidogenesis. Oleh karenanya, steroidogenesis ovarium tergantung pada LH hingga mencapai tingkat yang signifikan setelah ovulasi, yang diikuti luteinisasi dan vaskularisasi.

Sebuah folikel yang muncul akan mengekspresikan p450<sub>c17</sub>, suatu tahapan enzim yang membatasi perubahan substrat karbon-21 menjadi androgen. Sel-sel granulosa tidak mengekspresikan enzim ini, melainkan bergantung pada androgen

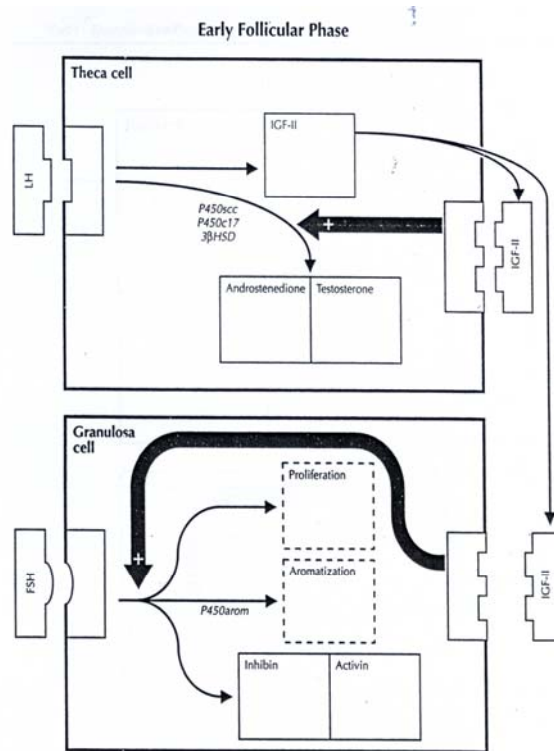
sel-sel teka yang digunakan untuk membuat estrogen. Meningkatnya ekspresi sistem aromatisasi (p450arom) merupakan marker bahwa terdapat peningkatan pematangan sel-sel granulosa. P450c17 hanya terdapat pada sel teka. Sedangkan p450arom hanya terdapat di dalam sel granulosa, yang secara impresif menegaskan *the two-cell, two gonadotropin* menerangkan tentang pembentukan estrogen (Gambar 4).



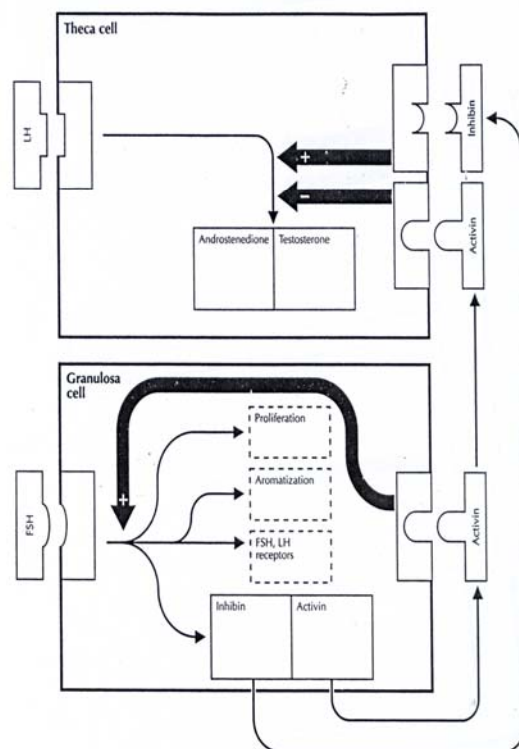
**Gambar 4.** The two-cell, two-gonadotropin system. (Dikutip dari *Clinical Gynecology, Endocrinology and Infertility*, 2005)<sup>21</sup>.

Proses seleksi menghasilkan 2 cara kerja estrogen: (1) interaksi lokal antara estrogen dan FSH, dan (2) efek estrogen terhadap sekresi FSH hipofisis anterior. Sementara estrogen akan memacu pengaruh positif FSH di dalam folikel yang matur, terjadi umpan balik negatif dengan FSH pada tingkat hipotalamus-hipofisis yang menyebabkan menurunnya gonadotropin dalam menyokong pematangan folikel-folikel lain yang kurang berkembang. Kadar FSH yang turun, menyebabkan menurunnya aktivitas aromatase, membatasi produksi estrogen dari folikel-folikel

yang tidak berkembang, proliferasi dan kerja sel-sel granulosa akan terhenti, berubah ke lingkungan mikro yang androgenik dan akan menginduksi atresia yang bersifat irreversible (Gambar 5 dan 6).

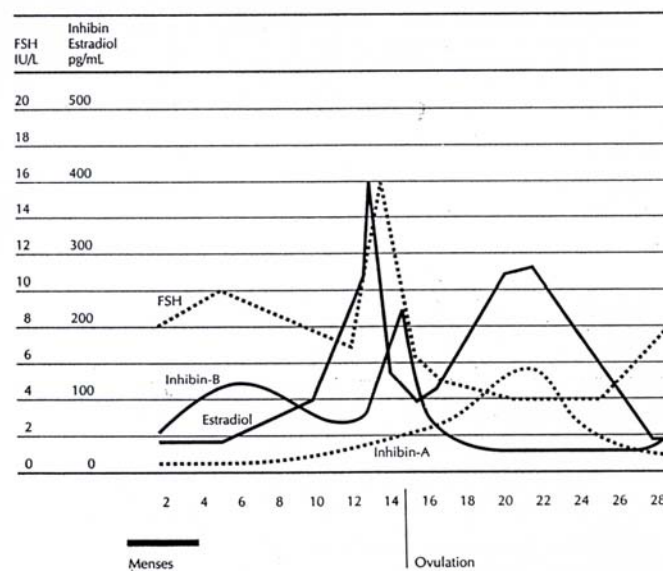


**Gambar 5.** Peran hormonal pada fase folikuler awal. (Dikutip dari *Clinical Gynecology, Endocrinology and Infertility*, 2005)<sup>21</sup>.



**Gambar 6.** Peran hormon dan peptide pada fase folikuler awal. (Dikutip dari *Clinical Gynecology, Endocrinology and Infertility*, 2005)<sup>21</sup>.

Menurunnya kadar FSH secara bertahap pada fase midfolikular, dan pertambahan diameter folikel merupakan tanda munculnya folikel dominan. Folikel dominan mempunyai 2 keuntungan yang signifikan yaitu, mempunyai reseptor FSH dalam jumlah besar yang dibutuhkan untuk proliferasi granulosa yang lebih dibandingkan folikel-folikel lain dan aktivitas FSH meningkat oleh karena konsentrasi estrogen intra folikular yang tinggi dan peptida-peptida lokal (inhibin B, activin, follistatin) yang berperan dalam sistem autokrin – parakrin.



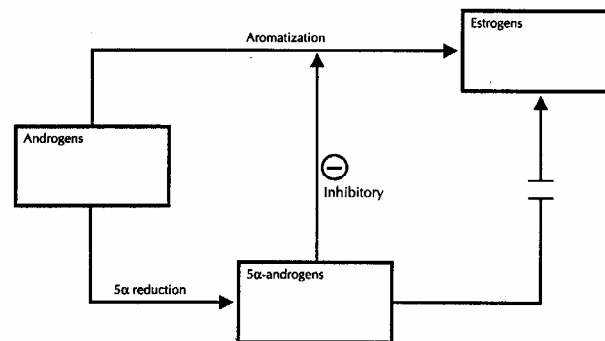
**Gambar 7.** Kadar hormon dan peptida pada siklus menstruasi. (Dikutip dari *Clinical Gynecology, Endocrinology and Infertility*, 2005)<sup>21</sup>.

Inhibin, activin dan follistatin disintesis dalam sel-sel granulosa sebagai respon terhadap FSH dan disekresikan ke dalam cairan folikel dan vena-vena ovarium. Inhibin merupakan inhibitor penting sekresi FSH, activin menstimulasi pelepasan FSH dan memperkuat kerja FSH di ovarium. Pada fase folikular awal, activin yang dihasilkan oleh folikel immatur meningkatkan kerja FSH di dalam proses aromatse dan pembentukan reseptor-reseptor FSH dan LH, yang secara simultan menekan sintesis androgen tekal. Pada fase folikular akhir terjadi

peningkatan produksi inhibin (khususnya inhib-B) oleh granulosa dan penurunan aktivin yang akan meningkat sintesis androgen di teka sebagai respon terhadap LH dan IGF-II untuk menyediakan substrat pembentuk estrogen di dalam granulosa. Pada granulosa matur dari folikel dominan, aktivin akan mencegah luteinisasi prematur dan produksi progesteron. Follistatin berperan dalam menghambat aktivin dan meningkatkan aktivitas inhibin. *Insulin-like growth factors* (sebelumnya disebut juga somatomedins) merupakan peptida-peptida yang memiliki struktur dan fungsi menyerupai insulin dan sebagai perantara kerja *growth hormone*. IGF-I dan II, disintesis atau diekskresikan di sel-sel granulosa dan sel-sel teka. IGF-I menstimulasi peristiwa-peristiwa di dalam sel-sel granulosa dan sel-sel teka ovarium seperti sintesis DNA, steroidogenesis, aktivitas aromatase, sintesis reseptor LH, dan sekresi inhibin. IGF-II menstimulasi mitosis sel-sel granulosa. Di dalam sel-sel ovarium manusia IGF-I bekerja sinergi dengan FSH, menstimulasi sintesis protein dan steroidogenesis. Setelah reseptor LH terbentuk IGF-I meningkatkan kerja LH dalam menginduksi sintesis progesteron dan menstimulasi proliferasi sel-sel granulosa-luteal. IGF-I dapat berperan baik dalam sintesis estradiol maupun progesteron. CRH (*corticotropin releasing hormone*) menghambat stimulasi LH di sel-sel teka dalam produksi androgen dengan menghambat ekspresi gen P450c.

Banyak teori yang mengemukakan peran androgen pada folikulogenesis awal. Sel reseptor androgen terdapat di sel granulosa. Androgen tidak hanya berperan sebagai substrat FSH yang dapat menginduksi proses aromatisasi, namun pada konsentrasi rendah dapat memperkuat proses aktivitas enzim aromatase. Bila sel granulosa pada stadium folikel preantral terpapar pada lingkungan yang kaya androgen maka akan lebih banyak androgen yang menjadi  $5\alpha$ -androgen daripada menjadi estrogen.  $5\alpha$ -androgen tidak dapat diubah menjadi estrogen dan dapat

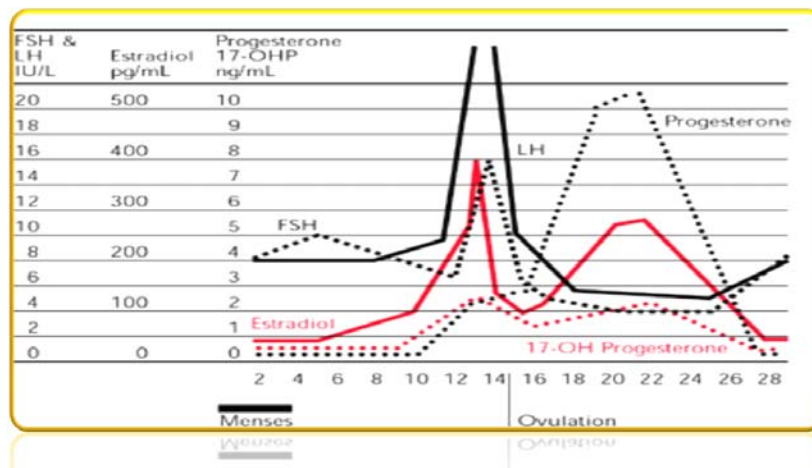
menghambat aktivitas aromatase (gambar 8), sehingga tidak terjadi peningkatan estrogen dini yang dapat memberikan umpan balik negatif kepada FSH yang selanjutnya tidak mengganggu pertumbuhan folikel. Selain itu  $5\alpha$ -androgen juga menghambat induksi FSH dalam pembentukan reseptor LH yang selanjutnya berperan dalam perkembangan folikel<sup>20-24</sup>.



**Gambar 8.** Proses perubahan androgen menjadi estrogen dan  $5\alpha$ -androgen. (Dikutip dari *Clinical Gynecologic, Endocrinology and Infertility*, 2005)<sup>21</sup>.

Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan antara pola pertumbuhan folikel dengan pola endokrin. Beberapa peneliti menyebutkan bahwa peningkatan diameter dan volume folikel sesuai dengan peningkatan estrogen. Sekitar 80% dari 500  $\mu$ g estrogen diproduksi oleh folikel dominan tiap hari sebelum ovulasi terjadi. Peningkatan kadar estrogen yang cepat dikombinasi dengan peningkatan progesteron yang dihasilkan oleh folikel dominan memberikan sinyal pada sumbu hipotalamus-hipofise bahwa folikel siap untuk ovulasi. Pada saat kadar estradiol 200 pg/ml atau lebih selama 2 hari akan terjadi stimulasi sekresi LH. Peningkatan progesteron sebelum ovulasi tampaknya juga berperan dalam merangsang pelepasan LH. Lonjakan LH yang terjadi pada pertengahan siklus memulai proses ovulasi. Sesudah oosit keluar, cairan folikel menjadi berkurang, dinding folikel menjadi berkerut, diameter dan volume folikel berkurang. Sel granulosa dan sel teka kemudian

mengalami luteinisasi. Dengan pengaruh LH, corpus luteum mensekresi progesteron 20  $\mu\text{g}/24$  jam, selain itu juga mensekresi estradiol. Kadar progesteron meningkat sesudah ovulasi dan menetap sekitar 1 minggu, setelah itu akan menurun jika tidak terjadi kehamilan. Progesteron dan estrogen memberikan umpan balik negatif terhadap sekresi FSH dan LH. Produksi estrogen oleh corpus luteum memberikan efek luteolitik. Ketika luteolisis terjadi, kadar progesteron dan estrogen menurun maka hambatan umpan balik berkurang sehingga kadar FSH meningkat kembali sebelum terjadi menstruasi untuk merangsang pertumbuhan folikel pada siklus berikutnya<sup>21</sup>. Gambaran profil hormonal FSH, LH, Estradiol ( $E_2$ ) dan Progesteron (P) pada siklus menstruasi natural dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Profil hormon FSH, LH,  $E_2$  dan P pada siklus menstruasi natural. (Dikutip dari *Clinical Gynecologic, Endocrinology and Infertility*, 2005)<sup>21</sup>.

### 2.3 Diagnosis terjadinya ovulasi

Beberapa tehnik pemeriksaan dapat digunakan untuk mengetahui apakah terjadi ovulasi atau tidak. Baik secara langsung maupun tidak, dasar dari pemeriksaan tersebut adalah perubahan hormonal yang terjadi selama siklus haid. Setiap pemeriksaan berguna dan tidak ada satu pun pemeriksaan yang paling baik. Karena tidak ada satupun pemeriksaan yang dapat membuktikan ovulasi benar-benar terjadi. Hanya kehamilan yang dapat membuktikan bahwa siklus haid sebelumnya terjadi ovulasi. Beberapa tehnik pemeriksaan ini digunakan sesuai dengan kebutuhan penderita. Kebanyakan pemeriksaan ini digunakan dalam menilai efektifitas terapi induksi ovulasi<sup>18</sup>.

Wanita yang mengalami keadaan anovulasi biasanya mengalami siklus menstruasi yang tidak teratur, tidak bisa diramalkan. Namun kenyataan tersebut tidak dianjurkan untuk menegakkan diagnosis anovulasi. Pemeriksaan lain yang lebih akurat adalah suhu basal badan dan monitor sekresi LH urin. Cara lain adalah pengukuran progesteron pada pertengahan fase luteal, biopsi endometrium pada 2 hari sebelum perkiraan menstruasi dan tranvaginal sonography (TVS)<sup>18</sup>.

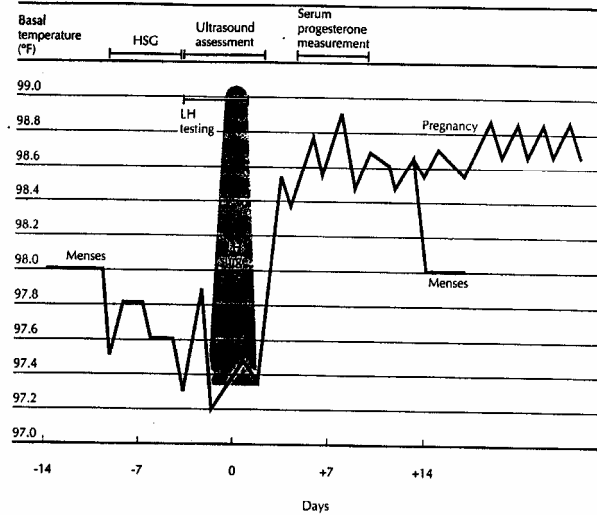
Suhu basal badan (SBB) merupakan tehnik pemeriksaan yang paling sering dilakukan. Tehnik pemeriksaan ini lebih murah dan sederhana bila dibandingkan dengan pemeriksaan lain<sup>18</sup>. Namun pemeriksaan ini tidak *reliable* dan menyebabkan kejenuhan penderita.

Pemeriksaan kadar progesteron serum merupakan tehnik pemeriksaan yang dapat dipercaya, namun sulit untuk menentukan kapan waktu yang tepat untuk mengukurnya, terutama pada wanita dengan siklus haid tidak teratur. Idealnya, pemeriksaan ini dilakukan pada saat 1 minggu setelah ovulasi dan 1 minggu sebelum

perkiraan menstruasi, dimana pada saat tersebut progesteron mencapai kadar puncaknya. Pada fase folikuler kadar progesteron dibawah 1 ng/mL dan meningkat sedikit pada saat peningkatan tajam LH (1–2 ng/mL) dan akan mencapai puncak setelah 7–8 hari setelah ovulasi (3 ng/mL) . Kadar progesteron serum < 3 ng/ml sesuai dengan tingkat fase folikuler. Untuk memastikan adanya ovulasi, pada fase midluteal (yaitu waktu pertengahan antara ovulasi dan saat mulainya periode menstruasi berikutnya) nilainya haruslah sekurang-kurangnya 6,5 ng/ml dan sebaiknya 10 ng/ml atau lebih. Pemeriksaan ini dapat mengetahui adanya ovulasi namun tidak dapat mengetahui hari keberapa terjadinya ovulasi. Berdasarkan kesepakatan para ahli, kadar progesteron fase midluteal dari satu kali pemeriksaan saja, tidak cukup kuat untuk membuktikan adekuatnya fase luteal<sup>18</sup>. Berbagai metode untuk mengetahui terjadinya untuk diperlihatkan pada Gambar 10. Penelitian ini menggunakan pemeriksaan TVS serial setiap selang satu hari sejak hari ke-12 sampai tidak lagi ditemukannya folikel matur, untuk mengetahui adanya ovulasi dan hari keberapa terjadinya ovulasi.

Pemeriksaan LH urin paling baik dilakukan untuk pasangan yang menjalani senggama yang tidak teratur, sedang menjalani program inseminasi buatan dan membuktikan adanya ovulasi dari pemeriksaan lain yaitu riwayat menstruasi yang tidak teratur, SBB dan kadar progesteron serum. LH yang terdapat dalam urin akan terjadi dalam waktu singkat, yaitu 2 hari setelah peningkatan tajam LH. Oleh karena itu pemeriksaan ini sebaiknya dilakukan 2–3 hari sebelum perkiraan ovulasi. Hasil pemeriksaan ini dipengaruhi oleh banyaknya air yang diminum penderita dan kapan waktu dilakukannya. Peningkatan tajam LH sering terjadi di pagi hari dan LH tidak dapat dideteksi di urin dalam beberapa jam kemudian<sup>18</sup>. Pemeriksaan LH serum pagi hari lebih stabil karena tidak begitu dipengaruhi oleh jumlah asupan

makanan/minuman. Penelitian ini menggunakan pemeriksaan LH dari serum dan pasangan subjek yang menjalani senggama secara teratur.



**Gambar 10.** Metode pemeriksaan terjadinya ovulasi (dikutip dari *Clinical Gynecologic, Endocrinology and Infertility*, 2005)<sup>18</sup>.

#### 2.4 Infertilitas tak terjelaskan (*Unexplained infertility*)

Diagnosis infertilitas tak terjelaskan ditegakkan jika pemeriksaan standar terhadap faktor infertilitas didapatkan hasil yang normal. Insidensnya bervariasi (tergantung kriteria diagnosis) antara 10% hingga 30%, di antara populasi infertil. Sekurang-kurangnya, diagnosis infertilitas tak terjelaskan terdiri dari normalnya nilai analisa semen, adanya bukti objektif terjadinya ovulasi, kavum uteri yang normal, dan patensi kedua tuba<sup>18</sup>. Perlunya laparoskopi diagnostik untuk memeriksa infertilitas tak terjelaskan, masih kontroversial<sup>18</sup>.

Pengelolaan bersifat empirik. Pengelolaan yang dianjurkan adalah: inseminasi intra uterin / *intra uterine insemination* (IUI), stimulasi ovarium untuk mencapai superovulasi lebih dari satu ovum, superovulasi digabungkan dengan IUI, dan teknologi reproduksi berbantu (TRB) / *in vitro fertilization* (IVF).

## **2.5 Peran TVS dalam memantau perkembangan folikel**

### **2.5.1 Gambaran folikel**

Pemeriksaan USG transvaginal / transvaginal sonografi (TVS) tidak dapat untuk mendeteksi kelainan ovulasi. Namun karena TVS mampu untuk mengukur dan mengetahui jumlah folikel preovulasi sehingga dapat diperkirakan kapan ovulasi akan terjadi. Menjelang akhir pertumbuhannya, folikel preovulasi akan tumbuh dengan ukuran 2 mm/hari (rata-rata 1-3 mm/hari) <sup>19,25,26</sup>. TVS sering digunakan untuk memantau pertumbuhan folikel pada induksi ovulasi. Bila ditemukan ukuran folikel  $\geq 18$  mm pada fase folikuler akhir, diharapkan pada saat folikel mencapai 20 mm maka folikel tersebut dapat ruptur dan terjadi ovulasi.

Pada siklus normal, dengan adanya pelepasan hormon FSH pada fase sekresi akhir, maka akan menghasilkan satu atau dua folikel. Pada folikel matur maka akan banyak cairan yang mengisi intrafolikel dan jumlah sel granulosa yang membatasi dinding dalam folikel akan bertambah banyak. Oosit yang ukurannya  $<0,1$  mm akan dilingkupi oleh sekelompok sel granulosa. Kompleks tersebut disebut kumulus oophorus. Ukurannya mencapai 1 mm dan kadang dapat dideteksi dalam folikel matur. Pada folikel matur, ukuran bagian dalamnya mencapai 18–25 mm. Ukuran ini akan relatif sama pada setiap siklusnya. Tampak pula internal echo pada folikel matur yang kemungkinan berasal dari sel granulosa yang terlepas dari dinding pada saat mendekati ovulasi<sup>27</sup>.

Pasien yang mendapat induksi ovulasi biasanya akan diperiksa dengan pemeriksaan TVS mulai hari ke-10 siklus haid. Perkembangan folikel yang nampak pada induksi ovulasi akan berbeda bila dibandingkan dengan siklus normal. Ukuran folikel terbesar yang didapat pada satu hari akan berbeda dengan ukuran folikel terbesar yang diukur 2 hari kemudian. Ukuran folikel preovulasi yang terbesar adalah

19–24 mm. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya bahwa folikel yang matur akan menunjukkan tanda intrafolikel ekogenik. Pada satu penelitian dengan sampel wanita yang mengalami induksi ovulasi, angka keberhasilan kehamilan paling besar terjadi pada wanita dengan gambaran TVS intrafolikel ekogenik<sup>26</sup>.

TVS juga berperan untuk menurunkan angka kejadian hiperstimulasi ovarium. Gambaran TVS yang didapatkan adalah adanya banyak folikel besar dengan ukuran lebih dari 15 mm dan juga banyak terdapat folikel berukuran kecil sampai sedang<sup>27</sup>. Kelainan pertumbuhan folikel juga dapat diamati dengan TVS. Sindrom ovarium polikistik merupakan salah satu penyebab anovulasi dan amenore. Pemeriksaan TVS penting untuk mendeteksi kelainan ini karena pada penderita ini cenderung sensitif terhadap stimulasi gonadotropin dan mudah mengalami hiperstimulasi, sehingga sangat berbahaya bila diberikan induksi ovulasi. Pada pemeriksaan TVS akan didapatkan pembesaran ovarium dengan volume >12 ml dengan jumlah folikel >10 dan berukuran 2-10 mm<sup>27</sup>.

Selain itu TVS juga berperan dalam menurunkan angka kejadian kehamilan ganda pada induksi ovulasi. Angka kejadian kehamilan ganda akan terjadi lebih besar bila dijumpai adanya folikel matang lebih dari 2 atau 3 bila dibandingkan adanya folikel matang berjumlah lebih dari 4. Faktor–faktor yang dapat mempengaruhi gambaran folikel pada induksi ovulasi adalah sindrom polikistik ovarii dan terapi hormonal<sup>13,26-30</sup>.

## **2.6 Induksi ovulasi dan superovulasi**

Induksi ovulasi adalah pemberian berbagai jenis obat untuk mempengaruhi keadaan hormonal sehingga dapat menyebabkan keadaan hiperstimulasi ovarium yang terkontrol untuk memacu kesinambungan perkembangan folikel dari

sekumpulan folikel primordial sehingga bisa mencapai ovulasi<sup>31</sup>. Sedangkan superovulasi merupakan usaha untuk melakukan stimulasi ovarium pada wanita infertil ovulatoar untuk mendapatkan lebih dari satu folikel matur. Namun sejak dilaporkannya letrozole dapat digunakan sebagai induksi ovulasi mau pun superovulasi dengan menghasilkan folikel matur tunggal, harapan untuk munculnya satu folikel dominan semakin meningkat.

Perkembangan folikel antral yang kecil menjadi siap untuk berovulasi melibatkan konsep FSH *threshold* dan FSH *window*. FSH *threshold* menyatakan bahwa kadar FSH dalam sirkulasi harus mampu untuk memulai perkembangan folikel antral. Dan FSH *window* menyatakan bahwa durasi sinyal kerja dari FSH tersebut harus singkat karena ovarium yang mensekresi estradiol dan inhibin B harus mampu menurunkan kadar FSH melalui mekanisme umpan balik negatif, sehingga didapatkan 1 folikel dominan yang berovulasi. Seperti telah diterangkan sebelumnya bahwa folikel ovarium sensitif terhadap FSH sehingga tumbuh menjadi besar, dan 1 folikel yang paling besar akan mengalami ovulasi pada keadaan dimana FSH mulai turun. Karena folikel yang paling besar tersebut akan mendapat reseptor LH pada saat ukuran diameternya >13 mm, sehingga kemudian pertumbuhan dan perkembangan folikel yang matur tersebut lebih dibawah kendali LH daripada FSH. Konsep merangsang FSH *threshold* dan memperlebar FSH *window* yang digunakan oleh obat induksi ovulasi dengan cara merangsang sinyal FSH endogen, memberikan FSH eksogen atau kombinasi keduanya<sup>10</sup>.

Macam obat induksi ovulasi adalah<sup>31,32</sup> :

1. Obat yang dapat meningkatkan FSH endogen. Macamnya yaitu CC dan Aromatase inhibitor.
2. Hormon GnRH yang menyebabkan perangsangan sentral untuk sekresi FSH dan LH dari pituitari.
3. Hormon FSH dan LH eksogen yang merangsang ovarium secara langsung.

Indikasi lain pemberian obat induksi ovulasi adalah infertilitas yang tak terjelaskan (*unexplained infertility*). Hal ini merupakan terapi empirik, dan bila tidak berhasil dilanjutkan dengan inseminasi atau *invitro fertilisation* (IVF)<sup>31,32</sup> .

### **2.6.1 Clomiphene Citrate (CC)**

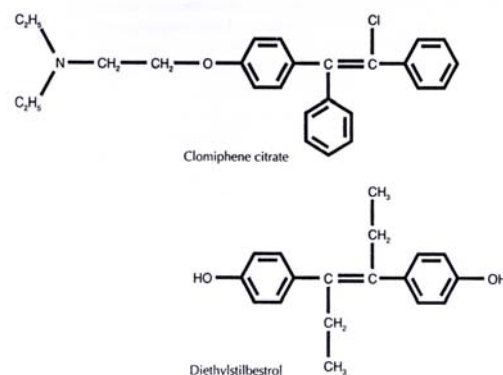
Pertama kali obat ini disintesis pada tahun 1956, mulai digunakan pada percobaan klinik tahun 1960 dan mulai disetujui penggunaannya di Amerika Serikat tahun 1967<sup>33,34</sup> .

#### **2.6.1.1 Farmakologi CC**

CC merupakan turunan dari *triphenylethylene* golongan nonsteroid dengan efek agonis dan antagonis estrogen. Pada sebagian besar keadaan, CC mempunyai efek antagonis atau anti estrogen saja dan hanya berefek estrogen lemah terutama saat kadar estrogen endogen sangat rendah. CC terdiri dari 2 campuran stereoisomer yang berbeda yaitu enclomiphene (juga dikenal sebagai cis-clomiphene) dan zuclomiphene (juga dikenal sebagai trans-clomiphene), dimana zuclomiphene berisi 38% dari keseluruhan massa obat. Enclomiphene merupakan isomer yang lebih poten

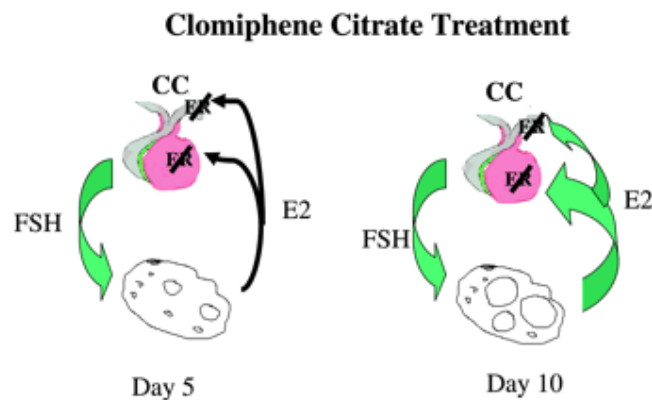
dan berperan dalam aksi induksi ovulasi. Paruh waktu enclomiphene lebih pendek, sehingga kadarnya dalam darah cepat mencapai kadar yang tinggi dan segera turun selama dan setelah terapi. Zuclomiphene akan diekskresikan dalam waktu relatif lebih lama, sehingga kadarnya masih didapatkan di dalam darah dalam 1 bulan setelah pemberian<sup>18,30</sup>. Sebuah penelitian melaporkan bahwa variasi kadar zuclomiphene yang berbeda-beda dari masing-masing individu bertanggung jawab terhadap respon terapi<sup>31</sup>. CC didegradasi di dalam hepar dan dikeluarkan melalui feses. Kurang lebih 85% diantaranya mengalami eliminasi dalam seminggu tapi sisanya dapat berada di sirkulasi dalam waktu lebih lama<sup>18</sup>.

Karena struktur kimianya yang mirip dengan estrogen (Gambar 11), CC berikatan dengan reseptor estrogen di nukleus pada sistem reproduksi. Namun tidak seperti estrogen, CC dapat terikat pada reseptor estrogen dalam waktu yang lama. Akibatnya maka hipotalamus akan menangkap sinyal yang salah mengenai kadar estrogen yang beredar di dalam darah, dimana kadar estrogen dipersepsikan lebih rendah daripada kadar sebenarnya. Keadaan ini dianggap oleh hipotalamus sebagai umpan balik positif, sehingga kemudian disekresikan hormon GnRH, yang selanjutnya merangsang pengeluaran FSH. Dan hasil akhirnya adalah pembentukan folikel matur di ovarium<sup>35</sup>.



**Gambar 11.** Struktur kimia CC dan Diethylstilbestrol (DES). (Dikutip dari *Clinical Gynecologic, Endocrinology and Infertility*, 2005)<sup>21</sup>.

Selama pemberian CC kadar FSH dan LH akan meningkat dan mengalami penurunan setelah selesainya 1 siklus terapi yaitu selama 5 hari pemberian obat. Akan dihasilkan satu atau lebih folikel matang (Gambar 12). Kadar estrogen yang tinggi akan merangsang lonjakan LH yang dapat menimbulkan ovulasi<sup>36</sup>.



**Gambar 12.** Pengaruh pemberian CC. Pemberian pada siklus haid hari ke-3 sampai 7 akan menyebabkan hambatan kompetitif reseptor estrogen pada tingkat hipofisis dan hipotalamus. (Dikutip dari *Fertility and Sterility* 80:2003)<sup>36</sup>.

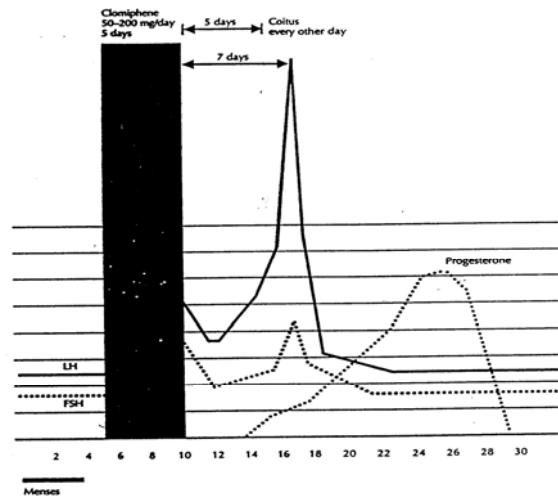
### 2.6.1.2 Pengaruh CC terhadap pembentukan dan pertumbuhan folikel

CC akan menyebabkan hambatan kompetitif reseptor estrogen secara sentral dalam kurun waktu yang cukup lama. Dengan masa paruh lebih dari 2 minggu, menghasilkan akumulasi zuclomiphene pada siklus berikutnya. Akibatnya kadar estrogen yang tinggi tidak mampu mengembalikan umpan balik negatif secara normal, sehingga sering terjadi pematangan folikel dominan multipel dan kehamilan ganda dengan CC<sup>32,34</sup>. Terapi CC akan menyebabkan kadar estrogen yang tinggi sehingga diduga dapat mengganggu perkembangan embrio<sup>36</sup>.

### 2.6.1.3 Protokol pemberian CC

CC diberikan secara oral dimulai pada hari ke-3 siklus haid selama 5 hari. Namun sebagian ahli memberikan CC mulai hari ke-5 siklus untuk menghindari terjadinya stimulasi dini yang akan mengakibatkan terjadinya folikel matur multiple dan meningkatkan kejadian kehamilan ganda<sup>32</sup>. Pada pasien amenorrhea, pemberian CC dapat segera dimulai setelah dapat disingkirkan adanya kehamilan. Dosis dimulai dengan pemberian awal 50 mg per hari selama 5 hari dan dapat ditingkatkan 50 mg setiap siklus sampai tercapai ovulasi<sup>29,31</sup>. Dosis maksimal 150–200 mg, namun sebenarnya hal tersebut tidak disetujui oleh *Food and drug administration*, meskipun ada penelitian yang berhasil mencapai ovulasi pada dosis tersebut (150 mg, 12%; 200 mg, 7%, 250 mg 5%). Sehingga disimpulkan cukup aman pemberian dosis maksimal 150 mg<sup>32</sup>.

Monitoring setelah pemberian adalah suhu basal badan dan kadar LH urin. Kadar lonjakan LH biasanya terjadi setelah 5–12 hari setelah pemberian terapi terakhir. Dengan pemeriksaan USG transvaginal secara serial dapat diukur jumlah dan besar folikel, sehingga dapat diperkirakan apakah terjadi ovulasi<sup>27</sup>. Pada protokol pemberian CC mulai hari ke-5, lonjakan hormon gonadotropin dapat terjadi setiap saat sejak 5 sampai 12 hari setelah pemberian CC yang terakhir, biasanya terjadi pada hari ke-16 atau 17 (Gambar 13)<sup>32</sup>.



**Gambar 13.** Profil hormonal setelah pemberian CC 50-200 mg/hari selama 5 hari mulai hari ke-5 siklus menstruasi. (Dikutip dari *Clinical Gynecologic, Endocrinology and Infertility 7th ed.*;2005)<sup>32</sup>.

#### 2.6.1.4 Angka keberhasilan CC

CC dapat menginduksi ovulasi pada 80% pengguna obat. Yang dapat mencapai kehamilan adalah 15%<sup>32</sup>. Penelitian lain menunjukkan angka keberhasilan ovulasi dan kehamilan sebesar 60–80% dan 50%<sup>36</sup>. Dari kompilasi keseluruhan keberhasilan induksi ovulasi didapatkan ovulasi 73% dan kehamilan 36%<sup>35</sup>. Angka keberhasilan kehamilan yang rendah tersebut disebabkan karena akibat antagonis CC (khususnya pada lapisan endometrium dan lendir serviks) sehingga mempengaruhi implantasi<sup>37</sup>. Rendahnya angka kehamilan juga disebabkan karena CC akan menyebabkan peningkatan LH prematur, terutama pada penderita sindrom ovarium polikistik<sup>38</sup>. Monitor selama pemberian CC diperlukan pemeriksaan USG yang dapat mengetahui pembesaran folikel dan ketebalan endometrium pada hari ke 12-14<sup>19</sup>.

Pada satu penelitian dengan jumlah 994 wanita pemakai CC, didapatkan angka kehamilan klinis 5,5% dan angka kehamilan ganda 22% (12 dari 55 kehamilan)<sup>37</sup>. Beberapa peneliti mendapatkan angka kehamilan ganda 8–13%<sup>44</sup>. Sebuah penelitian yang membandingkan angka kehamilan dan kehamilan ganda pada kelompok letrozole dan CC, didapatkan angka 5,5% kehamilan dan 2% kehamilan

ganda pada kelompok CC dan 13,8% kehamilan dan hanya satu kehamilan ganda pada kelompok letrozole<sup>32</sup>.

Angka abortus didapatkan 20% pada sebuah penelitian. Angka ini sedikit lebih tinggi bila dibandingkan pada angka abortus pada kehamilan normal, yaitu 15–20%<sup>32</sup>. Meski masih banyak perdebatan mengenai hal tersebut, namun hal tersebut diduga karena konsentrasi LH yang tinggi pada pertengahan siklus. Sebuah penelitian menunjukkan kadar LH lebih tinggi pada abortus dengan induksi ovulasi CC dibandingkan pada kehamilan normal<sup>35</sup>. Sehingga kemudian disimpulkan bahwa kadar LH yang sangat tinggi akan menyebabkan pematangan folikel prematur dan folikel sukar untuk ditembus oleh spermatozoa dan jika berhasil dibuahi akan menyebabkan mudah mengalami abortus<sup>35</sup>. Juga diduga angka abortus lebih tinggi pada pemberian CC dibandingkan dengan letrozole<sup>38</sup>.

#### **2.6.1.5 Efek samping CC**

Yang paling sering dikeluhkan adalah wajah terasa terbakar, perubahan *mood* atau perasaan, nyeri payudara, nyeri pelvik ringan, mual. Gangguan penglihatan terjadi pada 2% pengguna obat dan bersifat reversibel, umumnya tidak memerlukan pengobatan khusus. Jarang terjadi komplikasi serius<sup>32</sup>.

#### **2.6.2 Aromatase Inhibitor**

Aromatase adalah anggota keluarga besar kompleks enzim yang mengandung hemoprotein cytochrom P450. Ia mempercepat proses akhir pembentukan estrogen (E), yaitu proses hidroksilasi androstenedion (A) menjadi estron dan testosteron (T) menjadi estradiol (Gambar 14). Aktivitasnya dapat dijumpai pada ovarium, jaringan lemak, plasenta, otak, otot, fibroblast,

osteoblast, hepar dan payudara. Telah bertahun-tahun aromatase inhibitor digunakan sebagai terapi utama kanker payudara.

Aromatase inhibitor dapat berupa inhibitor steroidal atau non steroidal. Inhibitor steroidal merupakan derivat androstenedion yang bekerja sebagai substrat palsu, berikatan secara irreversibel pada tempat terikatnya androgen.

Generasi pertama aromatase inhibitor adalah Aminoglutetimide, suatu inhibitor steroidal non spesifik yang dapat menyebabkan adrenektomi medisinalis. Efek samping sediaan ini adalah lethargi, nausea, *skin rash*, dan demam.

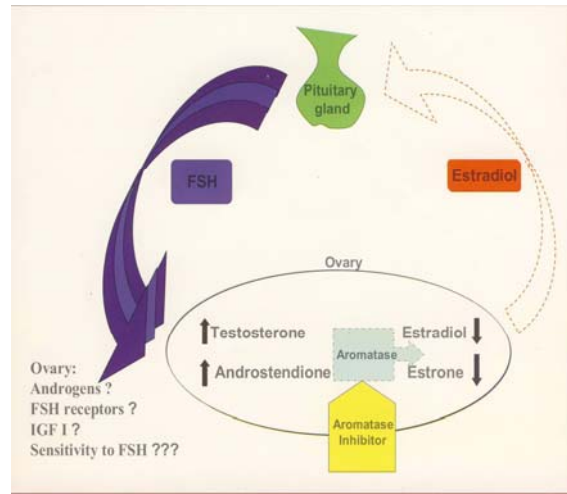
Generasi kedua adalah Formestane, lebih selektif dan lebih sedikit efek sampingnya, namun harus diberikan secara intra muskular. Banyak pasien yang mengalami reaksi lokal akibat penyuntikan sediaan ini.

Generasi ketiga terdiri dari dua inhibitor nonsteroidal, yaitu anastrozole dan letrozole serta satu agen steroidal, yaitu Exemestane. Anastrozole dan letrozole bersifat selektif. Mereka bersifat reversibel dan berpotensi kuat. Potensi intrinsiknya diduga lebih besar dari pada aminoglutethimide. Pada dosis 1-5 mg dapat menurunkan kadar estrogen 97-99%<sup>3</sup>.

Letrozole dan anastrozole diabsorpsi sempurna setelah pemberian per oral dengan waktu paruh sekitar 45 jam (rata-rata 30-60 jam) Bersihannya dari sirkulasi sistemik terutama melalui hepar. Efek sampingnya berupa gangguan pencernaan, asthenia, *hot flushes*, sakit kepala dan nyeri punggung.

Karena efek sampingnya yang tinggi, maka aromatase inhibitor generasi pertama dan kedua dinilai telah gagal sebagai terapi induksi ovulasi dan tidak lagi dipakai untuk maksud tersebut. Dibanding anastrozole, letrozole potensinya lebih tinggi, bersifat kompetitif dan reversibel<sup>36,39,40</sup>. Sehingga letrozole lebih banyak

dipakai untuk induksi ovulasi atau pun untuk hiperstimulai ovarium terkontrol. Demikian juga alasan penggunaan letrozole pada penelitian ini.



**Gambar 14.** Pengaruh pemberian aromatase inhibitor terhadap profil hormonal. Dikutip dari Holzer H, Casper RF, Tulandi Togas. A new era in ovulation induction. *Fertil Steril* 2006; 85: 277-83<sup>3</sup>.

### 2.6.2.1 Letrozole

Merupakan golongan penghambat aromatase generasi ke-3 non steroid. Pertama kali diperkenalkan sebagai pengobatan kanker payudara pada tahun 1997<sup>41</sup>. Kemudian pada tahun 2001 FDA menyetujui penggunaan letrozole sebagai terapi lini pertama keganasan payudara wanita pascamenopause. Dengan menghambat aktivitas aromatase maka akan terjadi penurunan massa tumor dan produksi estrogen secara sistemik dengan cara menghambat perubahan androgen menjadi estrogen.

Beberapa penelitian menyatakan penggunaan letrozole sebagai induksi ovulasi tunggal atau dikombinasikan dengan FSH eksogen pada wanita yang menderita oligoanovulasi kronik atau yang mengalami ovulasi spontan<sup>2-4,42,46,48</sup>. Meskipun masih sedikit penelitian yang mendukung penggunaan penghambat

aromatase sebagai induksi ovulasi, namun obat ini pernah dinyatakan sebagai obat pilihan pertama sebagai induksi ovulasi dibandingkan CC. Efikasi letrozole sebagai induksi ovulasi masih memerlukan penelitian lebih lanjut<sup>36</sup>.

### 2.6.2.1.1 Farmakologi Letrozole

Rumus kimia letrozole adalah  $4,4'-(1H,2,4\text{-triazol-1-yl-metilen})\text{-dibenzonitril}$ <sup>29</sup>. Cara kerja letrozole adalah dengan menghambat enzim aromatase secara kompetitif dengan mengikat heme pada sitorom P450 pada subunit enzim<sup>16</sup>. Hal tersebut mendasari mekanisme kerja letrozole sebagai induksi ovulasi pada tingkat perifer maupun sentral. Di perifer letrozole mempunyai aksi pada ovarium dengan menghambat perubahan androgen menjadi estrogen sehingga terjadi akumulasi androgen yang dapat meningkatkan sensitifitas folikel terhadap FSH melalui mekanisme langsung atau melalui mediator IGF (*insulin like growth factor*). Inhibisi estrogen tersebut akan menyebabkan mekanisme umpan balik negatif terhadap aksis hipotalamus-hipofisis yang akan menyebabkan peningkatan kadar FSH yang dibutuhkan pada perkembangan folikel matur (pengaruh letrozole terhadap sentral)<sup>41</sup>. Hal tersebut terjadi akibat penurunan produksi estrogen perifer akibat terhambatnya perubahan androstenedion dan testosteron menjadi estrogen di ovarium<sup>19,27,29,30,36</sup>. Sehingga terjadi peningkatan sekresi gonadotropin akibat penurunan estrogen melalui pengaruh terhadap aksis hipotalamus-hipofisis<sup>30,36,38</sup>. Percobaan pada tikus menunjukkan bahwa akumulasi androgen di dalam ovarium diakibatkan oleh karena tidak diubahnya androgen menjadi estrogen pada pemberian letrozole pada awal fase proliferasi dan dapat meningkatkan jumlah ekspresi reseptor FSH yang akhirnya menambah sensitivitas pulsasi FSH dan LH terhadap pematangan folikel<sup>19,23,29,36</sup>. Hal tersebut didukung oleh 2 penelitian yang mendapatkan angka

kesuksesan yang tinggi pada kelompok letrozole dan FSH sebagai induksi ovulasi dimana letrozole dapat meningkatkan respon terhadap FSH. Penelitian pertama pada kelompok perlakuan FSH dan kombinasi FSH-letrozole pada *intrauterine insemination* (IUI), didapatkan hasil bahwa diperlukan dosis FSH yang lebih rendah dan lebih banyak folikel matur pada kelompok FSH-letrozole<sup>51</sup>. Penelitian kedua dengan jumlah sampel yang lebih besar dan metode retrospektif pada kelompok perlakuan yang sama dengan penelitian pertama (kelompok FSH adalah 145 siklus; kelompok FSH-letrozole adalah 60 siklus) didapatkan hasil bahwa penambahan letrozole pada induksi ovulasi dengan FSH akan menurunkan kebutuhan dosis FSH dan jumlah folikel perovulasi akan lebih banyak bila dibandingkan dengan kelompok FSH<sup>19</sup>.

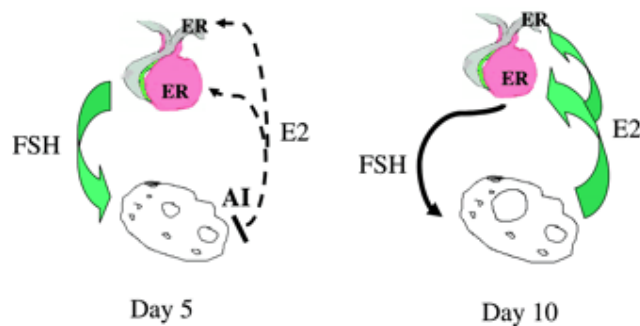
Letrozole cepat diabsorpsi di dalam sistem pencernaan dan absorpsinya tidak dipengaruhi oleh faktor makanan. Letrozole mengalami proses metabolisme di hati. Metabolit utamanya sendiri tidak memiliki efek biologik terhadap aktivitas enzim aromatasase yakni 4,4' *methanol bisbenzotriol*, kemudian diekskresikan ke dalam urin dalam bentuk glukoronida<sup>29</sup>. Masa paruh letrozole adalah 48–96 jam. Supresi estrogen maksimal akan dijumpai dalam 48–72 jam<sup>30,36</sup>. Kadar letrozole dibawah terapi akan dijumpai setelah 3–4 kali waktu paruh (6–8 hari pemakaian obat terakhir) dan tidak akan ditemukan dalam darah lagi setelah 10 hari pemberian obat terakhir<sup>18</sup>.

Pada fase proliferasi lanjut, peran letrozole mulai menurun dan konsentrasi estrogen mengalami peningkatan kembali. Karena penghambat aromatasase tersebut tidak menimbulkan hambatan kompetitif reseptor estrogen dan terjadi peningkatan kembali konsentrasi estrogen pada hari ke-10, maka mekanisme umpan balik negatif normal akan tetap terjadi. Mekanisme umpan balik negatif normal akan menurunkan

pulsasi FSH dan atresia folikel–folikel yang tidak dominan, sehingga sebagian besar pemicu ovulasi dengan letrozole akan menghasilkan folikel dominan dan ovulasi tunggal<sup>16,29,32</sup>. Sehingga akan nampak pertumbuhan folikel mutipel pada hari ke-7, namun pada pertengahan siklus akan dijumpai ovulasi tunggal (Gambar 15)<sup>32</sup>. Efek letrozole ini berguna dalam induksi ovulasi pada penderita sindrom ovarium polikistik<sup>16,32</sup>.

Sebuah penelitian menunjukkan bahwa letrozole dapat memperlambat LH *surge* karena telah terjadi penurunan produksi estrogen kurang lebih 50% untuk setiap folikel matang<sup>41,42</sup>. Dimana kemudian bahwa LH *surge* dirangsang oleh peningkatan estradiol akibat mekanisme umpan balik positif pada aksis hipotalamus-hipofisis. Namun sebenarnya penurunan kadar estradiol yang nampak pada induksi ovulasi letrozole tidak akan terjadi jika tidak disertai penurunan protein intrafolikel yang melawan LH *surge*<sup>43</sup>. Pada satu penelitian diketahui bahwa wanita yang terjadi LH *surge* pada kelompok letrozole-FSH mempunyai kadar estradiol per 1 folikel matang (600 pmol/L) lebih tinggi dari pada yang tidak mengalami LH *surge* (460 mol/L). Kadar ini lebih rendah daripada yang diamati pada kelompok CC-FSH dan FSH (1193 dan 1514 pmol/L). Sehingga kadar LH dan estradiol lebih faal pada induksi ovulasi dengan letrozole dibandingkan dengan CC<sup>44</sup>. Ditambahkan pula pada penelitian tersebut bahwa karena kadar estradiol yang dapat merangsang LH *surge* lebih rendah daripada kelompok CC maka dapat ditarik kesimpulan bahwa letrozole tidak hanya menurunkan kadar estradiol tapi juga menurunkan protein penghambat LH *surge* intrafolikel<sup>10,45,46</sup>. Sehingga pemberian letrozole dapat mengantisipasi atau mencegah munculnya luteinisasi dini yang sering timbul pada pemberian CC akibat peningkatan tajam kadar estrogen<sup>29,47-51</sup>.

### Aromatase Inhibitor Treatment



**Gambar 15.** Pengaruh pemberian aromatase inhibitor. Pemberian pada hari ke-3 sampai 7 akan menekan sekresi estradiol dan mengurangi mekanisme umpan balik negatif pada hipofisis dan hipotalamus. (Dikutip dari *Fertility and Sterility* 80:2003)<sup>32</sup>.

#### 2.6.2.1.2 Pengaruh letrozole terhadap pembentukan dan pertumbuhan folikel

Karena tidak terjadi hambatan kompetitif reseptor estrogen (hal yang berlawanan terjadi pada induksi ovulasi dengan CC) maka hipotalamus mampu merespon terhadap umpan balik negatif dari estrogen sehingga kadar FSH yang tidak terlalu tinggi akan menyebabkan pembentukan monofolikel dominan dan kadar estrogen yang lebih faali. Pada CC akan terjadi pembentukan folikel dominan yang multipel sehingga mempertinggi angka kejadian kehamilan multipel<sup>13</sup>. Penelitian pada kelompok perlakuan pemberian letrozole dan CC pada *intrauterine insemination* (IUI) menunjukkan bahwa pada kelompok letrozole akan didapatkan folikulogenesis yang lebih sedikit dan kadar estradiol yang lebih rendah<sup>37</sup>. Diduga pula kadar estrogen yang tinggi akan mengganggu perkembangan embrio dini, sehingga kadar estrogen yang lebih faali pada kelompok letrozole akan meningkatkan angka implantasi dibandingkan kelompok CC<sup>16,29</sup>.

Pada sebuah penelitian awal pada 8 wanita yang mendapat letrozole dan kemudian dilakukan analisis hormonal dan morfologi endometrium. Didapatkan hasil peningkatan hormon LH, androgen dan testosteron pada fase folikuler dan kadar estradiol cenderung berkurang bila dibandingkan dengan kadar estradiol pada folikel

matur tanpa obat induksi ovulasi. Kadar progesteron juga meningkat pada fase luteal. Perubahan rasio estradiol dan progesteron pada fase luteal diduga mempengaruhi pematangan dan peningkatan reseptivitas endometrium pada masa implantasi<sup>16,36</sup>. Seorang peneliti menemukan bahwa pada kelompok wanita infertil ditemukan kadar aromatase P450 yang tinggi pada endometrium dan ini berhubungan dengan *outcome* bayi IVF yang jelek<sup>52</sup>. Sehingga letrozole diharapkan dapat memperbaiki hal tersebut<sup>30</sup>.

#### **2.6.2.1.3 Protokol pemberian Letrozole**

Dosis pemberian adalah 2,5 mg perhari mulai hari ke-3 siklus haid selama 5 hari<sup>26,29,36</sup>. Peneliti lain melaporkan pemberian dosis 5 mg per hari pada hari ke 3–7 siklus haid<sup>36</sup>. Dosis 2,5 mg per hari mampu menghambat produksi estrogen, bahkan dengan dosis yang lebih tinggi (5 mg per hari) akan terjadi hambatan yang lebih kuat dan ini yang akan menyebabkan makin melebarnya jendela FSH (*FSH window*). Satu penelitian menyebutkan bahwa jumlah folikel matang akan bertambah lagi jika menggunakan dosis 5 mg tanpa menimbulkan dampak negatif pada lapisan endometrium<sup>50</sup>. Namun penelitian lain menyebutkan bahwa terjadi gangguan pada lapisan endometrium yang mendapat perlakuan letrozole (5 mg) dengan gonadotropin. Hal ini disebabkan karena kadar terapeutik letrozole (5 mg) masih berada dalam darah ketika memasuki fase proliferasi akhir, sehingga kadar estrogen yang tetap rendah menyebabkan endometrium tipis<sup>35</sup>. Sementara satu penelitian yang membandingkan pemberian dosis letrozole 2,5 mg dan 5 mg tidak ditemukan perbedaan yang bermakna dalam angka kehamilan. Tapi pernyataan tersebut masih memerlukan penelitian prospektif yang melibatkan sampel yang lebih besar<sup>16</sup>. Ada satu penelitian yang menggunakan dosis tunggal letrozole dengan hasil bahwa tidak

ada perbedaan bermakna antara dosis tunggal 20 mg letrozole pada hari ke-3 dengan 2,5 mg / hari selama 5 hari terhadap jumlah pematangan folikel<sup>53</sup>.

Masih diperlukan penelitian lebih lanjut kapan waktu yang tepat pemberian letrozole. Bila diberikan pada masa awal proliferasi maka kerja letrozole dimulai pada saat sinyal FSH diperlukan pada perkembangan folikel. Tapi bila letrozole digunakan untuk mengurangi kadar estradiol intrafolikel, meningkatkan androgen intrafolikel dan memperkuat sensitifitas reseptor FSH, maka seharusnya diberikan sebelum folikel terpapar FSH<sup>10</sup>. Sehingga kemudian ada satu kepustakaan yang menyebutkan letrozole dapat diberikan baik pada fase transisi luteal-proliferasi maupun pada awal proliferasi. Makin awal letrozole diberikan, akan semakin memperkuat ekspresi reseptor FSH intrafolikel (akumulasi androgen) yang membuat aktifitas pulsasi FSH terhadap folikel sangat sensitif<sup>29</sup>. Namun jangan memberikan letrozole lebih dari hari ke-7 siklus menstruasi karena akan mengganggu sekresi estradiol yang selanjutnya dapat mengganggu maturasi oosit, kualitas oosit dan endometrium<sup>10</sup>.

Karena keuntungan-keuntungan letrozole tersebut, banyak peneliti yang meramalkan penggunaan letrozole sebagai obat pilihan utama pada pengobatan infertilitas anovulatoar maupun ovulatoar. Selain itu, penggunaan letrozole sebagai stimulasi ovarium, tidak memerlukan pengawasan yang ketat yang memerlukan biaya yang cukup mahal<sup>16</sup>. Khususnya pada wanita sindrom polistik ovarii yang menunjukkan respon yang berlebihan terhadap gonadotropin atau di institusi yang tidak mempunyai USG khususnya probe transvaginal<sup>32</sup>. Berbagai variasi protokol hari pemberian CC dan letrozole serta profil hormonalnya diperlihatkan pada Gambar 16.

Men	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
CC					X	X	X	X	X						V	V	V	V	V	V	V	V
CC			X	X	X	X	X					V	V	V	V	V	V	V	V			
LTZ			X	X	X	X	X					V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	
FSH			#					#				#										
LH			#					#				#										
E <sub>2</sub>			#					#				#										
TVS			#					#				#				#				#		

Keterangan: X = saat pemberian obat

V = saat terjadinya lonjakan LH

■ = rata-rata saat terjadinya lonjakan LH

**Gambar 16.** Protokol pemberian CC mulai hari ke-3 dan ke-5 serta letrozole mulai hari ke-3 dan profil horomonal yang ditimbulkan.

#### 2.6.2.1.4 Angka keberhasilan Letrozole

Pada penelitian pemakaian letrozole pada 167 wanita, didapatkan angka kehamilan klinis 13,8% dan hanya 1 orang yang terdiagnosis kehamilan ganda dari 23 kehamilan (4,3 %) <sup>29,53</sup>. Namun dalam satu penelitian lain menyatakan bahwa tidak ada perbedaan bermakna dalam angka keberhasilan kehamilan antara kelompok CC dan letrozole (pada kedua kelompok tersebut dilanjutkan dengan pemberian FSH), meskipun jumlah folikel yang matang relatif lebih tinggi pada kelompok letrozole dan tidak ada perbedaan bermakna dalam ketebalan endometrium <sup>38</sup>.

Penelitian pada 103 wanita yang menggunakan letrozole dengan pemberian dosis 2,5 mg atau 5 mg tidak didapatkan angka kehamilan ganda juga rendah <sup>16</sup>. Sementara itu penelitian lain pada 423 wanita yang diinduksi ovulasi dengan clomiphene citrate dan 167 wanita dengan induksi letrozole, didapatkan angka kehamilan kelompok letrozole 2 kali lipat bila dibandingkan kelompok clomiphene citrate. Angka kehamilan multipel dan abortus lebih rendah pada kelompok letrozole <sup>54</sup>. Hal serupa didukung oleh seorang peneliti dengan kelompok perlakuan yang

sama pada *intrauterine insemination* (IUI) menunjukkan bahwa pada kelompok letrozole akan didapatkan folikulogenesis yang lebih sedikit dan kadar estradiol yang lebih rendah <sup>55</sup>.

Penelitian penggunaan letrozole pada wanita yang gagal mengalami ovulasi setelah pemberian CC atau mengalami ovulasi namun ketebalan endometrium sangat tipis, didapatkan angka ovulasi 77% dan angka kehamilan 33% <sup>54</sup>.

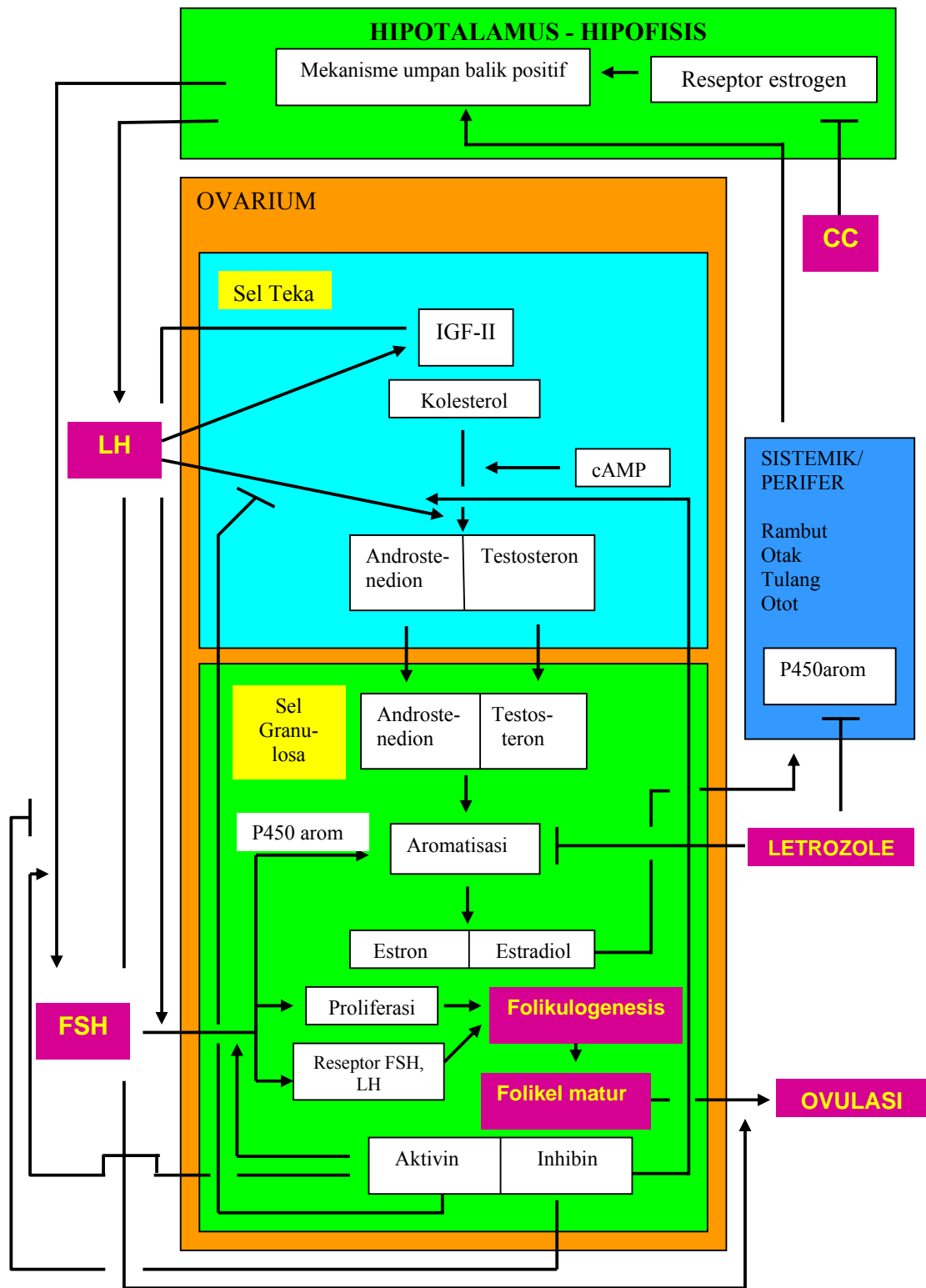
Pada program bayi tabung, pemberian letrozole-FSH akan memberikan biaya yang lebih murah dengan hasil yang sama dengan agonis GnRH-FSH yang relatif lebih mahal <sup>15</sup>. Keuntungan lain adalah pada penelitian yang menyatakan bahwa tidak ada perbedaan bermakna dalam hal jumlah folikel matur, jumlah folikel yang diambil, jumlah embrio yang ditanam, ketebalan endometrium pada 38 wanita yang mengalami kegagalan program IVF karena tidak berespon terhadap gonadotropin yang diberi perlakuan letrozole-FSH dan agonis GnRH-FSH.

#### **2.6.2.1.5 Efek samping Letrozole**

Suatu penelitian menunjukkan bahwa letrozole yang dikonsumsi pada kisaran umur 35–80 tahun tidak memiliki dampak negatif yang bermakna. Penelitian lain menyatakan bahwa letrozole tidak mengganggu sintesis kelenjar adrenal komponen glukokortikoid dan aldosteron <sup>29</sup>.

Efek samping pemakaian letrozole sebagai obat pemicu ovulasi tidak memperlihatkan adanya gejala–gejala yang merugikan. Hal ini dimungkinkan karena pemakaian letrozole yang singkat (5 hari) dan juga hanya memiliki masa paruh yang singkat. Gejala yang sering muncul adalah seperti nyeri tulang, rasa terbakar, mual, nyeri sendi, konstipasi, nyeri dada, botak dan nyeri payudara <sup>29</sup>. Tidak ada keluhan lemah dan nyeri kepala seperti pada pemakaian CC <sup>19</sup>.

2.7 Patofisiologi



**Keterangan** → : menyebabkan      —| : menghambat

## 2.8 Kerangka Teori

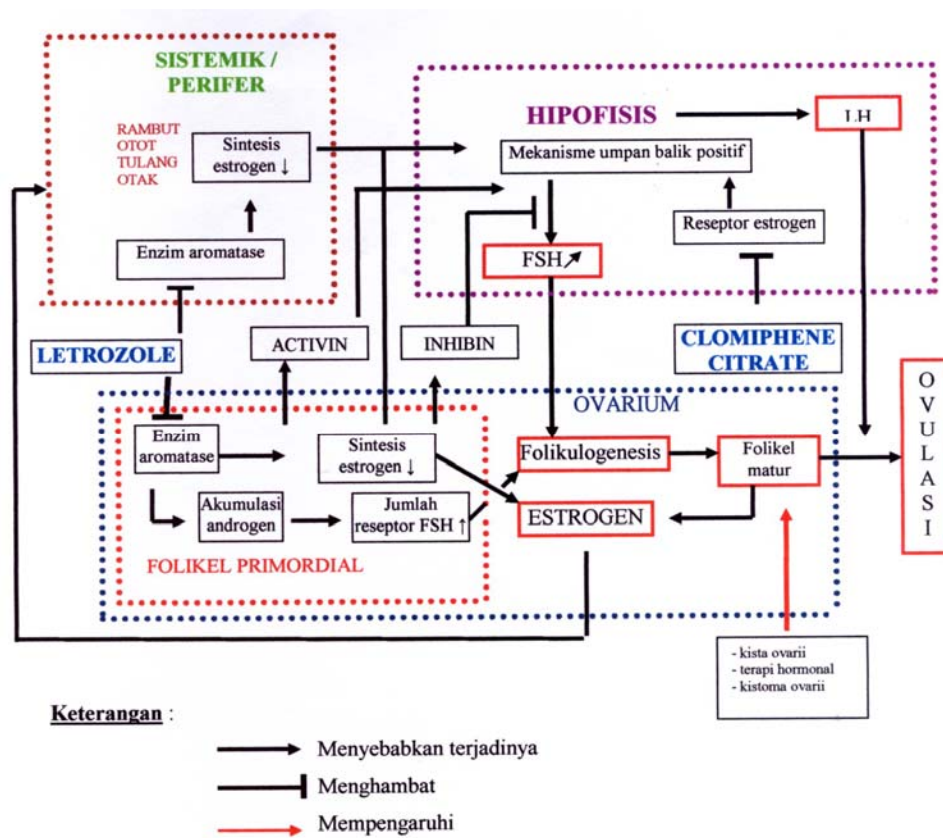
Variabel yang akan diteliti adalah pengaruh pemberian CC atau Letrozole terhadap keberhasilan induksi ovulasi berdasarkan pembentukan folikel matur kadar FSH, LH dan Estradiol serum.

Karena struktur kimianya yang mirip dengan estrogen, CC berikatan dengan reseptor estrogen di nukleus pada sistem reproduksi. Namun tidak seperti estrogen, CC dapat terikat pada reseptor estrogen dalam waktu yang lama. Akibatnya hipotalamus akan menangkap sinyal yang salah mengenai kadar estrogen yang beredar di dalam darah, dimana kadar estrogen dipersepsikan lebih rendah daripada kadar sebenarnya. Keadaan ini dianggap oleh hipotalamus sebagai umpan balik positif, sehingga kemudian disekresikan hormon GnRH, yang selanjutnya merangsang pengeluaran FSH. Selama pemberian CC kadar FSH dan LH akan meningkat dan mengalami penurunan setelah selesainya 1 siklus terapi yaitu selama 5 hari pemberian obat. Akan dihasilkan satu atau lebih folikel matang. Kadar estrogen yang tinggi akan merangsang lonjakan LH yang dapat menimbulkan ovulasi.

Cara kerja letrozole adalah dengan menghambat enzim aromatase secara kompetitif dengan mengikat heme pada sitokrom P450 pada subunit enzim. Hal tersebut mendasari mekanisme kerja letrozole sebagai induksi ovulasi pada tingkat perifer maupun sentral. Di perifer letrozole mempunyai aksi pada ovarium dengan menghambat perubahan androgen menjadi estrogen sehingga terjadi akumulasi androgen yang dapat meningkatkan sensitifitas folikel terhadap FSH melalui mekanisme langsung atau melalui mediator IGF (*insulin like growth factor*). Inhibisi estrogen tersebut akan menyebabkan mekanisme umpan balik positif terhadap aksis hipotalamus-hipofisis yang akan menyebabkan peningkatan kadar FSH yang

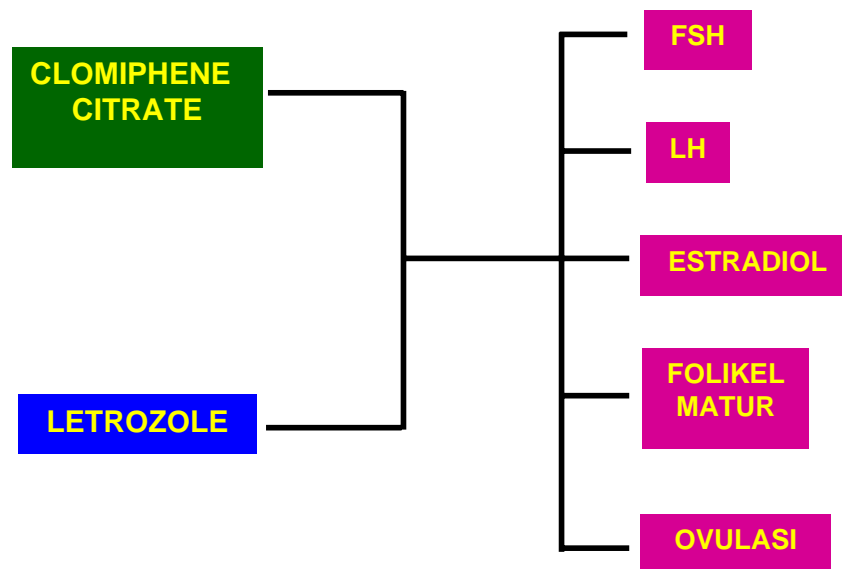
dibutuhkan pada perkembangan folikel matur (pengaruh letrozole terhadap sentral). Hal tersebut terjadi akibat penurunan produksi estrogen perifer akibat terhambatnya perubahan androstenedion dan testosteron menjadi estrogen di ovarium. Sehingga terjadi peningkatan sekresi gonadotropin akibat penurunan estrogen melalui pengaruh terhadap aksis hipotalamus-hipofisis.

### Kerangka teori



## 2.9 Kerangka konsep

Peneliti tidak memeriksa kadar androgen, androstenedion, progesteron serum, kadar estrogen di jaringan, aktivin, dan inhibin . Peneliti menggunakan kriteria inklusi untuk mengendalikan faktor perancu seperti adanya kista atau kistoma ovarii, atau sedang menjalani terapi hormonal.



## **BAB 3**

### **HIPOTESIS**

1. Terdapat perbedaan rerata diameter folikel antara kelompok Letrozole dan CC
2. Pada kelompok Letrozole akan terbentuk rerata jumlah folikel matur yang lebih sedikit dibanding kelompok CC
3. Pada kelompok CC akan terjadi ovulasi lebih awal dibanding kelompok letrozole
4. Pada kelompok CC akan didapatkan rerata kadar FSH, LH, dan E<sub>2</sub> yang lebih tinggi

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Ruang lingkup penelitian**

Penelitian ini dilakukan dalam ruang lingkup Bagian / SMF Obsteri dan Ginekologi, Sub bagian Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi Manusia FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang.

#### **4.2 Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilakukan di unit rawat jalan Fertilitas Endokrinologi dan Reproduksi manusia Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Kariadi / Bagian Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, mulai April sampai Juni 2008.

#### **4.3 Jenis dan rancangan penelitian**

Penelitian analitik, uji klinik buta berganda (*randomized controlled double blind trial*) tanpa matching (paralel)

#### **4.4 Populasi dan Sampel**

##### **4.4.1 Populasi target**

Wanita dengan *enexplained infertility*

#### 4.4.2 Populasi terjangkau

Wanita dengan *unexplained infertility* yang datang mencari pengobatan di Unit Rawat Jalan Klinik Infertilitas RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan rentang waktu April – Juni 2008

#### 4.4.3 Sampel penelitian

Semua wanita dengan infertilitas tak terjelaskan yang didiagnosis berdasarkan kadar progesteron midluteal (hari ke-21)  $\geq 3$  ng/dl, dari pemeriksaan HSG didapatkan bentuk uterus dan tuba normal, kedua tuba paten, yang memenuhi ketentuan sebagai berikut:

##### 4.4.3.1 Kriteria inklusi :

- Umur 17 – 38 tahun
- Indeks masa tubuh  $\geq 15$  s/d  $\leq 30$
- Tidak sedang mendapatkan terapi hormonal, seperti progesteron, estrogen, androgen dan bromokriptin.
- Pada pemeriksaan TVS hari ke-3 siklus haid, tidak terdapat massa ovarium yang berukuran  $\geq 18$  mm
- Tidak menderita ovarium polikistik, yaitu pada pemeriksaan TVS didapatkan jumlah folikel  $>10$  berukuran 2-10mm.
- Tidak terdapat riwayat penyakit hepar, ginjal dan DM (dari anamnesis pernah atau menunjukkan kemungkinan adanya penyakit hepar, ginjal dan DM, didukung dengan pemeriksaan laboratorium yang abnormal).
- Tidak menderita galaktore, yaitu pengeluaran air susu, padahal sedang tidak menyusui

- Tidak menderita hipertiroid, yaitu bila didapatkan pembesaran tiroid dan didukung pemeriksaan TSHS yang abnormal
- Tidak menderita hipotiroid, yaitu bila dari anamnesis pernah menderita penyakit tersebut atau gejala dan tanda klinis keadaan hipotiroid dan didukung dengan pemeriksaan TSHS
- Tidak menderita tumor payudara, yaitu bila didapatkan pembesaran payudara baik jinak maupun ganas
- Setuju untuk mengikuti penelitian

#### **4.4.3.2 Kriteria eksklusi :**

- Drop out, yaitu bila:
  - \* timbul efek samping obat
  - \* subyek mengundurkan diri
  - \* subyek tidak datang kontrol sesuai jadwal yang ditentukan

Subyek yang dieksklusi tidak disertakan dalam analisis statistik.

#### **4.4.4 Cara pengambilan sampel**

Seluruh sampel yang memenuhi kriteria subyek penelitian akan diikutsertakan pada penelitian ini (*consecutive sampling*). Kemudian subyek dikelompokkan menjadi kelompok CC (kelompok yang menggunakan clomiphene citrate) dan kelompok letrozole (kelompok yang mendapat letrozole) dengan randomisasi blok.

#### 4.4.5 Besar sampel

Untuk menguji hipotesis dengan kekuatan ( *power* ) statistik (1-β) 80 % dengan tingkat kemaknaan (α) 0,05 untuk membedakan rerata dua kelompok mengenai :

- a. Jumlah folikel matur sebesar 0,5<sup>51</sup>
- b. Kadar estradiol (E<sub>2</sub>) sebesar 100 pmol/L<sup>50</sup>

Belum didapatkan laporan penelitian tentang perbedaan bermakna nilai klinis untuk kadar FSH dan LH.

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka dengan menggunakan rumus :

$$n1 = n2 = 2 \left( \frac{(z\alpha + z\beta)SD}{x1 - x2} \right)^2$$

Keterangan :

SD = simpang baku

x1-x2 = perbedaan klinis dua populasi

zα = 1,96

zβ = 0,842

Didapatkan besar sampel berdasarkan butir:

- a. sebanyak n1 = n2 = 22,12
- b. sebanyak n1 = n2 = 23,03

Berdasarkan beberapa perhitungan tersebut diatas maka jumlah sampel yang digunakan 23,03, ditambah antisipasi *drop out* sebesar 10% maka n1 = n2 = 25,33, dibulatkan menjadi 25 pada kelompok letrozole dan 25 pada kelompok CC.

#### **4.4.6 Cara randomisasi**

Subyek penelitian dibagi dalam dua kelompok yaitu kelompok CC dan letrozole. Karena kedatangan subyek tidak dalam waktu yang bersamaan, maka dilakukan randomisasi blok dengan tujuan membuat tiap kelompok mempunyai jumlah subyek yang sebanding setiap saat. Randomisasi dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- Menyusun sekuens obat dari tabel sekuens. Tabel sekuens terdiri dari banyak blok sekuens. Satu blok sekuens terdiri dari banyak blok sekuens. Satu blok sekuens terdiri dari 4 subyek sehingga terdapat 2 orang yang terbagi dalam 2 kelompok (kelompok A dan kelompok B secara acak.
- Pemilihan blok sekuens obat dilakukan dengan tabel angka random. Sebelumnya dilakukan penentuan salah satu angka pada tabel random, dilakukan dengan mata tertutup dan pensil diletakkan pada kertas tabel. Ujung pensil yang menunjukkan salah satu angka (dua digit) dipakai sebagai pedoman untuk pemilihan 10 angka (dua digit) di bawahnya. Sehingga didapatkan 10 blok susunan sekuens.
- Masing-masing abjad dalam urutan sekuens dimasukkan ke dalam amplop tertutup satu per satu. Keseluruh amplop tertutup tersebut diberikan kepada salah seorang di luar peneliti, yang ditugasi untuk pemilihan macam obat berdasarkan tulisan abjad A atau B yang ada dalam amplop tertutup tersebut.

#### **4.4.7 Cara *blinding***

Amplop tertutup yang di dalamnya tertulis abjad A atau B diberikan kepada salah seorang di luar peneliti untuk dijadikan pedoman pemilihan obat. Masing-masing obat digerus lalu masing-masing dimasukkan ke dalam kapsul salut enterik

no 2 dengan bentuk dan warna yang sama. Peneliti dan sonografer tidak mengetahui subyek termasuk kelompok CC atau Letrozole.

#### **4.5 Variabel penelitian**

**Variabel bebas** adalah obat induksi ovulasi letrozole atau CC .

**Variabel tergantung** adalah kadar FSH, LH dan Estradiol serum, pembentukan folikel, jumlah dan diameter folikel matur, serta keberhasilan ovulasi.

Beberapa faktor yang diperkirakan dapat mengganggu telah dimasukkan dalam kriteria inklusi.

#### **4.6 Definisi operasional**

- **Letrozole:**

Diberikan dengan dosis 2,5 mg/hari per oral dosis tunggal pada siklus haid hari ke- 3-7. Merek obat yang di-gunakan adalah Femara; Novartis).

Skala nominal.

- **Clomiphene citrate:**

Diberikan dengan dosis 50 mg/hari per oral dosis tunggal pada siklus haid hari ke- 3-7. Merek obat yang digunakan adalah Clomifil; Sunthi Sepuri).

Skala nominal.

- **Diameter folikel:**

Yaitu folikel terbesar yang didapatkan dari pemeriksaan TVS pada hari ke-8, 12, 14, 16,18. Dinyatakan dalam mm.

Skala interval.

- **Folikel matur:**

Yaitu folikel yang berukuran  $\geq 18$  mm. Dibedakan menjadi folikel tunggal bila ditemukan 1 folikel matur dan folikel multipel bila ditemukan  $> 1$  folikel matur. Skala nominal.

- **Keberhasilan ovulasi:**

Yaitu bila tidak dijumpai lagi adanya folikel matur atau berkurang jumlah folikel matur pada pemeriksaan TVS serial mulai hari ke-12 menstruasi.

- **Kadar hormon FSH, LH, Estradiol (E<sub>2</sub>):**

Yaitu angka yang didapatkan berdasarkan pemeriksaan laboratorium dari serum subyek, dengan metoda *ELISA* dengan nilai acuan sebagai berikut:

FSH (mIU/ml):

\* Fase folikuler: 3,2 – 10,0

\* Pertengahan siklus: 7,5 – 20,0

LH (mIU/ml):

\* fase folikuler: 1,68-15

\* Puncak ovulasi: 21,9-56,6

Estradiol (pg/ml):

\* Fase folikuler awal: 30-100

\* Fase folikuler lanjut: 100-400

Skala nominal.

- **Siklus / Kelompok CC:**

Yaitu siklus menstruasi pada wanita yang mendapat perlakuan dengan CC

- **Siklus / Kelompok Letrozole:**

Yaitu siklus menstruasi pada wanita yang mendapat perlakuan dengan letrozole

## 4.7 Bahan dan cara kerja

### 4.7.1 Alat-alat yang digunakan

- USG Merk : SonoAce X<sub>4</sub> SSD 680. Probe transvaginal dengan sudut pengukuran 150<sup>0</sup> , rentang frekuensi 4-9 Mhz. Produksi *Medison Corporation* Korea.
- Pemeriksaan serum dengan metode *ELISA* dengan alat merek *Microplate Reader* EL<sub>x</sub> 800, Biotek Instrument, Inc., USA. Dengan menggunakan reagen produksi *General Biomedical Taiwan* bersama *Medical Technology Promed Consulting GmbH, Germany*.
- S spuit *disposable* 3 cc untuk mengambil darah vena
- Tabung gelas vakum untuk wadah sampel darah

### 4.7.2 Cara kerja

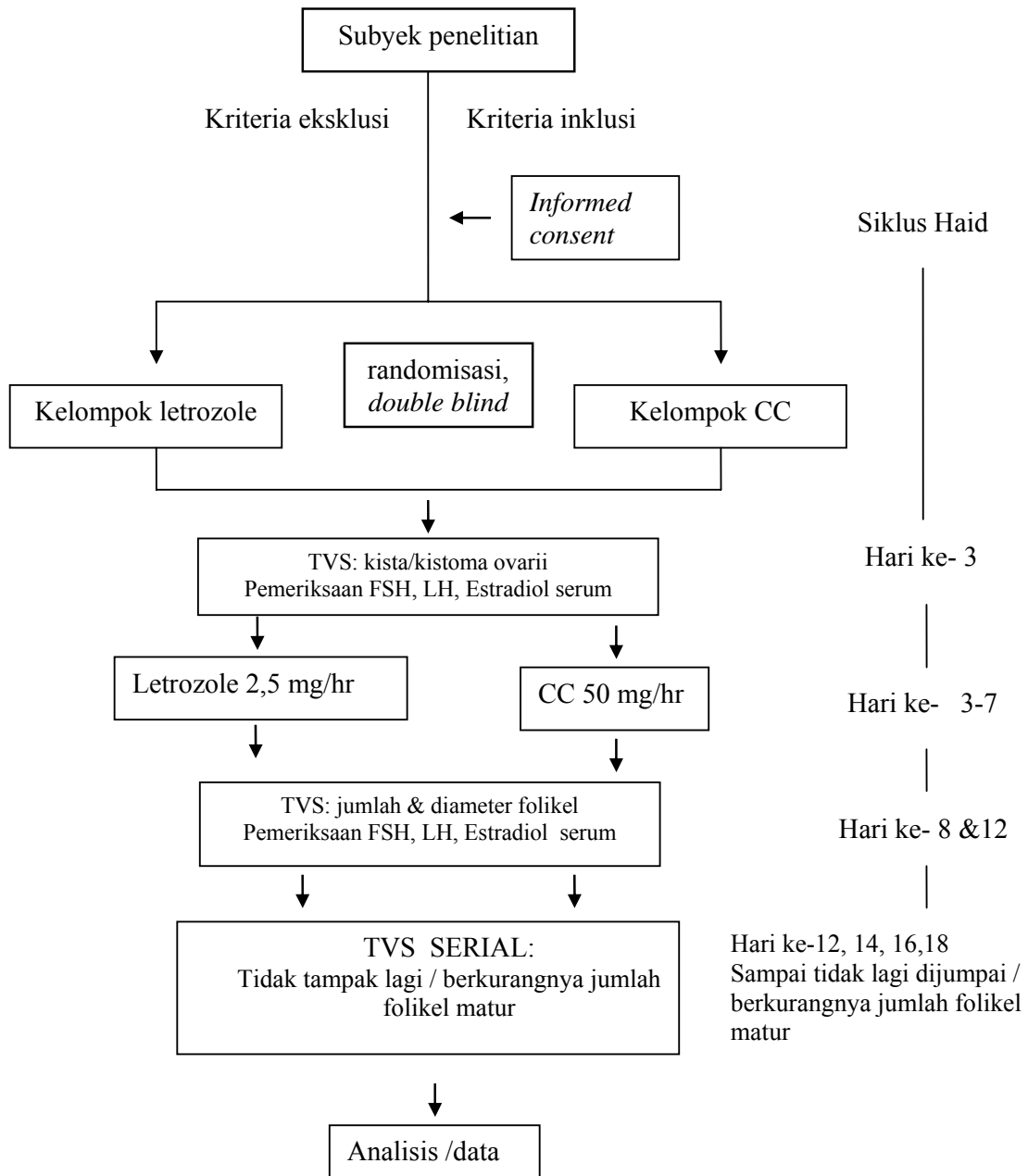
1. Subyek yang memenuhi syarat penerimaan sampel diberi penjelasan mengenai penelitian yang akan dilakukan dan menandatangani surat persetujuan untuk mengikuti penelitian.
2. Data–data mengenai penderita diambil sesuai dengan variabel yang diperlukan. Indeks masa tubuh didapatkan dengan formula: berat badan individu dibagi kuadrat tinggi badannya, dinyatakan dalam satuan kg/m<sup>2</sup>. Dengan klasifikasi sebagai berikut<sup>69</sup>:

- <i>Starvation</i>	: < 15
- <i>Underweight</i>	: 15 - 18,5
- <i>Normal</i>	: 18,5 – 25
- <i>Obese</i>	: 30 – 40
- <i>Morbidly obese</i>	: > 40
- <i>Overweight</i>	: 25 – 30

3. Dilakukan randomisasi blok
4. Sebelum perlakuan, seluruh subyek dilakukan pemeriksaan TVS pada hari ke-3 untuk menilai folikel. Bila didapatkan folikel atau pun massa ovarium dengan diameter  $\geq 18$  mm maka subyek di eksklusi. Lalu dilanjutkan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan FSH, LH, dan Estradiol serum untuk menilai nilai rerata kadar hormonal basal.
5. Pada hari ke-3 itu juga, subyek diberi letrozole 2,5 mg/hari dosis tunggal atau CC 50 mg/hari dosis tunggal yang diberikan hari ke 3–7 siklus haid.
6. Setelah diberi perlakuan, pada hari ke-8 dan 12 diperiksa kadar FSH, LH dan Estradiol serum. Hal ini untuk menilai perbedaan reratanya, terutama kadar Estradiol pada kelompok letrozole.
7. Pada hari ke-8 dilakukan pemeriksaan TVS untuk melihat rerata pertumbuhan folikel
8. Pada hari ke-12 dilakukan pemeriksaan TVS untuk menilai jumlah folikel matur, dilanjutkan selang satu hari berikutnya untuk mengetahui terjadinya ovulasi berdasarkan tidak terdapat lagi gambaran folikel matur atau berkurangnya jumlah folikel matur.
9. Pemeriksaan TVS dilakukan di Unit Rawat Jalan Sub Bagian FER RSUP Dr. Kariadi. Pemeriksaan dilakukan oleh 1 orang pemeriksa. Pemeriksa adalah seorang praktisi, Ahli Obstetri dan Ginekologi Konsultan Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi manusia. Tidak dilakukan uji Kappa intra observer.
10. Pengambilan dan pemeriksaan sampel darah dilakukan di laboratorium GAKI FK Undip Semarang. Pengambilan sampel darah pada pagi hari sebelum jam 8.30 WIB. Pemeriksaan dilakukan secara *ELISA*.

11. Pengukuran diameter folikel dilakukan dengan mengukur diameter folikel terbesar. Pengukuran folikel dilakukan pada dinding folikel permukaan dalam yang terbesar. Pengukuran dilakukan pada dua bidang dan kemudian diambil nilai rata-ratanya, dinyatakan dalam satuan mm. Bila dari pemeriksaan TVS belum didapatkan gambaran folikel matur, maka pemeriksaan TVS dilanjutkan setiap 2 hari sekali sampai didapatkan folikel matur atau sampai hari ke-18 siklus haid.
12. Bila didapatkan keluhan pada penderita seperti gangguan penglihatan, mual, perut terasa sebah, sesak nafas selama pemberian obat letrozole maupun CC, maka pemberian obat tersebut dihentikan.
13. Seluruh data dikumpulkan, diolah dan dilakukan uji statistik.

#### 4.8 Alur Penelitian



#### 4.9 Pengolahan dan analisis data

Data yang terkumpul diedit, dikoding, kemudian dientry ke dalam program komputer. Selanjutnya dilakukan *cleaning* data. Data kemudian dianalisis secara statistik dengan mengikuti langka-langkah sebagai berikut :

1. Analisis normalitas distribusi pada variabel-variabel berskala numerik meliputi: jumlah folikel, diameter folikel, kadar FSH, LH, dan E<sub>2</sub> dilakukan uji Shapiro-Wilk.
2. Analisis deskriptif dengan menghitung nilai mean  $\pm$  SD (atau median) pada variabel-variabel numerik (jumlah folikel, diameter folikel, kadar FSH, LH, dan E<sub>2</sub>) menurut kelompok CC dan Letrozole (L).
3. Uji analitik dengan melakukan uji statistik sebagai berikut:
  - a. Pada variabel berskala numerik (jumlah folikel, kadar FSH, LH, E<sub>2</sub>) :
    - i. Jika variabelnya normal dilakukan uji *independent t- test*
    - ii. Jika distribusinya tidak normal dilakukan uji *Mann Whitney U-test*
  - b. Untuk menganalisis hubungan antara jenis perlakuan dengan kategori perkembangan folikel dilakukan uji *Chi square*

Perhitungan statistik menggunakan program SPSS

Semua uji statistik dilakukan pada nilai  $\alpha = 0.05$

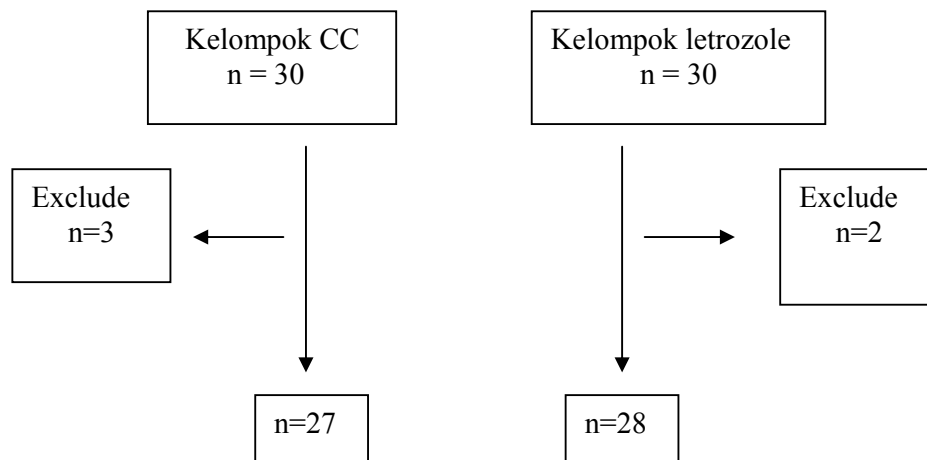
#### **4.10 Etika penelitian**

- Subyek penelitian yang bersedia mengikuti penelitian menandatangani surat kesediaan.
- Bila terjadi efek samping obat yang memerlukan tindak lanjut akan ditanggung oleh peneliti dan subyek dikeluarkan dari penelitian.
- Subyek penelitian tidak dibebani biaya tambahan untuk pemeriksaan yang berkaitan dengan penelitian.
- Identitas subyek penelitian dirahasiakan.
- Penelitian ini mendapat ijin dari komisi etik FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang.

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini didapat jumlah subyek yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi sebanyak 30 subyek di kelompok CC dan 30 subyek di kelompok letrozole. Tiga subyek pada kelompok CC dikeluarkan dari penelitian. Satu subyek mengalami pusing, mual dan muntah, dua subyek tidak datang kontrol sesuai jadwal yang ditentukan. Dua subyek pada kelompok letrozole juga dikeluarkan dari penelitian karena tidak datang kontrol sesuai jadwal yang ditentukan. Sehingga tinggal 27 subyek pada kelompok CC dan 28 subyek pada kelompok letrozole yang ikut serta hingga akhir penelitian dan dilakukan analisis.



#### 5.1 Uji normalitas data

Untuk menentukan uji hipotesis / statistik yang akan dipergunakan untuk menganalisis perbedaan karakteristik subyek dan variabel penelitian lainnya untuk kedua kelompok, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data dengan metode Shapiro Wilk, karena ukuran sampel yang tidak terlalu besar (masing-masing

kelompok kurang dari 40 subyek). Jika nilai  $p > 0,005$  dikatakan distribusi data normal, sedangkan jika nilai  $p < 0,005$  dikatakan distribusi data tidak normal. Data dengan distribusi yang normal selanjutnya dilakukan uji *independent t*, sedangkan yang distribusinya tidak normal dilakukan uji Mann Whitney. Hasil uji normalitas data tersebut ditampilkan pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil uji normalitas data penelitian dengan metode Shapiro Wilk**

No.	Variabel	CC $p$	LTZ $p$
1.	Umur	0,041	0,489
2.	Lama infertilitas	0,010	0,071
3.	Indeks masa tubuh	0,071	0,030
4.	Kadar FSH hari ke-3	0,054	0,157
5.	Kadar LH hari ke-3	0,422	0,041
6.	Kadar E <sub>2</sub> hari ke-3	0,000	0,050
7.	Kadar FSH hari ke-8	0,064	0,064
8.	Kadar LH hari ke-8	0,752	0,189
9.	Kadar E <sub>2</sub> hari ke-8	0,035	0,169
10.	Kadar FSH hari ke-12	0,051	0,190
11.	Kadar LH hari ke-12	0,049	0,120
12.	Kadar E <sub>2</sub> hari ke-12	0,025	0,932
13.	Jumlah folikel hari ke-8	0,000	0,003
14.	Jumlah folikel dominan hari ke-8	0,000	0,000
15.	Jumlah folikel hari ke-12	0,000	0,000
16.	Jumlah fokiell matur hari ke-12	0,000	0,000
18.	Jumlah folikel hari ke-14	0,000	0,000
19.	Jumlah folikel matur hari ke-14	0,000	0,000

## 5.2 Karakteristik subyek

Karakteristik subjek pada kedua kelompok ditampilkan pada Tabel 3

**Tabel 3. Karakteristik subyek penelitian pada kelompok CC dan letrozole**

Variabel	CC (n=27)		letrozole (n=28)		P
	Mean ± SD	n (%)	Mean ± SD	n (%)	
- Umur (tahun)	31,9 ± 2,98		30,5 ± 4,34		0,250 <sup>a</sup>
- Lama infertilitas (tahun)	3,0 ± 0,81		3,8 ± 1,13		0,944 <sup>a</sup>
- Indeks massa tubuh	26,28 ± 2,323		26,41 ± 1,762		0,980 <sup>a</sup>
- Jenis infertilitas					
Primer		26 (96,32)		28 (100) <sup>b</sup>	
Sekunder		1 (3,72)		0 (0,00)	

<sup>a</sup> Uji Mann Whitney

<sup>b</sup> Chi square

Analisis menunjukkan bahwa perbedaan umur tidak bermakna ( $p=0,186$ ), indeks massa tubuh tidak bermakna ( $p=0,980$ ), perbedaan lama infertilitas tidak bermakna ( $p=0,944$ ). Karakteristik subyek pada kedua kelompok adalah sama.

## 5.3. Diameter dan jumlah folikel hari ke-8 dan 12 pada kelompok CC dan letrozol

Pada penelitian ini didapatkan adanya perbedaan bermakna rerata diameter folikel antara kelompok CC dan kelompok letrozole baik pada hari ke-8 maupun hari ke-12 siklus haid (keduanya dengan nilai  $p<0,005$ ). Rerata diameter folikel pada kelompok CC lebih besar daripada kelompok letrozole baik pada hari ke-8 maupun hari ke-12 siklus haid. Pada kelompok CC, diameter folikel telah mencapai ukuran 18-25 mm sejak hari ke-8 dan bahkan melebihi 25 mm pada hari ke-12 siklus haid. Perbedaan diameter folikel dan frekuensi folikel hari ke-8 dan 12 siklus haid antara kedua kelompok ditampilkan pada Tabel 4.

**Tabel 4. Perbedaan diameter folikel terbesar dan kategori jumlah folikel pada hari ke-8 dan 12 siklus haid pada kelompok CC dan letrozole**

Variabel	CC (n=27)	n(%)	Letrozole (n=28)	n(%)	<i>p</i>
Diameter folikel (mm)					
- Hari ke-8	21,0 ± 1,95		14,3 ± 2,07		0,0001 <sup>a</sup>
- Hari ke-12	28,8 ± 2,56		22,1 ± 1,96		
Kategori jumlah folikel					
- Hari ke-8					
*) Tunggal		0 (0,0%)		5 (17,9%)	0,067 <sup>b</sup>
*) Multipel		27 (100,0%)		23 (82,1%)	
- Hari ke-12					
*) Tunggal		1 (3,7%)		28 (100%)	0,0001 <sup>b</sup>
*) Multipel		26 (96,3%)		0 (0,00%)	

<sup>a</sup> Uji Mann Whitney

<sup>b</sup> Continuity Correction

Hasil uji Chi-square menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan proporsi kategori jumlah folikel pada hari ke-8 siklus haid antara kedua kelompok ( $p=0,067$ ). Namun terdapat kecendrungan bahwa proporsi folikel multipel lebih banyak terdapat pada kelompok CC (100%) dibanding pada kelompok letrozole (82,1%). Sedangkan pada hari ke-12 siklus haid, pada kelompok letrozole tidak lagi didapatkan folikel multipel (100%), berbanding sangat bermakna dibandingkan kelompok CC ( $p=0,0001$ ). Pada hari ke-12 siklus haid, pada kelompok letrozole telah mencapai ukuran folikel matur.

#### **5.4 Perbedaan jumlah folikel matur pada hari ke-8 dan 12 siklus haid pada kelompok CC dan letrozole**

Hasil uji Chi-square membuktikan adanya perbedaan bermakna proporsi kategori folikel matur pada hari ke-8 di antara kelompok CC dan letrozole ( $p=0,0001$ ). Proporsi folikel matur multipel pada kelompok CC (81,5%) jauh lebih

besar dibanding kelompok letrozole (0,00%). Karena pada hari ke-8 siklus haid, hanya terdapat 2 subyek yang mencapai ukuran folikel matur pada kelompok letrozole dan berupa folikel tunggal. Demikian juga halnya pada hari ke-12 siklus haid dimana proporsi folikel matur multipel pada kelompok CC jauh lebih besar (96,3%) dibanding (0,0%) pada kelompok letrozole. Seluruh subyek (100%) pada kelompok letrozole didapatkan folikel matur tunggal. Perbedaan proporsi jumlah folikel matur pada hari ke-8 dan 12 siklus haid, ditampilkan pada Tabel 5.

**Tabel 5. Perbedaan kategori jumlah folikel matur hari ke-8 dan 12 siklus pada kelompok CC dan letrozole**

Variabel	CC (n=27) n (%)	letrozole (n=28) n (%)	<i>p</i>
Kategori jumlah folikel matur			
- Hari ke-8			
*) Folikel matur tunggal	5 (18,5%)	2 (7,1%)	0,0001 <sup>a</sup>
*) Folikel matur multipel	22 (81,5%)	0 (0,0%)	
*) Belum matur	0 (0,0%)	26 (92,9%)	
- Hari ke-12			
*) Folikel matur tunggal	1 (3,7%)	28 (100,0%)	0,0001 <sup>a</sup>
*) Folikel matur multipel	26 (96,3%)	0 (0,0%)	
*) Belum matur	0 (0,0%)	0 (0,0%)	

<sup>a</sup> Continuity correction

### 5.5. Perbedaan hari terjadinya ovulasi pada kelompok CC dan letrozol

Sebagian besar subyek [18 (66%)] pada kelompok CC mengalami ovulasi di antara hari ke-12 dan 13 siklus haid dan 9 (34%) mengalami ovulasi di antara hari ke-12 dan 15 siklus haid. Sedangkan pada kelompok letrozole, sebagian besar [21 (77%)] mengalami ovulasi di antara hari ke-14 dan 15 siklus haid dan 7 (23%) mengalami ovulasi di antara hari ke 16 dan 17 siklus haid. Pada kedua kelompok tidak terjadi ovulasi sebelum hari ke-12 siklus haid. Kelompok letrozole baru mengalami ovulasi mulai hari ke-14 siklus haid. Seluruh subyek pada kedua kelompok mengalami ovulasi selama pengamatan dengan TVS serial hingga hari ke-

18. Perbedaan terjadinya hari ovulasi pada kedua kelompok ditampilkan pada Tabel 6.

**Tabel 6. Perbedaan hari terjadinya ovulasi pada kelompok CC dan letrozole**

Kelompok terapi	Hari terjadinya ovulasi			
	Sblm hari 12 (TVS hr 12) n (%)	Hari 12-13 (TVS hr 14) n (%)	Hari 14-15 (TVS hr 16) n (%)	Hari 16-17 (TVS hr 18) n (%)
CC (n=27)	0 (0,0%)	18 (66%)	9 (34%)	0 (0,0%)
Letrozole (n=28)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	21 (77%)	7 (23%)

### 5.6 Perbedaan kadar FSH, LH dan E<sub>2</sub> hari ke-3 siklus haid antara kelompok CC dan letrozole

Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna rerata kadar FSH dan LH pada hari ke-3 siklus haid (sebelum perlakuan/kadar hormonal basal) antara kelompok CC dan letrozole ( $p>0.05$ ). Namun untuk estradiol terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok ( $p=0,026$ ). Meskipun demikian kadar estradiol pada kedua kelompok masih termasuk dalam rentang normal kadar estradiol fase folikuler (30-100 pg/ml). Perbedaan kadar FSH, LH, dan estradiol pada hari ke-3 siklus (sebelum perlakuan/basal diperlihatkan pada Tabel 7).

**Tabel 7. Perbedaan kadar FSH, LH dan E<sub>2</sub> hari ke-3 siklus haid pada kelompok CC dan letrozole**

Variabel	CC (n=27)	Letrozole (n=28)	<i>p</i>
Kadar hormon hari ke-3			
- FSH (mIU/ml)	7,37 ± 1,2777	6,911 ± 1,456	0,216 <sup>a</sup>
- LH (mIU/ml)	7,48 ± 2,365	6,46 ± 1,788	0,277 <sup>b</sup>
- E <sub>2</sub> (pg/ml)	45,38 ± 11,247	61,15 ± 23,427	0,026 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> uji t tidak berpasangan

<sup>b</sup> uji Mann Whitney

### 5.7 Perbedaan kadar FSH, LH, E<sub>2</sub> pada hari ke-8 siklus haid pada kelompok CC dan letrozole

Dari penelitian ini didapatkan perbedaan yang bermakna rerata kadar FSH, LH dan E<sub>2</sub> hari ke-8 siklus haid pada kelompok CC dan letrozole (ketiga dengan nilai  $p < 0,005$ ). Didapatkan rerata kadar ketiga hormon tersebut pada hari ke-8 siklus haid lebih tinggi pada kelompok CC dibanding kelompok letrozole. Perbedaan kadar ketiga hormon pada hari ke-8 siklus haid ditampilkan pada Tabel 8.

**Tabel 8. Perbedaan kadar FSH, LH, dan E<sub>2</sub> pada hari ke-8 siklus haid pada kelompok CC dan letrozole**

Variabel	CC (n=27)	Letrozole (n=28)	<i>p</i>
Kadar hormon hari ke-8			
- FSH (mIU/ml)	36,95 ± 5,111	32,74 ± 5,997	0,0001 <sup>a</sup>
- LH (mIU/ml)	37,33 ± 3,967	10,26 ± 2,070	0,0001 <sup>b</sup>
- E <sub>2</sub> (pg/ml)	230,43 ± 42,961	87,61 ± 15,363	0,0001 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> uji Mann Whitney

<sup>b</sup> uji t tidak berpasangan

### 5.8 Perbedaan kadar FSH, LH, E<sub>2</sub> pada hari ke-12 siklus haid pada kelompok CC dan letrozole

Dari penelitian ini didapatkan perbedaan yang bermakna rerata kadar FSH, LH, dan E<sub>2</sub> pada hari ke-12 siklus haid pada kelompok CC dan letrozol (ketiganya dengan nilai  $p < 0,005$ ). Rerata kadar ketiga hormon tersebut di atas lebih tinggi pada kelompok CC dibanding kelompok letrozol. Selengkapnya ditampilkan pada Tabel 9.

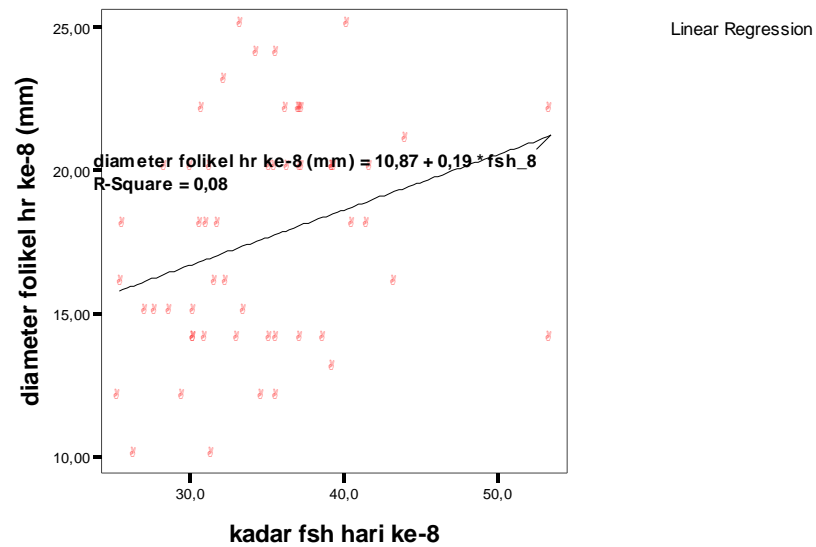
**Tabel 9. Perbedaan kadar FSH, LH, E<sub>2</sub> pada hari ke-12 siklus haid pada kelompok CC dan letrozole**

Variabel	CC (n=27)	Letrozole (n=28)	<i>p</i>
Kadar hormon hari ke-12			
- FSH (mIU/ml)	30,28 ± 3,08	12,86 ± 3,086	0,0001 <sup>a</sup>
- LH (mIU/ml)	47,32 ± 4,328	15,39 ± 2,581	0,0001 <sup>a</sup>
- E <sub>2</sub> (pg/ml)	327,88 ± 44,916	252,28 ± 66,687	0,0001 <sup>a</sup>

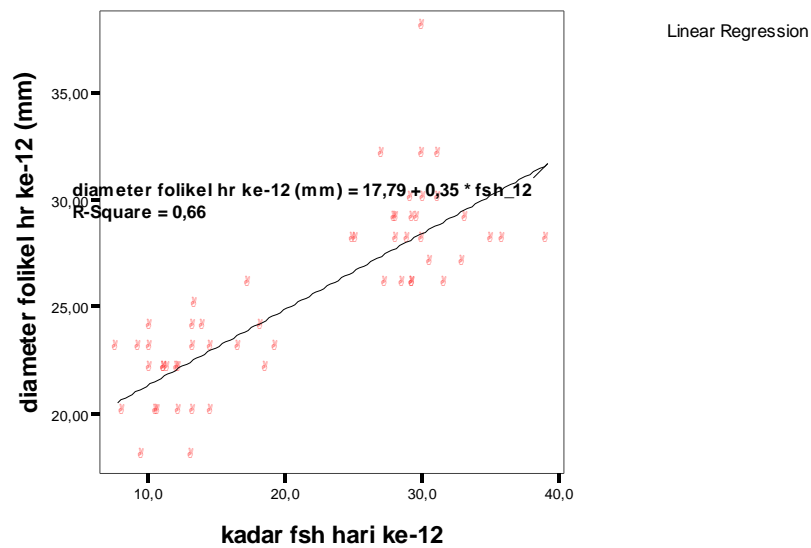
<sup>a</sup> uji t tidak berpasangan

### 5.9 Hubungan kadar FSH dengan diameter folikel

Pada penelitian ini dengan uji koreksi Rank Spearman membuktikan adanya hubungan yang bermakna antara kadar FSH hari ke-8 dengan diameter folikel hari ke-8 ( $p=0,013$ ;  $r=0,333$ ). Demikian juga terdapat hubungan yang bermakna antara kadar FSH hari ke-12 dengan diameter folikel hari ke-12 ( $p=0,0001$ ;  $r= 0,799$ ). Sedangkan hubungan antara kada FSH dan ukuran folikel hari ke-8 dan 12, ditampilkan pada Gambar 17 dan 18. Pada Gambar 17 dan 18 ditampilkan nilai *R square* yang menunjukkan besarnya peran variabel untuk menghasilkan *outcome*.



**Gambar 17.** Hubungan antara kadar FSH dan diameter folikel pada hari ke-8 siklus. Menunjukkan kadar FSH hari ke-8 siklus mempunyai peranan sebesar 80% terhadap terjadinya ukuran diameter folikel hari ke-8 siklus (R square=0.08)



**Gambar 18.** Hubungan kadar FSH dan diameter folikel hari ke-12 siklus. Menunjukkan peranan kadar FSH hari ke-12 siklus sebesar 66 % terhadap terjadinya ukuran diameter folikel hari ke-12 siklus (Rsquare=0,66).

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Selama ini pengelolaan wanita dengan infertilitas tak terjelaskan lebih diarahkan untuk menjalani inseminasi intra uterin hingga IVF. Kalau pun dilakukan stimulasi ovarium dengan CC, dianggap sebagai terapi empiris dan jika gagal, dilanjutkan dengan IVF<sup>18</sup>. Namun dengan dipublikasikannya sebuah hasil penelitian di Kanada pada 2001 yang menggunakan letrozole sebagai induksi ovulasi baik terhadap wanita dengan siklus anovulatoar, oligoanovulatoar, maupun ovulatoar, menimbulkan harapan baru, terutama bagi wanita dengan infertilitas tak terjelaskan dan wanita yang telah gagal dengan terapi CC, untuk mendapatkan pengelolaan yang relatif lebih murah, mudah, dan aman dibanding protokol inseminasi atau pun IVF<sup>4,7,11</sup>. Rendahnya angka keberhasilan kehamilan dengan adanya efek antiestrogen perifer terhadap endometrium dan lendir serviks oleh CC, semakin mendorong penelitian terhadap letrozole.

Pemeriksaan kadar FSH, LH, dan E<sub>2</sub> basal pada hari ke-3 siklus haid selain untuk mengetahui keadaan hormonal awal sebelum perlakuan, juga bermanfaat untuk menilai cadangan ovarium.

Pemeriksaan kadar FSH basal merupakan skrining untuk menilai cadangan ovarium. Pemeriksaan ini merupakan salah satu parameter yang telah lama digunakan untuk mengevaluasi cadangan ovarium. Telah banyak diteliti tentang hubungan kada FSH hari ke-3 dengan keluaran IVF. Kadar FSH serum meningkat seiring dengan penurunan fungsi ovarium<sup>55</sup>. Beberapa penelitian lain membuktikan bahwa kadar FSH basal merupakan prediktor yang lebih baik dibanding faktor usia, meskipun usia juga berpengaruh terhadap fekunditas<sup>21,56-58</sup>. Dari studi prospektif dan

meta-analisis lainnya disimpulkan bahwa kemampuan pemeriksaan FSH basal cukup baik untuk populasi dalam memprediksi respons ovarium yang buruk, namun kurang baik untuk memprediksi keberhasilan kehamilan<sup>59,60</sup>.

Kadar LH pada fase folikuler dapat memberi gambaran aktivitas mitotik sel-sel granulosa folikel. Normalnya LH tidak terdapat dalam cairan folikuler hingga pertengahan siklus. Jika terjadi peningkatan LH yang prematur di dalam sirkulasi dan cairan pre antral, maka aktivitas mitotik sel-sel granulosa akan berkurang, terjadi perubahan degeneratif, dan kadar androgen intrafolikular meningkat<sup>21</sup>.

Kadar estradiol fase awal folikuler memberikan informasi yang bermanfaat. Konsentrasinya lebih dari 75-80 pg/ml mencerminkan perkembangan folikuler lanjut yang merupakan ciri dari wanita dengan cadangan ovarium yang menurun<sup>61</sup>. Pada penderita dengan kadar FSH basal normal, pengukuran kadar estradiol basal dapat digunakan untuk memprediksi keberhasilan ovulasi dan jumlah oosit yang kurang. Pada penelitian lain disebutkan bahwa keberhasilan ovulasi berhubungan dengan kadar estradiol basal tetapi tidak berhubungan dengan *outcome* kehamilan<sup>62,63</sup>. Kadar estradiol basal bila dikombinasikan dengan kadar FSH basal dan usia, sangat bermanfaat untuk menentukan prognosis keberhasilan ovulasi. Hal ini penting untuk memberikan konseling pada penderita infertilitas dengan usia reproduksi yang lanjut<sup>64</sup>.

Berdasarkan pertimbangan hal tersebut di atas, maka kami juga melakukan pemeriksaan kadar FSH, LH, dan estradiol hari ke-3 siklus, untuk memperkirakan keberhasilan stimulasi ovarium, meskipun cadangan ovarium tidak merupakan objek yang diteliti.

Dari penelitian di Semarang pada 2008 tentang *clomiphene citrate challenge test* disimpulkan bahwa akurasi kategori kadar FSH hari ke-10 siklus lebih tinggi

dengan sensitivitas 100% dan spesifisitas 100% dibanding kategori kadar FSH hari ke-3 dengan sensitivitas 50,0% dan spesifisitas 90,2%<sup>65</sup>.

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan kadar FSH, LH, dan estradiol dan pemeriksaan TVS berikutnya pada hari ke-8 dan ke-12 siklus untuk menilai efek obat terhadap kadar hormon tersebut dan dihubungkan dengan maturasi folikel dan keberhasilan ovulasi. Pertimbangan pemeriksaan kadar hormonal pada hari ke-8 siklus adalah karena penelitian terdahulu didapatkan folikel multipel pada hari ke-7 dan akan menjadi folikel matur tunggal pada pertengahan siklus pada kelompok letrozole. Selain itu karena cepatnya onset dan singkatnya masa kerja letrozole yaitu akan terjadi supresi estrogen maksimal dalam 48-73 jam<sup>30,36</sup> dan akan dijumpai kadar letrozol di bawah kadar terapi setelah 3-4 kali waktu paruh (6-8 hari pemakaian obat terakhir). Pemeriksaan hari ke-12 siklus untuk menilai keadaan hormonal dan maturasi folikel pada pertengahan siklus.

Pada penelitian di Chili (2005) didapatkan rerata (simpang baku) perkiraan ovulasi pada kelompok letrozole terjadi pada 14,4 (1,4) hari. Pada penelitian di Kanada (2003) didapatkan perkembangan folikel matur terjadi pada hari ke-11 siklus. Dari penelitian di Swiss (2002) didapatkan ovulasi pada kelompok CC 14,7 hari. Penelitian di Kanada (2001) didapatkan ukuran folikel matur pada hari ke 11-19. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut di atas, dapat disimpulkan bahwa pada hari ke-12 dapat ditemukan folikel matur selama pemberian induksi ovulasi baik dengan CC maupun letrozole<sup>11</sup>. Hal ini yang menjadi pertimbangan lain dilakukannya pemeriksaan TVS pada hari ke-12 .

Penelitian yang membandingkan efektifitas CC dan letrozole untuk induksi ovulasi telah pernah dilakukan sebelumnya dengan subyek wanita infertil dengan ovulasi normal<sup>39,51,66</sup> serta wanita dengan infertilitas tak terjelaskan<sup>9,67</sup>. Penelitian ini

dilakukan terhadap subyek dengan infertilitas tak ter jelaskan, sehingga kemungkinan munculnya folikel matur folikel pada kelompok CC sangat tinggi.

Pada karakteristik subyek, peneliti menganalisis umur dan indeks masa tubuh. Walaupun kedua parameter tersebut tidak berpengaruh terhadap keberhasilan ovulasi pada kelompok letrozole<sup>68</sup>, namun kedua parameter tersebut berpengaruh terhadap keberhasilan ovulasi pada kelompok CC<sup>32,39</sup>. Lama infertilitas dapat mempengaruhi keberhasilan kehamilan (hal ini dihubungkan antara lain dengan faktor kualitas ovarium dan spermatozoa), namun tidak berpengaruh terhadap keberhasilan ovulasi. Pada penelitian ini didapatkan karakteristik umur, jenis infertilitas, lama infertilitas dan indeks masa tubuh pada kedua kelompok adalah sama.

Pada penelitian ini didapatkan kadar FSH dan LH tidak berbeda bermakna pada hari ke-3 siklus (Tabel 7). Kadar FSH dan LH hari ke-3 siklus pada kedua kelompok masih dalam rentang nilai normal fase folikuler awal (FSH: 3,2-10,0 mIU/ml, LH: 1,68-15 mIU/ml). Namun didapatkan kada estradiol yang lebih tinggi pada kelompok letrozole ( $61,15 \pm 23,427$ ) banding ( $45,38 \pm 11,247$ ). Meskipun demikian kadar estradiol pada kelompok letrozole tersebut masih termasuk dalam rentang nilai normal kadar estradiol pada fase folikuler awal berdasarkan nilai rujukan reagen dan metoda yang dipakai (30-100 pg/ml). Jika dihubungkan dengan kemampuan cadangan ovarium berdasarkan kadar FSH hari ke-3 yang  $< 12$  mIU/ml dan kadar estradiol yang tidak lebih dari 70-80 pg/ml serta kadar LH yang normal, maka dapat dikatakan cadangan ovarium kedua kelompok subyek adalah normal.

Pada penelitian ini didapatkan kadar FSH, LH, dan estradiol pada hari ke-8 siklus ketiganya lebih tinggi pada kelompok CC (Tabel 8). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan di Kanada (2002)<sup>11</sup>. Hal ini sesuai dengan mekanisme kerja CC yang karena struktur kimianya menyerupai estrogen hingga berikatan

dengan reseptor estrogen di hipofisis untuk jangka waktu yang lama, sehingga tidak timbul efek balik negatif terhadap hipofisis untuk mengurangi sekresi FSH dan LH. Hal ini tampak pula pengaruhnya terhadap jumlah dan ukuran folikel pada hari ke-8 siklus pada penelitian ini. Pada hari ke-8 siklus (Tabel 4) pada kelompok CC didapatkan rerata diameter folikel lebih besar pada kelompok CC ( $21,0 \pm 1,95$  banding  $14,3 \pm 2,07$ ). Pada kelompok CC ukuran folikel telah mencapai ukuran folikel matur ( $>17$  mm).

Pada penelitian ini dengan uji koreksi Rank Spearman membuktikan adanya hubungan yang bermakna antara kadar FSH hari ke-8 dengan diameter folikel hari ke-8 ( $p=0,013$ ;  $r=0,333$ ). Demikian juga terdapat hubungan yang bermakna antara kadar FSH hari ke-12 dengan diameter folikel hari ke-12 ( $p=0,0001$ ;  $r=0,799$ )

Pada penelitian ini didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna proporsi kategori jumlah folikel pada hari ke-8 siklus (Tabel 4). Pada kedua kelompok ditemukan folikel yang multipel. Hal ini sesuai dengan mekanisme pengaruh letrozole sebagai penghambat proses aromatisasi, sehingga kadar estradiol masih rendah hingga hari ke-8 akibatnya hipofisis masih mensekresi FSH dalam jumlah yang banyak untuk menstimulasi pembentukan folikel. Kadar estradiol akan meningkat kembali setelah hari ke-10 karena efek letrozole telah mulai berkurang. Dengan demikian pada kelompok letrozole akan didapatkan folikel yang multipel pada hari ke-7 dan biasanya akan menjadi folikel matur tunggal pada akhir fase folikuler<sup>32</sup>.

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar FSH, LH, dan estradiol pada hari ke-12 siklus, lebih tinggi pada kelompok CC (Tabel 12,  $p<0,005$ ). Hal ini sesuai dengan mekanisme kerja CC yang berikatan di reseptor estrogen lebih lama dibanding ikatan estrogen pada reseptornya serta efek CC yang lama karena masa

paruhnya lebih dari 2 minggu<sup>16,29,32</sup>. Keadaan ini berpengaruh pula terhadap jumlah folikel matur yang terbentuk pada hari ke-12 (Tabel 4). Pada penelitian ini didapatkan bahwa terjadi folikel matur multipel pada semua subyek kelompok CC (100%) dan semua subyek (100) pada kelompok letrozole didapatkan folikel matur tunggal. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan di Kanada<sup>16</sup>. Pada penelitian tersebut membandingkan kelompok letrozole dengan kelompok dengan siklus natural. Pada penelitian tersebut didapatkan jumlah folikel yang lebih banyak pada kelompok letrozole ( $2,0 \pm 0,9$  banding  $1,0 \pm 0,0$ ) dan ukuran folikel preovulasi yang lebih besar pada kelompok letrozole ( $23,8 \text{ mm} \pm 2,7$  banding  $19,3 \pm 2,1$ ). Penelitian tersebut menggunakan sampel wanita dengan infertilitas tak terjelaskan, namun dosis letrozole yang lebih tinggi 5 mg/hr dimana penelitian kami menggunakan letrozole 2,5 mg/hr. Hasil ini juga tidak sesuai dengan hasil penelitian di Semarang (2008)<sup>17</sup> dan dua hasil penelitian RCT di Kanada (2002) dan di Korea (2006)<sup>9,51,66,67</sup> dimana didapatkan tidak terdapat perbedaan bermakna dalam hal diameter folikel dan jumlah folikel matur pada kelompok CC dan letrozole. Pada penelitian di Semarang didapatkan diameter kelompok CC dibanding letrozole [ $21,65(3,58)$  banding  $19,80(7,03)$ ,  $p=0,3$  dengan uji t berpasangan] dan jumlah folikel matur tunggal [14 (80%) banding 13 (100%),  $p=0,09$  dengan uji Fischer's exact]<sup>17</sup>. Meskipun dosis dan cara pemberian CC dan letrozole sama dengan penelitian ini, namun subyek yang digunakan pada penelitian tersebut adalah wanita infertil dengan haid yang tidak teratur, yang merupakan petunjuk klinis sebagai infertilitas yang anovulatoar yang memungkinkan terjadinya folikel matur tunggal meskipun mendapat CC untuk induksi ovulasi. Pada penelitian yang di Kanada, dosis dan cara pemberian letrozole sama dengan penelitian ini. Pada penelitian pertama menggunakan sampel wanita infertil dengan siklus ovulasi. Namun pada penelitian

kedua dosis CC yang digunakan adalah 100 mg/hr sedangkan dosis dan cara pemberian letrozole sama. Sampel penelitian adalah wanita infertil. Sedangkan penelitian yang dilakukan di Korea, sampel wanita yang dipergunakan adalah wanita dengan *unexplain infertility* dan wanita infertil. Pada keseluruhan penelitian di Kanada dan Korea tersebut, distribusi wanita infertil dengan siklus anovulasi pada sampel tidak diketahui.

Hasil penelitian ini membuktikan hipotesis yang dikemukakan oleh seorang peneliti dari Kanada. Hipotesis tersebut mengemukakan bahwa CC bekerja sebagai kompetitif reseptor estrogen di sentral, sehingga kadar FSH akan meningkat. Pengaruh hambatan kompetitif reseptor estrogen yang disebabkan oleh CC masih berlangsung sampai fase proliferasi akhir hingga tidak dapat mengaktifkan mekanisme umpan balik negatif terhadap FSH sehingga terbentuk folikel matur multipel pada kelompok CC.

Pada penelitian ini didapatkan semua subyek (100%) pada kedua kelompok mengalami ovulasi (Tabel 6). Indikator keberhasilan ovulasi pada penelitian ini adalah berkurangnya satu folikel matur berdasar pemeriksaan TVS serial berselang satu hari, mulai hari ke-12 siklus. Pada kedua kelompok belum terjadi ovulasi pada hari ke-12 siklus. Pada kelompok CC terjadi ovulasi lebih awal, dimana sebagian besar subyek [18 (66%)] mengalami ovulasi antara hari ke 12-13 siklus dan sisanya 9 subyek (34%) mengalami ovulasi pada hari ke 14-15 siklus. Sedangkan pada kelompok letrozole mengalami ovulasi yang lebih lambat yaitu mulai hari ke-14-15 siklus. Pada kelompok letrozole didapatkan sebagian besar mengalami ovulasi pada hari ke-14-15 siklus, yaitu 21 subyek (77%). Sedangkan sisanya 7 subyek (23%) mengalami ovulasi pada hari ke-16-17 siklus. Hasil ini sedikit berbeda dibanding penelitian yang dilakukan di Semarang (2008)<sup>17</sup>. Dimana pada penelitian tersebut

menggunakan pemeriksaan kadar progesteron serum pada fase midluteal  $\geq 3$  ng/dl sebagai indikator keberhasilan ovulasi. Pada penelitian tersebut kesruhan subyek pada kelompok CC mengalami ovulasi, namun angka keberhasilan ovulasi pada kelompok letrozole adalah 90%. Meskipun demikian berdasarkan perhitungan statistik angka keberhasilan ovulasi kedua kelompok adalah sama.

Tidak didapat keluhan efek samping pada kelompok letrozole selama penelitian ini. Didapat satu subjek pada kelompok CC yang mengeluh pusing, mual dan muntah yang mengakibatkan pemberian obat dihentikan dan subyek dikeluarkan dari penelitian. Meskipun tidak termasuk variabel yang diukur dalam penelitian ini, namun saat hasil penelitian ini kami tulis, satu subjek dari kelompok letrozole melaporkan kehamilannya. Tidak ditemukan kehamilan pada kelompok CC.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa keberhasilan stimulasi ovarium pada kedua kelompok adalah sama. Pada kelompok CC didapatkan folikel matur multipel dan pada kelompok letrozole didapatkan folikel matur tunggal. Kadar FSH, LH, dan estradiol pada hari ke-8 dan 12 siklus lebih tinggi pada kelompok CC. Dengan demikian letrozole lebih sesuai dipilih untuk stimulasi ovarium pada wanita dengan *unexpalined infertility* jika diinginkan folikel matur tunggal dan dengan kadar hormonal yang lebih alami.

Kekuatan penelitian ini adalah merupakan uji analitik acak terkontrol buta berganda (*randomized controlled trial*). Kelemahan penelitian ini adalah tidak dihitung nilai *Kappa intraobserver* dan juga tidak menilai faktor perancu lain seperti kadar peptida (aktivin dan inhibin), serta faktor imunologis pada subyek. Selain itu, karena subyek yang digunakan adalah pasien rawat jalan, sehingga jam pengambilan sampel darah yang tidak percis sama, namun dibatasi hingga jam 8.30 WIB. Pengambilan sampel darah hanya satu kali sehingga dapat menjadi faktor perancu

untuk pemeriksaan hormonal, khususnya FSH. Masih diperlukan penelitian dengan pemberian obat lebih dari satu siklus dan pengamatan yang lebih lama untuk menilai keberhasilan kehamilan, serta pemeriksaan yang menyertakan penilaian kadar aktivin dan inhibin.

## **BAB 7**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **7.1 Simpulan**

1. Terdapat perbedaan rerata diameter folikel antara kelompok CC dan letrozole dimana pada hari ke-8 dan 12 siklus haid folikel kelompok CC lebih besar.
2. Pada kelompok letrozole didapatkan folikel matur tunggal pada hari ke-12 siklus haid sedangkan pada kelompok CC didapatkan folikel matur yang multipel.
3. Pada kelompok CC terjadi ovulasi lebih awal yaitu mulai pada hari ke-12 dan 13 siklus haid, sedangkan pada kelompok letrozole mulai terjadi ovulasi pada hari ke-14 dan 15 siklus haid.
4. Rerata kadar hormon FSH, LH, dan estradiol pada hari ke-8 dan 12 siklus haid lebih tinggi pada kelompok CC.

#### **7.2 Saran**

1. Stimulasi ovulasi pada wanita dengan infertilitas tak terjelaskan, relatif lebih aman menggunakan letrozole, dengan pertimbangan profil hormon dan jumlah folikel matur yang dihasilkan lebih sesuai dengan siklus alami, sehingga relatif lebih aman untuk institusi yang tidak memiliki sarana pengawasan yang memadai.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang menilai kadar aktivin, inhibin, dosis obat yang berbeda, serta siklus dan pengamatan yang lebih lama sehingga dapat menilai keberhasilan kehamilan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Lunenfeld B, Van Steirteghem A, Bertarelli Foundation. Infertility in the third millennium : implications for the individual, family and society: condensed meeting report from the Bertarelli Foundation's second global conference. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 317-26
2. Mitwally MF, Biljan MM, Casper RF. Pregnancy outcome after the use of an aromatase inhibitor for ovarian stimulation. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192: 381-6
3. Holzer H, Casper RF, Tulandi Togas. A new era in ovulation induction. *Fertil Steril* 2006; 85: 277-83
4. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition for ovarian stimulation: future avenues for infertility management. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002; 14: 255-63
5. Hughes E, Collins J, Vandekerckhove P. Clomiphene citrate for unexplained subfertility in women (Chocrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 4, 2004
6. Fuji S, Fukui A, Fukushi Y, Kagiya A, Sato S, Saito Y. The effects of clomiphene citrate on normally ovulatory women. *Fertil Steril* 1997; 68: 997-9
7. Mitwally MF, Casper RF. Use of an aromatase inhibitor for induction of ovulation in patients with an inadequate response to clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2001; 75: 305-9
8. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Fertil Steril* 2002; 77: 776-80
9. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition reduces gonadotropin dose required for controlled ovarian stimulation in women with unexplained infertility. *Hum Reprod* 2003; 18: 1588-97
10. De Ziegler D. The dawning of the non-cancer uses of aromatase inhibitors in gynecology. *Hum Reprod* 2003;18:1598-602
11. Casper RF, Mitwally MF. Review: Aromatase inhibitors for ovulation induction. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 760-71
12. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition: a novel of ovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Reprod technol* 2001;10:244-7
13. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibitor improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Fertil Steril* 2002;77:776-780
14. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibitors for the treatment of infertility. *Expert Opin Invest Drugs* 2003;12:353-71
15. Goswami SK, Das T, Chattopadhyay R, Sawhney V, Kumar J, Chaudhury K, Chakravarty BN et al. A randomized single-blind controlled trial of letrozole as a low-cost IVF protocol in women with poor ovarian response: a preliminary study. *Hum Reprod* 2004;19:2031-5
16. Cortinez A, Carvalho ID, Vantman D, Gabler F, Iniguez G, Vega M. Hormonal profile and endometrial morphology in letrozole-controlled ovarian hyperstimulation in ovulatory infertile patients. *Fertil Steril* 2005;83:110-5
17. Dewantiningrum J. Pengaruh pemberian clomiphene citrate atau letrozole terhadap folikel, endometrium, dan lender serviks pada wanita infertile

- dengan siklus haid tidak teratur [Tesis] Program Pendidikan Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi FK Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kariadi Semarang, 2008
18. Speroff L, Fritz MA. Female infertility. In *Clinical Gynecologic, Endocrinology and Infertility* 7th edition. Philadelphia:Lippincott Williams and wilkins;2005:p.1013-1213
  19. Healey S, Tan SL, Tulandi T, Biljan MM. Effects of letrozole on superovulation with gonadotropins in women undergoing intrauterine insemination. *Fertil Steril* 2003;80:1325-9
  20. Speroff L, Fritz MA. The ovary-embryology and development. In *Clinical Gynecologic, Endocrinology and Infertility* 7th edition. Philadelphia:Lippincott Williams and wilkins;2005:p.97-112
  21. Speroff L, Fritz MA. Regulation on the menstrual cycle. In *Clinical Gynecologic, Endocrinology and Infertility* 7th edition. Philadelphia:Lippincott Williams and wilkins;2005:p.187-233
  22. Haciski R. Monitoring of stimulated cycles. In: *Manual of Ovarian Induction*. Tunbridge Wells Kent: Anshan Ltd; 2005: p91-98
  23. Grunwald K, Rabe T, Runnebaum B. Physiology of menstrual cycle. In: *Manual on Assisted Reproduction*. Muenchen: Heidelberg Germany Springer; 2000: p32-39
  24. Bucket WM, Tan SL. In vitro maturation of oocytes. In: *Textbook Invitro Fertilization and Assisted Reproduction*. Toronto: Androver Hampshire, 2005: p32-39
  25. Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive aging. *Hum.Reprod Update* 2002; 8: 141-54
  26. Kurjak A, Kupesic S. Infertility. In *color Doppler, Gynecology and Infertility*. Seoul: Art-studio Azinovic-Medison; 1999: p18-34
  27. Haciski R, Monitoring of stimulated cycle. In: *Manual of Ovarian induction*. Tunbridge Wells Kent: Anshan Ltd; 2005: p91-98
  28. Grunwald K, Rabe T, Runnebaum B. Physiology of menstrual cycle. In: *Manual on Assisted reproduction*. Muenchen: Heidelberg Germany Springer; 2000: p32-39
  29. Bucket WM, Tan SL. In vitro maturation of oocytes. In: *Textbook of Onvitro Fertilization and Assisted Reproduction*. Toronto: Androver Hampshire, 2005: p32-39
  30. Scott RT Jr, Hofman GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1995; 63: 1-11
  31. McGinnis KT, Ginsburg KA. Induction of ovulation. In *Contemporary Therapy in Obstetrics and Gynenocology*. Philadelphia:W.B. Saunders company,2002:p.189-94.
  32. Speroff L, Fritz MA. Induction of ovulation. In *Clinical Gynecologic, Endocrinology and Infertility* 7th edition. Philadelphia:Lippincott Williams and wilkins;2005:p.1097-1132
  33. Homburg R. Clomiphene citrate-end of an era ? A mini review. *Hum.Reprod journal*. Available in : [www.humrep.com](http://www.humrep.com)
  34. Rostami HA, Lennard MS, Tucker GT and Ledger WL. Monitoring plasma concentration to individualize treatment with clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2004;81:1187-93
  35. Putra ID. Letrozole sebagai alternatif pemacu ovulasi. *MOGI* 2004;28:125-90

36. Casper RF. Letrozole : ovulation or superovulation ? *Fertil Steril* 2003;80:1335-9
37. Pierson RA. Ovarian imaging. In Kempers RD, Cohen J, Haney AF, Younger JB. *Fertility and Reproductive Medicine*. Netherlands; Elsevier science, 1998:p.85-99
38. Ophsahl MS, Robins ED, O'Connor DM, Scott RT, Fritz MA. Characteristics of gonadotropin response, follicular development and endometrial growth and maturation across consecutive cycles of clomiphene citrate treatment. *Fertil Steril* 2003;66:533-9
39. Fozan HA, Khadouri MA, Tan LS, Tulandi T. A randomized trial of letrozole versus clomiphene citrate in women undergoing superovulation. *Fertil Steril* 2004;82:1561-3.
40. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition reduces gonadotropin dose required for controlled ovarian hyperstimulation in women with unexplained infertility. *Hum Reprod* 2003;18:1588-97
41. Rostami HA, Lennard MS, Tucker GT and Ledger WL. Monitoring plasma concentration to individualize treatment with clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2004;81:1187-93
42. Bayar Ülkü. Et al. Letrozole vs clomiphene citrate in patients with ovulatory infertility. *Fertil Steril* 2006; 85: 1045-48
43. Homburg R, Weissglass L and Goldman J. Improved treatment for anovulation in polycystic ovarian disease utilizing the effect of progesterone on the inappropriate gonadotropin release and clomiphene response. *Hum Reprod* 1988;3:285-8
44. Mitwally MF, Casper RF, Diamon MP. The role of aromatase inhibitors in maliorating deleterious effects of ovarian stimulation on outcome of infertility treatment. Available at: [www.BioMedCentral.com](http://www.BioMedCentral.com)
45. Brosens J, Verhoeven H, Campoo R, Gianaroli L, Gordst S, Hazekamp J, et al. High endometrial aromatase P450 mRNA expression is associated with poor IVF outcome. *Hum Reprod* 2004;19:352-6
46. Mitwally MF and Casper RF. Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle stimulating hormone in poor responders. *Fertil Steril* 2002;77:776-80
47. Fischer SA, Reid RL, Van Vugt DA and Casper RFA. Randomized double blind comparison of the effects of clomiphene citrate and the aromatase inhibitor letrozole on ovulatory function in normal women. *Fertil Steril* 2002;78:280-5
48. Mitwally MF, Biljan MM, Casper RF. Pregnancy outcome after the use of an aromatase inhibitor for ovarian stimulation. *Am J Obstet and Gynecol* 2005;192:381-6.
49. Tourgemann DE. Ovulation induction is not the same as superovulation : the effect of selective estrogen receptor modulators and aromatase inhibitors. *Fertil Steril* 2003;80:1333-4
50. Mitwally MF, Casper RF. Single dose administration of the aromatase inhibitor, letrozole: a simple and convenient effective method of ovulation induction. *Fertil Steril* 2002;78:S94
51. Fatemi HM, Kolbianakis E, Tourney H, Camus M, Van Steirteghem AC and Devroey P. Clomiphene citrate versus letrozole for ovarian stimulation: a pilot study. *Reprod. Biomed Online* 2003; 7: 543-6

52. Stovell TG. Early pregnancy loss and ectopic pregnancy. In Berek JS . Novak's Textbook of Gynecology 13<sup>rd</sup> ed. California:Williams and Wilkins;2002;p.507-42
53. Homburg R, Insler V. Ovulation induction in prespective. Hum.Rep. Update 2002; 8: 449-462
54. Prescribing information Femara. Available at: [www.novartis.com](http://www.novartis.com)
55. Scott RT Jr, Hofman GE. Prognostic assesment of ovarian reserve. Fertil Steril 1995; 63 (1): 1-11
56. Levi AJ, Raynault MF, Bergh PA, Drews MR, Miller BT, Scott RT, Jr. Reproductive outcome in patients with diminished ovarian reserve. Fertil Steril 2001; 76: 666-9
57. Martin JSB, Nisker JA, Tumon IS. Future in vitro fertilization pregnancy potential of women with variable elevated day 3 follicle stimulating hormone levels. Fertil Steril 1996; 65: 1238-40
58. Ebbiary A, Lenton EA, Salt C. The significance of elevated basal follicle stimulating hormone in regularly menstruating infertile women. HumReprod 1994; 9: 245-252
59. Pearlston AC, Fournet N, Gambone JC, Pang SC, Buyalos RP. Ovulation induction in women 40 and older: the importance of basal follicle stimulating hormonelevel and chronological age. Fertil Steril 1992; 58
60. Van Rooij IA, De Jong E, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. High follicle-stimulating hormone levels should not necessarily lead to exclusion of subfertile patients from treatment. Fertil Steril 2004; 81: 1478-85
61. Bancsi LS, Broekmans FJ, Mol BW, Hobbema JD, te Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization; a meta-analysis. Fertil Steril 2003; 79: 1091-100
62. Evers JL, Slaats P, Land JA, Dumoulin JC, Dunselman GA. Elevated levels of basal estradiol-17 $\beta$  predict poor response in patients with normal basal levels of follicle-stimulating hormone undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril 1998; 69: 110-4
63. Frattarelli JL, Bergh PA, Drews MR, Shahara FI, Scott RT. Evaluation of basal estradiol levels in assisted reproductive technology cycles. Fertil Steril 2000; 74: 518-24
64. Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Basal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. Fertil Steril 1997; 68(2): 272-77
65. Toenggah Rahmawati. Clomiphene citrate challenge test pada wanita infertil umur 35 tahun ke atas [Tesis]. Program Pendidikan Dokter Spesiali-I Bagian Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang, 2008
66. Jee BC, Yup Ku S, Suh Suh C, Kim KC, Lee WD, Kim SH. Use of letrozole versus clomiphene citrate combined with gonadotropin in intrauterine insemination cycles: a pilot study. Fertil Steril 2006; 85: 1774-7
67. Sammour A, Biljan MM, Tan SL, Tulandi. Prospective randomized trial comparing the effects of letrozole (LE) and clomiphene citrate on follicular development, endometrial thicknes and pregnancy rate in patients undergoing super-ovulation prior to intrauterine insemination (IUI). Fertil Steril 2001; 76: S110

68. Elnashar AE, Fouad H, Eldosky M, Abelfagar N. Letrozole induction of ovulation in clomiphene citrate resistant polycystic ovary syndrome: responders and non responders. *Mid East Fertil Soc J* 2004; 2: 157-62
69. Body mass index. In: Wikipedia, the free encyclopedia. Available at: URL: [http://en.wikipedia.org/wiki/image/body\\_mass\\_index\\_chart.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/image/body_mass_index_chart.svg)
70. Product informations from reagens for FSH, LH, and estradiol assay. General biologicals corporation, Taiwan, R.O.C
71. Noerpramana NP. Model sitasi dan penulisan daftar pustaka dalam artikel ilmiah biomedik. Bagian Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang
72. Noerpramana NP. Sistem Vancouver cara untuk menyeragamkan penulisan dan penunjukan rujukan pada majalah ilmu kesehatan. Bagian Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang
73. Noerpramana NP. Overview penelitian. Bagian Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang

