

**PENAMBAHAN ETINIL ESTRADIOL PADA  
INDUKSI OVULASI MENGGUNAKAN  
KLOMIFEN SITRAT**

**PENGARUH TERHADAP NILAI RHEOLOGI LENDIR SERVIKS  
DAN KETEBALAN ENDOMETRIUM**

**TESIS**

**Program Studi  
MAGISTER ILMU BIOMEDIK**



**RADIUS ADINEGARA  
G4A002113**

**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
DAN  
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I  
OBSTETRI GINEKOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2006**

## TESIS

# PENGARUH PENAMBAHAN ETINIL ESTRADIOL PADA INDUKSI OVULASI MENGGUNAKAN KLOMIFEN SITRAT TERHADAP NILAI RHEOLOGI LENDIR SERVIKS DAN KETEBALAN ENDOMETRIUM

Diajukan oleh:

**Radius Adinegara**  
G4A002113

Telah disetujui oleh:

Pembimbing

(1) Prof. dr. Noor Pramono MMedSc SpOG(K)  
SpOG(K)  
NIP. 130345800

(2) dr. Bambang Wibowo  
NIP. 140221586

Mengetahui

Ketua Program Studi Obstetri Ginekologi  
Biomedik

Ketua Program Magister Ilmu

dr. Hartono Hadisaputro SpOG(K)  
NIP. 140067785

Prof. dr. H. Soebowo, SpPA(K)  
NIP 130352549

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmatNya kami dapat menyelesaikan tesis dengan judul “ Pengaruh penambahan etinil estradiol pada induksi ovulasi menggunakan klomifen sitrat terhadap nilai rheologi lendir serviks dan ketebalan endometrium”. Tesis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran dan Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang.

Banyak sekali pihak yang telah berkenan membantu dalam menyelesaikan penulisan ini, sehingga pada kesempatan ini penulis menghaturkan ucapan terima kasih dan penghormatan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Rektor Universitas Diponegoro yang memberi kesempatan kepada siapa saja yang berkeinginan untuk meningkatkan ilmu pengetahuan
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang telah memberi kesempatan untuk mengikuti pendidikan spesialisasi.
3. Direktur Utama RS Dr. Kariadi Semarang beserta staf yang telah memberi kesempatan dan kerjasama yang baik selama mengikuti pendidikan spesialisasi.
4. Dr. Suharsono, SpOG(K) selaku Ketua Bagian/SMF Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi wawasan, arahan dan bimbingan dalam menyelesaikan studi dan penyusunan tesis ini.

5. Dr. Hartono Hadisaputro, SpOG(K) selaku Ketua Program Studi PPDS I Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran serta memberikan arahan, dorongan dan semangat dalam menyelesaikan studi dan penyusunan tesis ini.
6. Prof. dr. H. Soebowo, SpPA(K) selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi pengarahan dan dukungan moril selama pendidikan.
7. Prof. dr. Noor Pramono, MMedSc, SpOG(K) dan dr. Bambang Wibowo, SpOG(K) selaku pembimbing I dan pembimbing II, yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi dorongan, motivasi dan arahan yang tidak putus-putusnya serta atas kesabarannya memberi bimbingan dalam penyusunan tesis ini.
8. Dr. Fadjar Siswanto, SpOG(K) yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing, memberi arahan, perhatian, dan referensi serta memberikan dukungan moril dalam penyusunan tesis ini.
9. Para Guru Besar dan staf pengajar di Bagian Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang sangat kami hormati, kami cintai dan kami banggakan, yang telah mendidik, membimbing selama kami menjalin pendidikan.
10. Rekan Residen PPDS I Obstetri Ginekologi Universitas Diponegoro, atas bantuan, kekompakan, setia kawan dan kerjasama yang selalu ada dalam suka dan duka selama menempuh pendidikan.

11. Bidan, paramedis RS Dr. Kariadi dan RS Telogorejo Semarang atas kerjasamanya selama ini.
12. Orang tua tercinta, Fadjar Tanoto dan Erna Abadi yang dengan penuh kasih sayang telah mengasuh, mendidik dan menanamkan rasa disiplin dan tanggung jawab serta memberikan dorongan, bantuan moril maupun material, sujud dan bakti kami haturkan dengan tulus hati.
13. Bapak Slamet Santoso dan Ibu Susanti, mertua tercinta yang dengan penuh kasih sayang memberikan dorongan semangat, bantuan moril maupun material, sujud dan bakti kami haturkan dengan tulus hati.
14. Istriku tercinta dr. Novianti serta kedua buah hati dan cintaku Agnes Margareta Tanoto dan Albert Christopher Tanoto yang begitu luar biasa dengan setia dan tabah mendampingi, memberi dorongan, semangat, pengorbanan dan senyuman selama menjalani pendidikan.

Kami menyadari bahwa tulisan ini masih terdapat kekurangan, oleh karena itu kami menerima dengan senang hati segala kritik yang membangun demi sempurnanya tesis ini.

Semoga tesis ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan dalam bidang obstetri dan ginekologi khususnya untuk pengelolaan penderita infertil dan semoga Tuhan selalu berkenan memberikan berkat dan rahmatNya kepada kita semua. AMIN.

Semarang, Maret 2006

Radius Adinegara

# **PENAMBAHAN ETINIL ESTRADIOL PADA INDUKSI OVULASI MENGUNAKAN KLOMIFEN SITRAT**

## **PENGARUH TERHADAP NILAI RHEOLOGI LENDIR SERVIKS DAN KETEBALAN ENDOMETRIUM**

### **ABSTRAK**

**Latar belakang:** Kломifen sitrat merupakan obat pilihan untuk pengobatan tahap awal pada gangguan ovulasi. Mekanisme kerja kломifen sitrat terutama sebagai antiestrogen untuk menginduksi ovulasi, namun efek antiestrogenik tersebut juga mempengaruhi organ perifer sehingga kualitas dan kuantitas lendir serviks memburuk dan ketebalan endometrium berkurang. Hal ini yang menerangkan adanya suatu diskrepansi yaitu walaupun angka ovulasi cukup tinggi, namun angka kehamilan relatif rendah. Salah satu usaha mengimbangi efek antiestrogenik adalah menggunakan sediaan estrogen secara sekuensial dalam siklus induksi ovulasi. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan etinil estradiol terhadap nilai rheologi lendir serviks dan ketebalan endometrium pada penderita yang diinduksi ovulasi dengan kломifen sitrat.

**Metode:** Rancangan penelitian adalah uji klinis acak terkontrol. Penelitian dilakukan di Klinik Fertilitas Endokrinologi dan Reproduksi RS Dr. Kariadi dan RS Telogorejo Semarang mulai bulan April sampai Oktober 2005. Didapatkan 32 subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi. Subyek penelitian tersebut dibagi secara acak dalam kelompok perlakuan dan kontrol masing-masing terdiri dari 16 subyek penelitian. Kelompok perlakuan mendapat kломifen sitrat 50 mg/hari selama 5 hari mulai hari ke-3 siklus menstruasi, kemudian dilanjutkan etinil estradiol 0,05 mg/hari selama 5 hari mulai hari ke-8. Sedangkan kelompok kontrol mendapatkan kломifen sitrat dosis yang sama, kemudian dilanjutkan dengan placebo. Pada hari ke-13 siklus menstruasi, dinilai rheologi lendir serviks serta ketebalan endometrium dengan USG transvagina.

**Hasil:** Karakteristik subyek penelitian yang meliputi usia, jenis dan lama infertilitas serta indeks massa tubuh, tidak berbeda antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ( $p>0,05$ ). Rerata jumlah nilai rheologi lendir serviks antara kelompok perlakuan ( $10,19\pm 1,22$ ) dan kontrol ( $9,38\pm 2,25$ ) tidak berbeda bermakna ( $p>0,05$ ). Sedangkan rerata ketebalan endometrium antara kelompok perlakuan ( $11,22\pm 2,0$ ) dan kelompok kontrol ( $8,25\pm 1,63$ ) berbeda bermakna ( $p<0,001$ ).

**Simpulan:** Penambahan etinil estradiol pada induksi ovulasi menggunakan kломifen sitrat meningkatkan ketebalan endometrium, namun tidak meningkatkan nilai rheologi lendir serviks.

**Kata kunci:** kломifen sitrat, etinil estradiol, nilai rheologi lendir serviks, ketebalan endometrium

# ADDING ETINIL ESTRADIOL IN OVULATION INDUCTION WITH CLOMIPHENE CITRATE

## THE INFLUENCE TO CERVICAL MUCUS SCORE AND ENDOMETRIUM THICKNESS

### ABSTRACT

**Background:** Clomiphene citrate (CC) is the best initial treatment for ovulatory disorder, due to the high ovulation rate, simple, safe and its cost-effectiveness. CC acts as antiestrogen for ovulation induction, but the unavoidable adverse antiestrogenic effect in the endocervix and endometrium explain the discrepancy between the ovulation and conception rate caused by the quality and quantity of cervical mucus production reduction and limited endometrium proliferation. The administration of estrogen is one of the method to improve cervical mucus score and endometrium thickness. The objective of the study was to investigate whether the administration of etinil estradiol (EE) improve the cervical mucus score and endometrium thickness in CC treated patients.

**Method:** A randomized controlled trial was conducted at Fertility Endocrinology and Reproduction Clinic of Dr. Kariadi Hospital and Telogorejo Hospital Semarang from April until October 2005. Thirty two patients were eligible for inclusion criteria and divided into 2 groups, the treatment group and the control group. The treatment group treated with CC 50 mg/day for 5 days began on day 3 of menstrual cycle, then on day 8, EE 0,05 mg/day was given daily for 5 days. The control group treated with CC 50 mg/day for 5 days began on day 3 of menstrual cycle and on day 8 , placebo was given for 5 days. On day 13, cervical mucus score was determined, and endometrium thickness were assessed by transvaginal ultrasound examination.

**Result:** There were no statistically significant differences on subjects age, type and duration of infertility, and body mass index ( $p>0.05$ ). There was no statistically significant difference in mucus cervical score between treatment group ( $10.19\pm 1.22$ ) and control group ( $9.38\pm 2.25$ ) ( $p>0.05$ ). There was significant difference in endometrium thickness between treatment group ( $11.22\pm 2.0$ ) and control group ( $8.25\pm 1.63$ ) ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** Administration of EE improve endometrium thickness in CC treated patients, although cervical mucus score was not improve significantly.

**Keywords:** clomiphene citrate, etinil estradiol, cervical mucus score, endometrium thickness

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN .....	iii
ABSTRAK .....	iv
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	ix

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

1.1. Latar belakang .....	1
1.2. Rumusan masalah .....	3
1.3. Tujuan penelitian .....	3
1.4. Manfaat penelitian .....	4
1.5. Keaslian penelitian .....	4

## **BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA**

2.1. Fisiologi ovulasi .....	6
2.2. Induksi ovulasi .....	11
2.3. Lendir serviks.....	12
2.3.1. Fisiologi lendir serviks.....	12
2.3.2. Biofisik dan biokimia lendir serviks .....	16
2.4. Endometrium .....	22
2.5. Infertilitas.....	24
2.6. Klomifen sitrat .....	26
2.6.1. Farmakologi .....	26

2.6.2. Mekanisme kerja .....	28
2.6.3. Indikasi .....	31
2.6.4. Efek samping .....	33
2.7. Etinil estradiol .....	36
2.7.1 Farmakologi .....	36
2.7.2 Mekanisme kerja .....	38
2.7.3 Indikasi .....	40
2.7.4 Efek samping .....	42
2.8 Kerangka teori .....	43
2.9 Kerangka konsep .....	44
<b>BAB 3 HIPOTESIS .....</b>	<b>45</b>
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>46</b>
4.1. Rancangan penelitian .....	46
4.2. Tempat dan waktu penelitian .....	46
4.3. Subyek penelitian .....	46
4.4. Perhitungan sampel .....	47
4.5. Proses penelitian .....	48
4.6. Alur penelitian .....	50
4.7. Variabel penelitian .....	51
4.8. Definisi operasional .....	51
4.9. Pengolahan dan analisis data .....	53
4.10. Etika penelitian .....	53

<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>54</b>
5.1. Karakteristik subyek penelitian .....	54
5.2. Nilai rheologi lendir serviks .....	55
5.3. Ketebalan endometrium .....	57
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>59</b>
<b>BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>64</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>65</b>
<b>LAMPIRAN</b>	

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. LATAR BELAKANG**

**Memiliki keturunan adalah harapan dari hampir semua pasangan suami istri. Namun sekitar 10-15% pasangan usia reproduksi mengalami infertilitas. Pihak laki-laki maupun wanita mempunyai prevalensi yang sama dalam hal etiologi infertilitas. Pada wanita, penyebab utama adalah gangguan ovulasi yaitu sekitar 30-40%, penyebab yang lain adalah kelainan tuba dan pelvis serta oleh penyebab yang tak dapat dijelaskan.**

1,2

Gangguan ovulasi dapat timbul akibat kelainan pada sentral, kelainan poros hipotalamus-hipofisis-ovarium ataupun kelainan pada ovarium sendiri. Salah satu usaha untuk mengobati gangguan ovulasi adalah tindakan induksi ovulasi. Pemilihan obat untuk induksi ovulasi harus dengan indikasi serta persyaratan yang jelas. Diantara berbagai obat induksi ovulasi, klomifen sitrat merupakan obat pilihan untuk pengobatan tahap awal sebagian besar wanita infertil dengan gangguan ovulasi. Pada keadaan tanpa faktor penyebab infertilitas yang lain, induksi ovulasi dengan klomifen sitrat sering berhasil mengembalikan fertilitas penderita. Klomifen sitrat merupakan preparat yang banyak digunakan dalam praktek sehari-hari, selain angka ovulasi cukup tinggi, juga pemakaiannya sederhana, aman dan murah dari segi biaya. Disamping sebagai pengobatan untuk

gangguan ovulasi, klomifen sitrat juga digunakan untuk pengobatan *unexplained infertility* serta dalam program inseminasi intra uterin.<sup>2,3</sup>

Klomifen sitrat merupakan suatu sediaan nonsteroid yang mempunyai sifat estrogenik dan antiestrogenik. Klomifen sitrat bekerja dengan cara berikatan dengan reseptor estrogen pada pusat maupun perifer. Pengaruhnya pada hipotalamus-hipofisis akan menghasilkan pengeluaran *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) yang selanjutnya menstimulasi pertumbuhan folikel di ovarium. Sedangkan pada tingkat perifer yaitu pada lendir serviks dan endometrium, efek antiestrogenik klomifen sitrat menyebabkan kualitas dan kuantitas lendir serviks berkurang<sup>4-10</sup> dan ketebalan endometrium menipis.<sup>11</sup> Hal ini menerangkan adanya suatu diskrepansi yaitu angka kehamilan relatif lebih rendah dibandingkan keberhasilan ovulasi setelah induksi ovulasi dengan klomifen sitrat.<sup>2,3</sup>

**Salah satu usaha untuk mengimbangi efek antiestrogenik dari klomifen sitrat adalah menggunakan sediaan estrogen. Mekanisme kerja hormon estrogen yang penting adalah kemampuannya untuk menambah konsentrasi reseptor intraseluler sehingga produksi lendir serviks meningkat dan terjadi perubahan morfologi endometrium. Penelitian menunjukkan bahwa penambahan estrogen secara sekuensial pada induksi ovulasi dengan klomifen sitrat dapat memperbaiki kualitas maupun kuantitas lendir serviks<sup>12-17</sup> dan ketebalan endometrium.<sup>18,19</sup> Penambahan estrogen tersebut tidak menekan maturasi folikel.<sup>19,20</sup> Sedangkan penelitian lain tidak mendapatkan hasil yang berbeda antara penambahan estrogen dengan tanpa penambahan estrogen.<sup>21-24</sup>**

**Pemberian etinil estradiol diharapkan dapat berperan untuk mengimbangi efek antiestrogenik dari klomifen sitrat, terutama terhadap kualitas dan kuantitas lendir serviks dan ketebalan endometrium. Klomifen sitrat dan estrogen untuk induksi ovulasi telah dilaporkan dalam beberapa penelitian, tetapi pengaruhnya terhadap kualitas dan kuantitas lendir serviks dan ketebalan endometrium masih bervariasi.**

## **1.2. RUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas, maka dirumuskan masalah penelitian: Apakah penambahan etinil estradiol pada induksi ovulasi menggunakan klomifen sitrat akan memperbaiki kualitas dan kuantitas lendir serviks dan ketebalan endometrium?

## **1.3. TUJUAN PENELITIAN**

### **1.3.1. Tujuan umum:**

Membuktikan apakah penambahan etinil estradiol pada klomifen sitrat mempengaruhi kualitas dan kuantitas lendir serviks serta ketebalan endometrium pada wanita infertil.

### **1.3.2. Tujuan khusus:**

Menganalisis dan membedakan berapa volume, jenis viskositas, berapa panjang *spinnbarkeit*, dan jenis *ferning* lendir serviks serta berapa milimeter ketebalan endometrium pada wanita infertil yang mendapat tambahan etinil estradiol dengan klomifen sitrat dibandingkan tanpa etinil estradiol.

#### 1.4. MANFAAT

1. Manfaat Pendidikan/Keilmuan

Menambah wawasan dan memberikan landasan ilmiah untuk melengkapi pemberian induksi ovulasi pada wanita infertil

2. Manfaat Pelayanan Kesehatan

Meningkatkan angka keberhasilan pengelolaan kasus infertilitas

3. Manfaat Penelitian

Sebagai titik tolak penelitian lebih lanjut

#### 1.5. KEASLIAN PENELITIAN

Tahun 1986 di Jakarta, dilakukan penelitian pengaruh pemakaian gabungan klomifen sitrat dan estrogen eksogen (epimestrol) untuk induksi ovulasi. Metode yang digunakan adalah uji klinis tanpa randomisasi. Subyek penelitian sebanyak 28 wanita, dinilai panjang *spinnbarkeit* dan ukuran folikel. Hasilnya tidak ada pengaruh epimestrol terhadap perbaikan mutu lendir serviks dan tidak terdapat perbedaan ukuran folikel.<sup>21</sup>

Tahun 1990 di Virginia, dilakukan penelitian pengaruh estrogen eksogen terhadap lendir serviks pada penderita yang mendapatkan terapi klomifen sitrat. Metode yang digunakan adalah uji klinis acak terkontrol, dinilai sebanyak 48 siklus induksi ovulasi. Dibanding 2 jenis estrogen, yaitu *micronized estradiol* dan estrogen terkonjugasi serta plasebo. Hasilnya tidak terdapat perbedaan yang bermakna nilai rheologi lendir serviks antara ketiga kelompok.<sup>22</sup>

Tahun 1994 di New Jersey, dilakukan penelitian pengaruh klomifen sitrat dan etinil estradiol terhadap lendir serviks yang dinilai dengan uji pasca senggama (UPS), serta meneliti pengaruh etinil estradiol terhadap maturasi folikel. Subyek penelitian sebanyak 58 orang dengan metode uji klinis tanpa randomisasi. Hasilnya pemberian etinil estradiol meningkatkan persentase jumlah UPS yang baik dan etinil estradiol dosis 0,02 mg maupun 0,05 mg tidak menghambat maturasi folikel.<sup>20</sup>

Tahun 2000 di Roma, dilakukan penelitian pemakaian etinil estradiol untuk mengimbangi efek antiestrogenik klomifen sitrat pada penderita yang menjalani inseminasi intra uterin. Metode yang digunakan adalah uji klinis acak tersamar ganda, dengan jumlah subyek penelitian 64 orang. Intervensinya adalah secara acak diberi terapi klomifen sitrat saja dibandingkan klomifen sitrat ditambah etinil estradiol. Luaran yang dinilai adalah jumlah folikel, indeks pulsatilitas arteri, tebal endometrium dan angka kehamilan. Hasilnya terdapat perbedaan bermakna tebal endometrium antara kedua kelompok, dan tidak terdapat perbedaan bermakna antara jumlah folikel, kadar estradiol dan indeks pulsatilitas arteri. Kesimpulannya adalah etinil estradiol dapat mengimbangi efek buruk klomifen sitrat pada ketebalan endometrium, dan dapat memberikan kontribusi untuk angka kehamilan yang lebih tinggi.<sup>18</sup>

Penelitian yang akan dilakukan ini menggunakan metode uji klinis terkontrol dengan randomisasi dan dilakukan penilaian terhadap nilai rheologi lendir serviks serta ketebalan endometrium antara kelompok perlakuan dan kontrol.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

## 2.1. FISILOGI OVULASI

Dalam kehidupan seorang wanita, diperkirakan ovarium mengandung 300.000 sel germinal yang akan menjadi folikel dan hanya sekitar 400-500 folikel yang akan mengalami ovulasi sampai usia menopause. Perkembangan folikel merupakan proses yang dinamik yang berlangsung mulai dari menarke sampai menopause. Untuk terjadinya ovulasi, folikel berkembang dari folikel primer, sekunder dan terakhir menjadi folikel de Graaf. Untuk pertumbuhan dan pematangan folikel serta terjadinya ovulasi, diperlukan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH). Dari hipotalamus dikeluarkan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) yang akan merangsang sintesis maupun sekresi FSH dan LH di hipofisis.<sup>2,25</sup>

Pada awal setiap siklus menstruasi, terjadi pemilihan folikel dan FSH akan menstimulasi perkembangan folikel pada kedua ovarium. Pada hari ke-6 atau ke-7 siklus ovulatorik, sebuah folikel terseleksi untuk menjadi folikel dominan. Pertumbuhan folikel dominan tersebut berlanjut disertai replikasi sel granulosa, akumulasi cairan dalam folikel dan peningkatan produksi estradiol, yang semuanya dipengaruhi oleh FSH. Folikel lain yang tidak terseleksi mengalami degenerasi. FSH akan memicu pematangan folikel sampai menjadi folikel de Graaf. Estrogen yang tinggi akan merangsang pengeluaran LH, yang pada lukisan grafik dikenal sebagai puncak LH. Puncak LH terjadi akibat adanya rangsangan hormon estrogen terhadap hipofisis.<sup>25</sup>

Untuk terjadinya ovulasi diperlukan gonadotropin dan estrogen. Ovulasi baru dapat terjadi bila cairan folikel tersebut mengandung kadar estrogen yang

tinggi. Sinyal untuk terjadinya ovulasi justru datangnya dari folikel itu sendiri dengan adanya rangsangan estrogen terhadap hipofisis. Gonadotropin hanya memicu proses pembentukan estrogen, dan estrogen inilah yang kelak menentukan perlunya ovulasi atau tidak. Estrogen akan memberikan sinyal kepada hipofisis untuk segera mengeluarkan LH.<sup>25,26</sup>

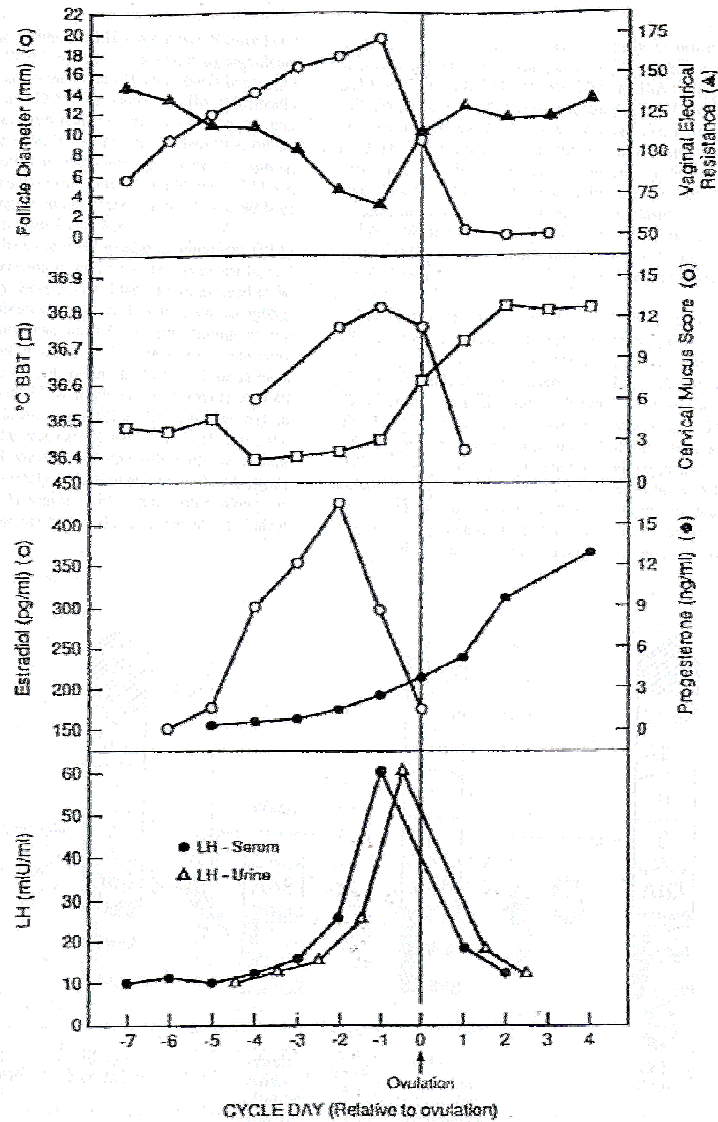
Perkembangan folikel sangat tergantung pada rasio FSH/LH di dalam folikel itu sendiri. Jika FSH lebih tinggi daripada LH, folikel dapat terus tumbuh, karena FSH dapat mengubah androgen menjadi estrogen melalui enzim aromatase. FSH yang rendah tidak dapat mengubah androgen menjadi estrogen, sehingga kadar androgen dalam cairan folikel meningkat. Jika LH lebih tinggi daripada FSH, maka LH yang tinggi ini akan memicu sintesis androgen di sel-sel teka, sehingga ditemukan kadar androgen yang relatif tinggi di dalam cairan folikel. Androgen yang tinggi ini akan menghambat pematangan folikel yang pada akhirnya menyebabkan folikel menjadi atresia.<sup>3,26</sup>

Tiga hari setelah ovulasi, terbentuklah organ endokrin baru yang disebut korpus luteum. Korpus luteum merupakan organ tempat sintesis progesteron. Sintesis progesteron ini dipicu oleh LH. Pembentukan progesteron mencapai puncaknya pada hari ke-22 sampai ke-23 siklus haid.<sup>25</sup> Siklus menstruasi wanita normal antara 21-35 hari, terdiri dari fase folikuler selama lebih kurang 10-14 hari dan fase luteal sekitar 14 hari. Wanita dengan siklus menstruasi yang teratur umumnya terjadi siklus yang berovulasi.<sup>25</sup>

Syarat utama dari berhasilnya konsepsi adalah ovulasi, maka terjadinya ovulasi harus diketahui sebagai bagian dari dasar pengelolaan penderita infertil.

Untuk mengetahui terjadinya ovulasi terdapat beberapa cara yaitu: pengukuran suhu basal badan, menilai kadar progesteron serum pada pertengahan fase luteal, memantau *Luteinizing Hormone*, biopsi endometrium serta pemantauan dengan ultrasonografi (Gambar 1).<sup>1,3</sup>

Pengukuran suhu basal badan masih memegang peranan penting dalam klinik untuk menilai fungsi ovarium dan merupakan metode yang paling murah dan sederhana dalam mendeteksi ovulasi. Pengukuran suhu basal badan dilakukan setiap pagi saat terjaga dari tidur dan belum melakukan aktivitas. Peningkatan suhu sekurang-kurangnya 0,4°C menandakan terjadinya siklus ovulatorik. Peningkatan suhu tersebut terjadi segera setelah ovulasi disebabkan oleh pengaruh termogenik dari progesteron terhadap pusat pengaturan panas di hipotalamus dengan perantaraan meningkatnya sekresi norepinefrin yang terjadi sekunder akibat meningkatnya kadar progesteron plasma yang mencapai nilai >4 ng/ml. Siklus haid ovulatorik ditandai dengan kurve bifasik, sedangkan anovulatorik ditandai dengan kurve monofasik.<sup>1</sup>



Gambar 1. Skema siklus ovulasi dengan berbagai metode pemantauan ovulasi<sup>29</sup>

Terjadi sekitar 3-12% kesalahan pengukuran suhu basal badan, dimana hasil pengukuran menunjukkan kurve monofasik tetapi terjadi ovulasi. Pengukuran suhu basal badan untuk mendeteksi ovulasi pada siklus induksi ovulasi dibandingkan dengan metode lain yang lebih canggih seperti pemeriksaan kadar LH menunjukkan

hasil yang sebanding, dimana metode canggih yang lebih mahal tidak meningkatkan angka keberhasilan konsepsi.<sup>26-28</sup>

Peningkatan kadar progesteron serum pada pertengahan fase luteal secara tidak langsung membuktikan terjadinya ovulasi. Kadar serum progesteron >4 ng/ml (>10 nmol/L) memastikan adanya ovulasi. Pengukuran dilakukan pada pertengahan fase luteal yaitu hari ke-21 sampai ke-23 dari siklus menstruasi 28 hari. Selain hormon progesteron, penilaian hormonal lain juga dapat dilakukan yaitu menilai puncak *Luteinizing Hormone*. Penilaian ini merupakan suatu metode yang akurat untuk memprediksi ovulasi. Ovulasi terjadi sekitar 10-12 jam setelah puncak LH. Penilaian LH dapat dilakukan melalui urine.<sup>1,3,29</sup>

Dengan alat ultrasonografi dapat dilihat pertumbuhan folikel dan saat terjadinya ovulasi. Ovulasi umumnya terjadi bila ukuran folikel mencapai 21-23 mm. Folikel yang akan pecah dapat dinilai sehingga induksi ovulasi dan inseminasi dapat dilakukan dengan lebih tepat dan sempurna.<sup>25</sup> Sedangkan menentukan ovulasi dengan metode biopsi endometrium saat ini jarang dikerjakan lagi setelah tersedianya sarana pemeriksaan hormonal dan ultrasonografi. Gambaran endometrium merupakan bayangan cermin dari pengaruh berbagai hormon ovarium. Jika ingin mengetahui tentang adanya ovulasi, maka waktu yang terbaik untuk melakukan biopsi adalah pada fase sekresi 5-7 hari sebelum haid berikutnya. Pada siklus anovulatorik, endometrium tidak memperlihatkan aktivitas sekresi.<sup>3,25</sup>

## **2.2. INDUKSI OVULASI**

Induksi ovulasi merupakan suatu cara untuk memacu ovarium supaya menghasilkan ovum yang lebih baik dan diharapkan dapat menghasilkan oosit lebih banyak. Induksi ovulasi

selain dilakukan pada program teknologi reproduksi bantuan, juga dilakukan pada kasus *unexplained infertility* dan gangguan ovulasi yang biasanya telah dicoba dengan program senggama terencana terlebih dahulu sebelum dilanjutkan program teknologi reproduksi bantuan. Keadaan lain seperti gangguan ovarium karena hiperprolaktinemia dan defek fase luteal seringkali memerlukan induksi ovulasi untuk mengatasinya. Beberapa preparat digunakan untuk induksi ovulasi. Diantaranya klomifen sitrat, tamoxifen, dan hormon gonadotropin. Klomifen sitrat merupakan obat tahap awal untuk induksi ovulasi. Preparat ini sudah digunakan lebih 40 tahun dan banyak digunakan dalam praktek sehari-hari. Mula-mula klomifen sitrat digunakan untuk gangguan ovulasi, sekarang klomifen sitrat juga digunakan untuk pengobatan infertilitas yang tak ter jelaskan bersama-sama dilakukan inseminasi intra uterin.<sup>3</sup>

Tamoxifen adalah antiestrogen nonsteroid yang struktur kimianya serupa dengan dietil stilbestrol dan klomifen sitrat. Keuntungannya dibandingkan klomifen sitrat adalah dapat digunakan untuk defek fase luteal dan untuk lendir serviks yang abnormal. Hormon gonadotropin yang tersedia dalam bentuk FSH, hMG dan hCG serta rekombinannya mempunyai cara kerja langsung memicu ovarium. FSH murni dan hMG berfungsi memicu pertumbuhan folikel, sedangkan hCG yang berkhasiat menyerupai LH berfungsi memicu pelepasan ovum serta luteotropik. Induksi ovulasi tidak hanya digunakan untuk stimulasi pertumbuhan folikel saja, namun juga untuk inisiasi terjadinya ovulasi dan mensupport fase luteal.<sup>3</sup>

### **2.3. LENDIR SERVIKS**

Lendir serviks merupakan suatu campuran antara musin dan plasma serviks yang diproduksi terus menerus sepanjang kehidupan wanita, namun terdapat perubahan kuantitas dan komposisi selama berbagai fase kehidupan wanita. Manfaat utama dari lendir serviks adalah untuk lubrikasi saluran genitalia bagian bawah dan mencegah masuknya mikroorganisme ke dalam uterus. Selama usia reproduksi terjadi perubahan lendir serviks pada fase preovulasi sehingga spermatozoa dapat penetrasi ke dalam serviks untuk migrasi dan membuahi sel ovum. Sekresi lendir serviks yang abnormal dapat menyebabkan infertilitas dan gangguan yang lain seperti mukorea atau dispareunia.<sup>30</sup>

Biofisika dan biokimia lendir serviks sangat berpengaruh terhadap kemampuan spermatozoa untuk penetrasi dan bertahan hidup, yang merupakan faktor penting dalam fertilitas manusia. Lendir serviks adalah suatu struktur kompleks yang tidak homogen, dimana tidak semua jenis lendir serviks dapat dipenetrasi oleh spermatozoa.<sup>31</sup>

### **2.3.1. Fisiologi lendir serviks**

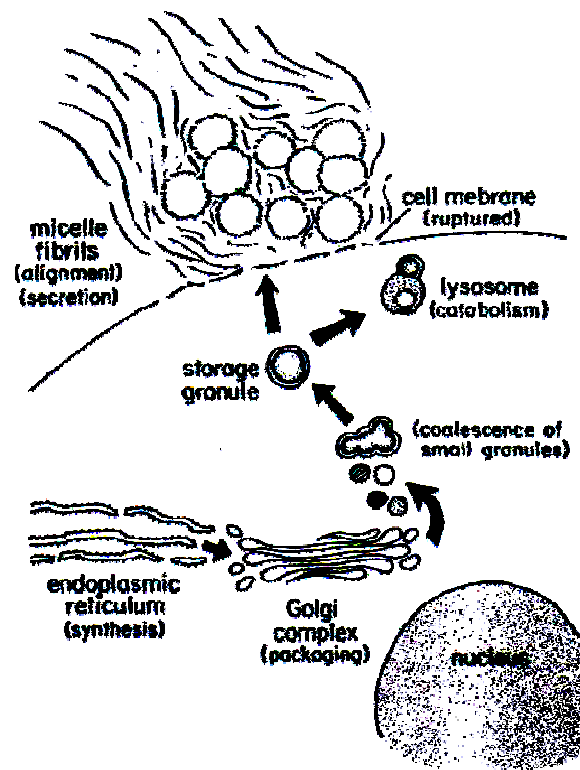
Lendir serviks dihasilkan oleh aktivitas biosintesis sel sekretorik di serviks. Lendir serviks mengandung 3 komponen utama, yaitu molekul mukus, air dan kandungan biokimia (natrium klorida, rantai protein dan enzim). Molekul mukus merupakan suatu glikoprotein yang dapat bergabung membentuk polimer atau jaringan 3 dimensi berupa gel.<sup>32</sup>

Lendir serviks dihasilkan oleh sel sekretorik di kanalis endoserviks. Pada kanalis endoserviks terdapat lebih kurang 100 kripte. Sel sekretorik di dalam kripte mensekresi lendir ke dalam lumen. Dalam keadaan normal, perubahan kuantitas dan kualitas lendir serviks tergantung dari pengaruh hormon ovarium yang dominan dalam fase siklus menstruasi. Kripte endoserviks wanita usia reproduksi mensekresi

20 – 60 mg lendir serviks per hari, dan meningkat sampai 700 mg perhari pada pertengahan siklus menstruasi. Sejumlah kecil cairan endometrium, tuba dan kemungkinan cairan folikel juga membentuk lendir serviks.<sup>33</sup>

Pada tingkat sub seluler yang merupakan tempat terjadinya sekresi oleh epitel serviks, granula-granula sekretorik bergabung membentuk kumpulan granula matur, kemudian bergerak ke permukaan sel untuk pelepasan bila ada stimulasi. Pelepasan granula tersebut dengan cara fusi antara membran granula dengan membran sel. Pada keadaan tidak ada stimulasi, granula akan difagosit oleh enzim lisosom di vakuola (Gambar 2).<sup>34</sup>

Sekresi lendir serviks dipengaruhi oleh hormon ovarium. Hormon estrogen menstimulasi produksi lendir serviks yang cair dalam jumlah yang banyak, sedangkan progesteron menghambat aktivitas sekresi sel epitel serviks. Kandungan fisik dan kimia tertentu dari lendir serviks menunjukkan variasi siklus dan perbedaan tersebut dipakai untuk mengamati secara tak langsung sejumlah hormon seks di sirkulasi, yang dapat digunakan untuk



**Gambar 2. Peristiwa tingkat sub seluler, sekresi oleh sel epitel serviks<sup>34</sup>**

mendeteksi adanya ovulasi. Selain itu perubahan siklik dalam kandungan lendir serviks juga mempengaruhi kemampuan penetrasi dan kemampuan hidup spermatozoa. Lendir serviks pre-ovulasi merupakan lendir serviks terbaik untuk penetrasi spermatozoa. Proporsi kandungan air dalam sekresi serviks secara langsung menentukan konsistensi dari lendir serta angka penetrasi spermatozoa.<sup>33</sup>

Plasma serviks merupakan 80%-90% dari total berat lendir serviks yang berasal dari transudasi cairan dari darah ke dalam kanalis servikalis. Estrogen diketahui meningkatkan sekresi musin dan plasma serviks dengan cara meningkatkan permeabilitas paraseluler, sehingga aliran cairan lebih banyak melalui ruang interseluler dan meningkatkan produksi lendir serviks.<sup>30</sup> Lendir serviks pada pertengahan siklus menstruasi, tidak hanya bersifat pasif dalam

mekanisme transportasi sperma, tetapi juga bersifat aktif, dimana molekul lendir serviks berbentuk sejajar pada pertengahan siklus sehingga spermatozoa dapat bermigrasi ke dalam kavum uteri.<sup>33</sup> Fenomena lendir serviks yang membentuk kanal tersebut tergantung estrogen. Jumlah kanal berhubungan dengan peningkatan kadar estradiol. Terapi dengan etinil estradiol dapat memicu pembentukan kanal pada wanita yang menderita amenorea primer . Kanalisasi dan *ferning* mempunyai karakteristik yang sama, dimana peningkatan kadar estradiol akan diikuti peningkatan kanalisasi dan derajat dari *ferning*.<sup>16</sup>

Selain itu pada serviks juga terjadi perubahan anatomi selama siklus menstruasi. Ostium eksterna melebar secara progresif selama fase proliferasi, mencapai maksimal ketika akan ovulasi atau saat ovulasi. Pada saat pelebaran maksimal tersebut, lendir serviks sering tampak mengalir dari ostium eksterna. Setelah ovulasi, diameter ostium serviks kembali mengecil, dan mukus menjadi sedikit dan kental. Perubahan lendir serviks tersebut tidak dijumpai pada wanita pra pubertas, post menopause, atau yang telah dikastrasi. Penambahan estrogen eksogen pada wanita yang dikastrasi akan memberikan efek lendir serviks seperti wanita normal pada pertengahan siklus.<sup>35</sup>

Produksi lendir serviks selain dipengaruhi oleh variasi siklik, juga dipengaruhi oleh faktor anatomi, misalnya tindakan krioterapi, konisasi, stenosis kanalis servikalis, dan servisitis akut.<sup>35</sup>

### **2.3.2 Biokimia dan biofisika lendir serviks.**

Lendir serviks umumnya mengandung sekitar 92% sampai 94% air. Jumlah lendir serviks terbanyak terjadi saat ovulasi, dan kandungan air meningkat hingga 98%. Sekresi dari serviks uteri manusia mengandung 1% garam organik, dimana yang terbanyak adalah natrium klorida (0,7%). Saat ovulasi, kandungan garam meningkat secara relatif sedangkan bahan organik lain berkurang, hal ini tampak sebagai fenomena *ferning*.<sup>33</sup>

Lendir serviks mengandung sekitar 1-3% protein dalam 2 bentuk dasar yaitu protein yang larut dan musin. Komponen utama dari protein yang larut terdiri dari albumin dan imunoglobulin. Kandungan protein dipengaruhi oleh variasi siklik, menurun pada pre-ovulasi dan meningkat pada post-ovulasi. Mucin lendir serviks merupakan suatu glikoprotein yang mengandung banyak karbohidrat. Glikoprotein tersebut berpengaruh terhadap viskositas lendir serviks dan berperan penting dalam dalam transportasi sperma.<sup>32</sup>

Hubungan komposisi musin lendir serviks dan perubahan rheologi lendir serviks serta transportasi sperma selama siklus reproduksi telah diteliti. Meskipun peneliti sebelumnya menunjukkan tidak ada perubahan komposisi asam amino dan karbohidrat selama siklus menstruasi, tetapi terdapat perubahan struktur rantai oligosakarida yang merupakan akibat dari kandungan air yang bervariasi dalam fase-fase siklus menstruasi atau merupakan akibat dari hormon steroid.<sup>33</sup>

Lendir serviks adalah suatu hidrogel, yaitu gel dimana komponen cairnya adalah air. Dalam gel terkandung komponen padat dan cair. Dalam hidrogel, air dan molekul kecil terdispersi dalam ruang yang dibentuk oleh komponen padat.<sup>33</sup> Dengan *micronuclear magnetic resonance spectroscopy* ditunjukkan sekresi dari

masing-masing sel kelenjar endoserviks yang mengandung komposisi yang heterogen. Lendir serviks karena terdiri dari 2 jenis komposisi yaitu komponen viskositas tinggi dan rendah.<sup>35</sup>

Komponen viskositas tinggi adalah suatu glikoprotein yang tidak larut dalam media air, dan berperan membentuk gel dari mukus serviks. Glikoprotein ini sama dengan lendir yang dihasilkan oleh epitel dari organ tubuh yang lain, yaitu mengandung fucomucin dan sialomucin. Kandungan glikoprotein terdiri dari 80% karbohidrat, 20% polipeptida. Jumlah glikoprotein bervariasi, mulai dari tinggi yaitu 7,5% dari berat lendir serviks pada fase luteal akhir dan rendah yaitu 1,3% pada pertengahan siklus.<sup>35</sup>

Perbedaan komposisi dari komponen viskositas tinggi ini disebabkan oleh pengaruh estrogen dan gestagen. Terdapat 2 jenis lendir yaitu tipe E dan tipe G. Lendir tipe G mengandung banyak persilangan dalam matriks gelnya daripada tipe E, hal tersebut membuat viskositas meningkat. Pemberian estrone sulfat setelah 6-8 jam akan menurunkan konsistensi dan meningkatkan *spinnbarkeit* dari lendir serviks.<sup>35</sup>

Komponen viskositas rendah dari lendir serviks adalah komponen yang terlarut dalam air di dalam hidrogel. Komponen tersebut terdiri dari elektrolit, protein yang terlarut, enzim, dan bahan organik. Kandungan air bervariasi secara siklik mulai dari rendah pada fase luteal sekitar 85% sampai tinggi yaitu 98% sesaat sebelum ovulasi.<sup>35</sup>

Struktur lendir serviks terdiri dari rantai makromolekul yaitu glikoprotein yang mengandung polipeptida rantai panjang dan sejumlah oligosakarida rantai

samping. Oligosakarida dapat berupa fukose, galaktose, glikosamin, galaktosamin dan asam sialik. Asam sialik mempengaruhi viskoelastik dari lendir serviks pada pertengahan siklus. Komposisi asam amino dan karbohidrat yang bervariasi dalam siklus menstruasi juga mempengaruhi lendir serviks.<sup>35</sup>

Rantai makromolekul ini membentuk struktur atau filamen fibrous yang lurus. Filamen-filamen berkelompok membentuk *micelle*. Fleksibilitas dari mukus berhubungan dengan jumlah air yang terdapat dalam ruang diantara *micelle*. Dalam pengamatan ditemukan air yang bermobilisasi antara makromolekul tersebut hampir menyerupai air bebas. Sebagai konsekuensi dari fleksibilitas ini, lendir serviks pertengahan siklus mempunyai karakteristik adanya pergerakan molekul.<sup>35</sup>

Makromolekul lendir serviks pada fase ovulasi berkelompok membentuk *micellar* yang terdiri dari  $10^2$  sampai  $10^3$  rantai makromolekul. Diameter masing-masing *micellar* lebih kurang  $1,5\mu$ . Kumpulan *micelle* ini berbentuk paralel menyerupai batang dari mukus sampai berukuran beberapa milimeter. Sedangkan pada fase luteal, kumpulan *micelle* terpecah, membentuk jaringan padat. Struktur fisika dari lendir serviks pada pertengahan siklus ini sangat penting untuk keberhasilan transportasi spermatozoa.<sup>35</sup>

Aliran merupakan karakteristik dari semua cairan. Rheologi adalah suatu ilmu yang mempelajari tentang aliran yang ditimbulkan oleh sistem dari cairan. Penilaian rheologi lendir serviks meliputi viskositas, elastisitas (*spinnbarkeit*), plastisitas, serta secara mikroskopis adanya struktur mikro yang mempengaruhi karakteristik aliran. Kriteria penilaian lendir serviks yang dibuat oleh Moghissi meliputi: volume, viskositas, *spinnbarkeit*, *ferning*, dan selularitas. Masing-

masing diberi nilai antara 0 – 3. Nilai lendir serviks yang baik, menguntungkan untuk penetrasi spermatozoa. Pada penelitian untuk melihat pengaruh penetrasi spermatozoa dalam lendir serviks, jenis pemeriksaan yang terutama berperan adalah volume, viskositas, *spinnbarkeit* dan *ferning*.<sup>36,37</sup>

Viskositas dipengaruhi oleh susunan molekul dan konsentrasi protein serta ion pada lendir serviks. Viskositas bervariasi selama siklus menstruasi, mulai dari viskositas tinggi pada sebelum menstruasi sampai viskositas rendah pada pertengahan siklus. Karena lendir serviks bukan suatu cairan murni atau homogen, maka viskositas tidak dapat diukur secara akurat. Viskositas merupakan faktor terpenting yang mempengaruhi penetrasi spermatozoa. Hambatan penetrasi spermatozoa pada lendir serviks pertengahan siklus kecil, sedangkan pada fase luteal, lendir serviks membentuk barier.<sup>37</sup>

*Spinnbarkeit* adalah kemampuan suatu cairan untuk dapat ditarik membentuk benang. Hal ini menunjukkan bentuk elastisitas lendir serviks. Untuk menilai *spinnbarkeit*, sampel lendir serviks ditaruh pada kaca objek, kemudian ditempelkan dengan kaca penutup, lalu diangkat. Panjang lendir serviks yang membenang diukur dalam sentimeter.<sup>37</sup>

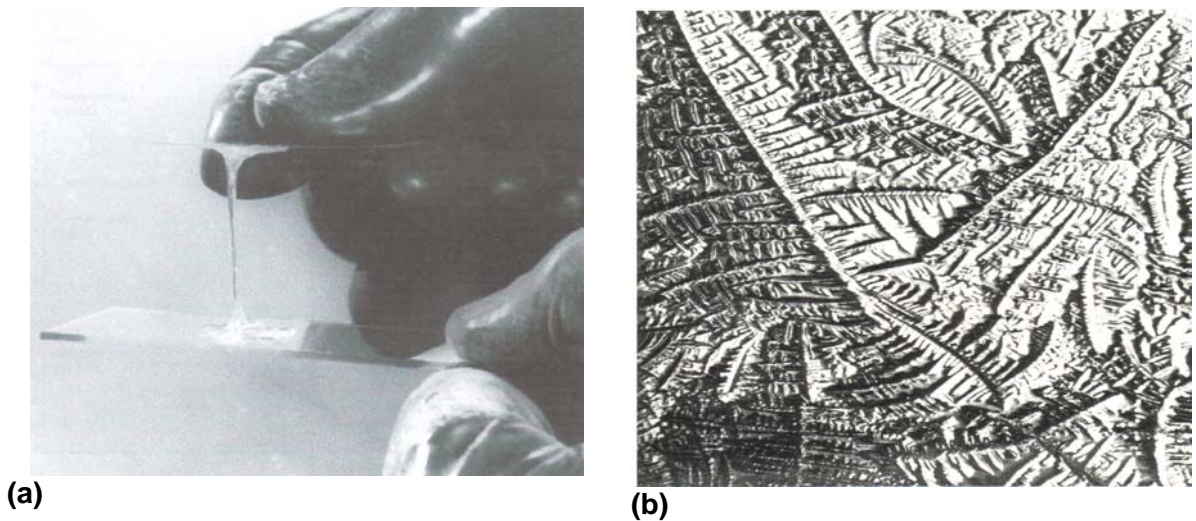
*Ferning* menunjukkan derajat dan pola kristalisasi yang diamati ketika lendir serviks mengering pada permukaan kaca obyek. Kristalisasi tampak menyerupai daun pakis. Derajat *ferning* dinilai dari cabang daun pakis primer, sekunder atau tersier.<sup>33,37</sup> *Ferning* merupakan gambaran dari kristal natrium klorida dan kalium klorida dengan jumlah optimumnya 1%-1,5% dari kandungan

organik. Bila kandungan organik terlalu tinggi (4%-6%) seperti pada wanita hamil, pola kristalisasi ini tidak muncul pada pemeriksaan lendir serviks.<sup>37</sup>

Selularitas adalah jumlah leukosit atau sel lain dalam lendir serviks yang dihitung secara mikroskopis dengan lapang pandang besar. Penilaian selularitas berdasarkan jumlah sel yang ditemukan, jumlah tersebut dikelompokkan menjadi 4 tingkatan, bila ditemukan lebih dari 20 sel dalam 1 lapang pandang besar, maka diperkirakan terdapat 1000 sel per mm<sup>3</sup> lendir serviks.<sup>37</sup> Pada penelitian ini, nilai selularitas tidak diikutsertakan dalam perhitungan.

Tabel 1. Penilaian rheologi lendir serviks<sup>37</sup>

Jenis Pemeriksaan	Hasil	Nilai
Volume	0 ml	0
	0,1 ml	1
	0,2 ml	2
	≥0,3 ml	3
Viskositas	Tebal, sangat kental	0
	Bentuk antara (kental)	1
	Agak kental	2
	Normal	3
<i>Spinnbarkeit</i>	< 1 cm	0
	1-4 cm	1
	5-8 cm	2
	>9 cm	3
<i>Ferning</i>	Tidak ada kristalisasi	0
	<i>Ferning</i> atipikal	1
	<i>Ferning</i> , cabang primer- sekunder	2
	<i>Ferning</i> , cabang tersier-kuartener	3
Selularitas	>20 sel	0
	11-20 sel	1
	1-10 sel	2
	0 sel	3



Gambar 3. (a) Pemeriksaan *spinnbarkeit* (b) Gambaran *ferning* cabang tersier dan kuartener<sup>38</sup>.

## 2.4. ENDOMETRIUM

Endometrium terbentuk dari mukosa bagian dalam dari duktus mulleri yang berfusi. Berperan penting dalam reproduksi dan mengalami perubahan secara siklik sebagai respon dari pola hormon estrogen dan progesteron siklus menstruasi.<sup>39</sup> Perubahan sekuensial dari endometrium berhubungan dengan siklus ovulasi yang menunjukkan terjadinya perubahan spesifik histologi dan fungsional yaitu kelenjar, vaskuler, dan komponen stroma dalam endometrium. Perubahan ini dapat dibagi menjadi beberapa fase yaitu endometrium pada menstruasi, fase proliferasi, fase sekresi serta fase persiapan untuk implantasi.

Secara morfologi endometrium dibagi menjadi lapisan fungsional pada duapertiga atas dan lapisan basalis pada sepertiga bawah. Fungsi lapisan fungsional adalah sebagai tempat implantasi blastokist dan oleh karena itu lapisan ini dapat mengalami proliferasi, sekresi dan degenerasi. Sedangkan lapisan basalis melakukan regenerasi endometrium setelah menstruasi dimana lapisan fungsional hilang. Fase proliferasi berhubungan dengan pertumbuhan folikel ovarium dan peningkatan hormon estrogen, akibatnya terjadi pertumbuhan endometrium. Kelenjar endometrium pada fase ini awalnya berbentuk tubuler yang sempit dan dilapisi sel epitel kolumner. Terjadi mitosis dan perubahan pseudostratifikasi sehingga kelenjar bertambah panjang dan berhubungan dengan segmen glanduler yang lain. Komponen stroma terdiri dari seluler yang padat pada saat menstruasi hingga seluler yang longgar pada akhir fase proliferasi. Pembuluh darah melalui stroma berbentuk spiral yang memanjang hingga ujungnya tepat di bawah membran epitelial dan membentuk jaringan kapiler yang longgar. Semua komponen jaringan yaitu kelenjar, sel stroma dan sel endotelial semuanya menunjukkan proliferasi

yang berkaitan dengan kadar estradiol puncak di sirkulasi dan konsentrasi maksimum reseptor estrogen di endometrium. Proliferasi ini ditandai oleh peningkatan aktivitas mitosis dan peningkatan sintesis DNA di nukleus serta sintesis RNA di sitoplasma, dimana kejadian tersebut paling intens pada lapisan fungsional yaitu duapertiga lapisan atas yang merupakan tempat implantasi blastokist.<sup>39</sup>

Ketebalan endometrium diukur dengan ultrasonografi transvaginal yaitu pada potongan antero-posterior. Pada fase proliferasi tampak 3 garis hiperekoik yaitu sebuah garis di tengah sebagai rongga endometrium, dikelilingi oleh 2 garis hiperekoik sebagai batas endometrium dan miometrium. Sedangkan pada fase sekretorik, endometrium lebih homogen hiperekoik dan gambaran tiga garis tidak terlihat lagi. Tebal endometrium meningkat dari 3-5 mm pada fase proliferasi menjadi 10 mm pada periovulasi dan mencapai 13 mm pada fase sekresi.<sup>40,41</sup> Ketebalan endometrium juga dipengaruhi oleh beberapa keadaan diantaranya faktor hormon ovarium, sindroma Asherman, serta keganasan endometrium.<sup>42</sup> Peningkatan ketebalan endometrium berhubungan dengan angka kehamilan yang lebih tinggi.<sup>42,43</sup> Ketebalan endometrium  $\geq 9$  mm merupakan prognosis yang baik untuk terjadinya kehamilan saat dilakukan *embryo transfer* pada program fertilitasi in-vitro.<sup>44</sup>

## 2.5. INFERTILITAS

Infertilitas adalah suatu keadaan dimana tidak didapatkan kehamilan pada pasangan suami istri yang melakukan senggama tanpa pelindung selama lebih dari 1 tahun.<sup>1,2</sup> Diperkirakan infertilitas terjadi pada 10-15% pasangan usia reproduksi. Pihak wanita yang berperan terhadap infertilitas sekitar 40-55%, pihak laki-laki sekitar 25-40% sedangkan 10% disebabkan oleh kedua pihak. Gangguan ovulasi merupakan penyebab utama infertilitas pada wanita yaitu sekitar 40%, penyebab yang lain adalah kelainan pada tuba dan pelvis sekitar 40%, kurang dari 10% adalah kelainan anatomis dan penyakit tiroid serta 10-15% oleh penyebab yang tak dapat dijelaskan.<sup>1,2</sup>

Penyebab gangguan ovulasi sangat banyak dan bervariasi, bila dimungkinkan terapi seharusnya ditujukan langsung pada penyebab yang mendasarinya. Berdasarkan letak kelainan, penyebab gangguan ovulasi dapat dikelompokkan menjadi kelainan pada sentral, kelainan mekanisme umpan balik dan kelainan lokal pada ovarium. Penyakit tiroid, tumor pada hipofisis, gangguan makan, kehilangan berat badan yang berlebihan, latihan yang berat, hiperprolaktinemia, sindroma polikistik ovarium, dan obesitas harus disingkirkan, tetapi seringkali penyebab anovulasi tidak dapat diketahui secara pasti.<sup>2</sup>

Pada umumnya klomifen sitrat digunakan sebagai pilihan awal untuk wanita dengan gangguan ovulasi yang disebabkan disregulasi hipotalamus dan hipofisis. Pada keadaan tersebut hipotalamus dan hipofisis masih dapat dipicu, namun fungsi poros hipotalamus-hipofisis-ovarium yang terganggu. Pada kelompok ini perdarahan fungsional masih terjadi dan bila penderita tersebut

amenorea, dengan uji progesteron hasilnya positif dan umumnya kadar FSH dan LH masih dalam batas normal.<sup>2</sup>

Usia wanita berperan penting, dengan meningkatnya usai menjadi tua, kualitas sel ovum berkurang sehingga angka keberhasilan untuk hamil berkurang. Sekitar 10-15 tahun sebelum menopause, terjadi peningkatan kehilangan folikel. Peristiwa dimulai ketika jumlah total folikel di ovarium hanya sekitar 25.000 folikel yaitu pada usia 37-38 tahun, dan terjadi peningkatan FSH serta penurunan inhibin. Perubahan ini mengakibatkan penurunan kualitas folikel.<sup>2</sup>

Berat badan dan perubahan pada berat badan mempengaruhi kesuburan wanita. Lemak subkutan mengandung enzim aromatase, sehingga androgen akan diubah menjadi estrogen. Estrogen yang tinggi akan menekan pengeluaran FSH dan meningkatkan pengeluaran LH. LH yang tinggi menekan aktivitas enzim aromatase sehingga androgen tidak dapat diubah menjadi estrogen, sehingga kadar androgen di dalam cairan folikel dan di dalam serum tinggi. Pada wanita yang obesitas ditemukan kadar testosteron plasma yang tinggi dan peningkatan rasio estron/estradiol sebanyak 2,5 (nilai normal 1,0) sedangkan *sex hormone binding globulin* (SHBG) rendah, keadaan ini akan menyebabkan atresia folikel. Wanita yang terlalu kurus akibat malnutrisi kronik mengalami gangguan pembentukan leptin dan lemak, akan menghambat pengeluaran FSH dan LH, sehingga terjadi anovulasi dan amenorea.<sup>3</sup>

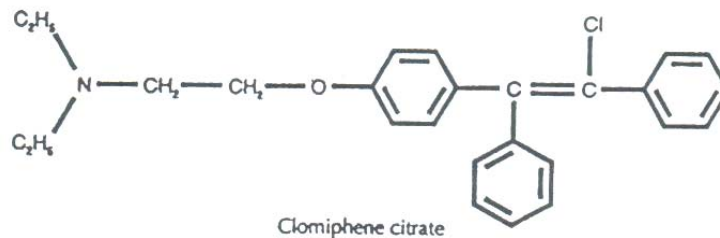
## 2.6. KLOMIFEN SITRAT

Klomifen sitrat merupakan terapi awal terpilih untuk sebagian besar wanita infertil karena anovulatorik. Pada percobaan klinis, terapi klomifen sitrat menunjukkan keberhasilan ovulasi pada 80% wanita, dan setengahnya mencapai kehamilan selama pengobatan.<sup>38,45</sup>

### 2.6.1. Farmakologi

Klomifen sitrat pertama kali disintesis tahun 1956, dilaporkan efektif untuk induksi ovulasi dan penggunaannya di Amerika Serikat telah disetujui sejak tahun 1967.<sup>46-48</sup>

Klomifen sitrat merupakan suatu derivat triphenylethylene non steroid yang mempunyai sifat agonis estrogen dan antagonis estrogen. Secara umum, sifat agonis estrogen hanya muncul bila kadar estrogen endogen sangat rendah, selain itu klomifen sitrat bekerja secara tunggal sebagai antagonis estrogen. Baik sifat estrogenik maupun antiestrogenik dari klomifen sitrat berperan dalam induksi ovulasi.<sup>46,47</sup>



Gambar 4. Klomifen sitrat<sup>48</sup>

Klomifen sitrat merupakan gabungan dari 2 macam bentuk isomer, yaitu isomer trans (enklomifen) dan sis (zuklomifen). Kedua isomer memberikan efek gabungan estrogenik dan antiestrogenik yang bervariasi pada masing-masing individu. Isomer enklomifen merupakan isomer yang lebih potensial dalam kemampuan induksi ovulasi dibandingkan isomer zuklomifen. Isomer zuklomifen mempunyai aktivitas estrogenik ringan serta anti estrogenik, sedangkan isomer enklomifen seluruhnya bersifat antiestrogenik. Kedua isomer aktif setelah mengalami hidroksilasi dan menghasilkan metabolit fenolik yang mempunyai afinitas terhadap reseptor estrogen 100 kali lebih kuat daripada molekul sebelumnya yang tidak aktif.<sup>46</sup>

Kadar enklomifen segera meningkat setelah pemberian dan segera turun kembali sampai konsentrasinya tidak terdeteksi, sedangkan zuklomifen lebih lambat. Zuklomifen masih dapat terdeteksi dalam sirkulasi sampai beberapa bulan setelah terapi dan berakumulasi bila diberikan dalam siklus yang bersambung, tetapi tidak ada bukti yang menunjukkan konsekuensi klinis yang penting.<sup>45</sup> Komposisi kandungan isomer dari obat klomifen sitrat yang telah ditentukan dari farmasi seperti (Serophene<sup>®</sup>) terdiri dari 38% zuklomifen dan 62% enklomifen.<sup>46,47</sup>

Absorpsi klomifen sitrat setelah pemberian oral baik, waktu paruhnya sekitar 5 hari. Metabolisme klomifen sitrat di hati dan diekskresi melalui feses. Sekitar 85% dari dosis yang diberikan akan dieliminasi setelah 6 hari, meskipun terdapat sisa yang sangat sedikit dalam sirkulasi sampai waktu yang lama.

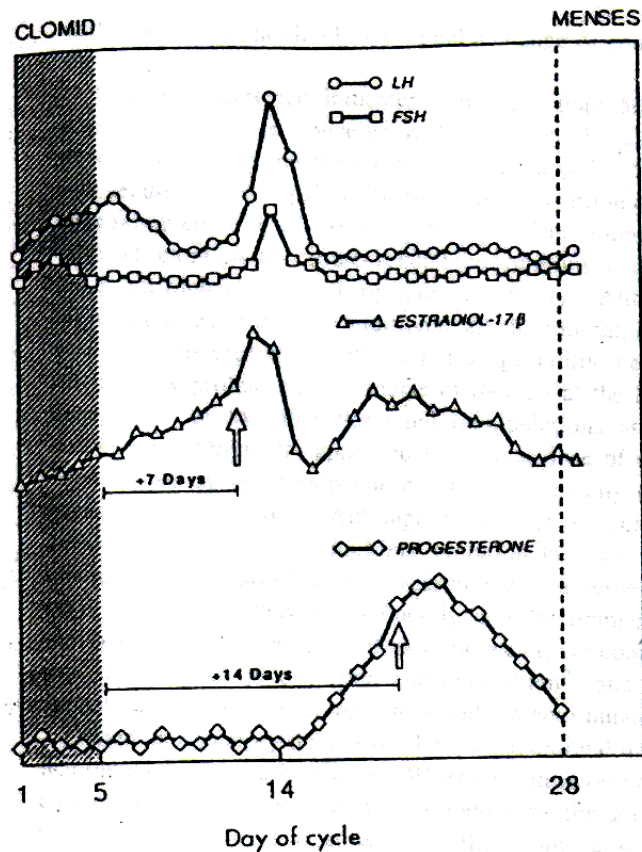
Klomifen pada feses dapat dideteksi sampai 6 minggu setelah pemberian terakhir kali.<sup>48,49</sup>

### **2.6.2. Mekanisme Kerja**

Klomifen sitrat mampu berinteraksi dengan jaringan yang mengandung reseptor estrogen antara lain hipotalamus, hipofise, ovarium, endometrium, vagina dan serviks. Klomifen sitrat akan berkompetisi dengan estrogen untuk berikatan pada reseptor estrogen dan menurunkan jumlah reseptor estrogen intraseluler.<sup>48,49</sup>

Klomifen sitrat menginduksi ovulasi dengan cara berikatan dengan reseptor estrogen di hipotalamus, sehingga timbul keadaan hipoestrogenik di hipotalamus, hal ini menyebabkan peningkatan frekuensi pulsasi GnRH yang akan meningkatkan sekresi FSH dan LH. Kemudian terjadi steroidogenesis dan folikulogenesis di ovarium, dan menghasilkan pertumbuhan folikel serta meningkatkan kadar estradiol dalam sirkulasi. Pada ovarium, klomifen sitrat berpengaruh langsung pada sel granulosa sehingga menjadi lebih sensitif terhadap FSH dan LH.<sup>50-52</sup>

Penilaian kadar estradiol umumnya dilakukan 7 hari setelah dosis klomifen sitrat terakhir, dimana termasuk dalam waktu perkiraan ovulasi yaitu 5 sampai 10 hari setelah dosis terakhir diberikan (Gambar 5). Adanya kadar estradiol puncak praovulasi menunjukkan adanya folikel yang terseleksi dan dominan.<sup>46</sup>



**Gambar 5. Pola hormonal siklus induksi ovulasi dengan klomifen sitrat<sup>46</sup>**

Kemiripan struktur klomifen sitrat dengan substansi estrogen merupakan kunci mekanisme kerjanya, membuat klomifen sitrat dapat diikat oleh reseptor estrogen pada seluruh sistem reproduksi. Klomifen sitrat menduduki reseptor dalam waktu yang lama, sampai beberapa minggu. Keefektifan obat untuk induksi ovulasi disebabkan kerja obat pada tingkat hipotalamus. Klomifen sitrat mempengaruhi aktifitas hipotalamus dengan cara mempengaruhi konsentrasi reseptor estrogen intraseluler.<sup>48</sup> Ketika hipotalamus dan hipofisis terpapar oleh klomifen sitrat, poros hipotalamus dan hipofisis menjadi tidak respon terhadap kadar estrogen endogen di sirkulasi. Karena kapasitas reseptor berkurang, sinyal

estrogen endogen seakan-akan berkurang juga, terjadi umpan balik negatif dan diaktifkan mekanisme kompensasi neuroendokrin untuk pengeluaran GnRH.<sup>48,53</sup>

Bila klomifen sitrat diberikan pada wanita dengan siklus haid normal, frekuensi pulsasi FSH dan LH meningkat tetapi amplitudonya tidak, diduga oleh karena peningkatan frekuensi pulsasi GnRH. Sedangkan pada wanita anovulasi, klomifen sitrat merangsang peningkatan amplitudo pulsasi gonadotropin, diduga karena frekuensi pulsasi telah maksimal.<sup>45</sup>

Selama pengobatan klomifen sitrat, kadar LH dan FSH meningkat, kemudian turun setelah terapi selama 5 hari selesai. Pada siklus yang berhasil, satu atau lebih folikel dominan akan matur, mengakibatkan peningkatan kadar estradiol yang akan merangsang lonjakan LH dan ovulasi. Kadar estradiol yang dihasilkan mencapai 150-200 pg/ml per folikel dominan. Keadaan optimal untuk pemberian *human Chorionic Gonadotropin* (hCG) untuk ovulasi adalah 1500-2000 pg/ml. Sedangkan bila kadar estradiol melebihi 2000 pg/ml, maka risiko terjadi hiperstimulasi sangat bermakna.<sup>48</sup> Keberhasilan induksi ovulasi dengan klomifen sitrat memerlukan fungsi poros hipotalamus, hipofisis, dan ovarium yang baik. Hal ini berbeda dengan induksi ovulasi dengan gonadotropin eksogen, dimana induksi ovulasi tetap efektif walaupun fungsi hipotalamus atau hipofisis terganggu.<sup>46</sup>

Beberapa kemungkinan yang perlu diperhatikan bila digunakan pada penderita obesitas antara lain obesitas berhubungan dengan penurunan SHBG di sirkulasi, dan peningkatan aromatisasi ektraglanduler, akibatnya kadar estrogen bebas dalam sirkulasi meningkat, hal ini bersifat antagonis dengan kerja klomifen

sitrat. Selain itu dengan penurunan SHBG, maka kadar testosteron bebas dalam sirkulasi meningkat sehingga mengganggu proses folikulogenesis, serta diduga obesitas berpengaruh terhadap disfungsi hipotalamus sehingga klomifen sitrat relatif tidak efektif.<sup>52,53</sup> Induksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada penderita dengan IMT lebih besar dari 30 kg/m<sup>2</sup> tampaknya kurang efektif.<sup>54</sup>

### **2.6.3. Indikasi**

Klomifen sitrat diberikan pada penderita dengan gangguan fungsi ovarium yang disebabkan karena disregulasi hipotalamus-hipofisis-ovarium. Pada gangguan tersebut hipotalamus dan hipofisis masih bisa dipicu. Sedangkan pada wanita dengan disfungsi hipotalamus-hipofisis, klomifen tidak efektif untuk induksi ovulasi karena mekanisme kerja klomifen sitrat memerlukan umpan balik yang masih berfungsi dari poros hipotalamus-hipofisis-ovarium. Tidak terjadinya perdarahan lutut setelah pemberian progesteron menunjukkan wanita anovulasi yang hipoestrogen berat. Pada wanita ini induksi ovulasi dengan klomifen sitrat biasanya tidak efektif. Secara umum klomifen sitrat digunakan untuk induksi ovulasi pada wanita dengan siklus anovulatorik dimana kadar estrogen cukup.<sup>55</sup>

Program senggama terencana merupakan usaha awal yang sederhana pada penanganan kasus infertilitas yang tidak terjelaskan, terutama pada pasangan yang masih muda. Umumnya usaha penanganan yang alamiah lebih menjadi pilihan untuk pengelolaan awal. Untuk meningkatkan keberhasilannya, dibantu dengan induksi ovulasi. Klomifen sitrat umumnya digunakan sebagai induksi ovulasi

pada program tersebut. Bila usaha tersebut gagal, maka diindikasikan pengelolaan lebih lanjut dengan teknik rekayasa reproduksi.<sup>56</sup>

Klomifen sitrat juga digunakan untuk induksi ovulasi pada inseminasi intra uterin (IIU). Inseminasi intra uterin adalah suatu teknik rekayasa reproduksi dengan cara memasukkan sperma yang telah dipreparasi secara langsung ke dalam cavum uteri dengan menggunakan alat pada saat periovulasi. Indikasi IIU adalah faktor pria: hipospadia, impotensi, oligospermia. Pada wanita seperti uji pasca sanggama yang jelek, infertilitas karena faktor serviks, dan infertilitas tak terjelaskan. Induksi ovulasi merupakan bagian dari inseminasi tersebut, tujuan dari induksi ovulasi adalah mendapatkan folikel matang lebih dari satu (maksimal 3 folikel berdiameter >18 mm), tindakan ini disebut juga sebagai *superovulasi*.<sup>45</sup>

*Food and Drug Administration* Amerika Serikat menyetujui pemberian klomifen sitrat 50 – 100 mg perhari maksimum 5 hari per siklus. Pemberian setelah menstruasi spontan, atau induksi menstruasi dengan perdarahan lucut progestin, pemberian klomifen sitrat dimulai pada hari ke 3, 4, atau 5 selama 5 hari. Alasan pemberian mulai hari ke 3-5 karena telah terseleksi folikel dominan, dimana folikel terseleksi ini memproduksi estradiol yang cukup. Pemberian klomifen mulai hari ke 3 atau 5 tidak mempengaruhi angka kehamilan. Pada sebagian besar penderita, ovulasi terjadi sekitar 5-12 hari setelah klomifen dosis terakhir.<sup>45,48</sup> Bila ovulasi tidak terjadi pada siklus pertama pengobatan dosis dapat dinaikkan secara bertahap setiap siklus 50 mg, sampai maksimum 200-250 mg perhari, walaupun FDA hanya menyetujui dosis 100 mg per hari. Pemberian klomifen sitrat sebaiknya tidak lebih dari 6 siklus karena tidak akan meningkatkan

angka kehamilan dan perlu dicari ulang secara teliti penyebab kegagalan serta dipertimbangkan terapi menggunakan gonadotropin.<sup>45,48</sup>

Selain untuk induksi ovulasi, klomifen sitrat juga diindikasikan untuk infertilitas pada penderita laki-laki. Pada penelitian meta analisis, penggunaan antiestrogen (klomifen sitrat dan tamoksifen) terhadap penderita oligoasthenoteratospermia disimpulkan adanya pengaruh positif terhadap kadar testosteron serum, namun tidak cukup bukti untuk evaluasi penggunaannya terhadap peningkatan meningkatkan fertilitas.<sup>57</sup>

#### **2.6.4. Efek Samping**

Klomifen sitrat mempunyai efek antiestrogenik pada perifer yaitu pada nilai rheologi lendir serviks dan endometrium, hal ini yang menimbulkan diskrepansi antara ovulasi dan angka konsepsi.<sup>48</sup> Efek antiestrogenik pada endoserviks menyebabkan kualitas dan kuantitas produksi lendir serviks pada siklus dengan pengobatan klomifen sitrat menurun. Perubahan lendir serviks ini menyebabkan gangguan motilitas spermatozoa.<sup>48</sup>

Klomifen sitrat berinteraksi dengan berbagai jaringan yang tergantung estrogen termasuk serviks. Efek antiestrogenik klomifen sitrat terhadap lendir serviks disebabkan oleh hambatan reseptor estrogen di stroma dan epitel serviks sehingga terjadi perubahan permeabilitas vaskuler, akibatnya hidrasi lendir serviks berkurang. Keadaan ini menurunkan kemampuan spermatozoa untuk penetrasi. Pada klinis keadaan lendir serviks ini dapat ditunjukkan dari penurunan volume, *spinnbarkeit*, derajat *ferning* serta peningkatan viskositas.<sup>4</sup>

Penurunan nilai rheologi lendir serviks oleh karena klomifen sitrat ini tetap terjadi walaupun ditemukan peningkatan kadar estradiol diatas kadar fisiologis.<sup>5</sup> Penurunan nilai lendir serviks ini terjadi pada seluruh periode periovulasi<sup>6</sup> dan terjadi pada semua dosis klomifen sitrat yang diteliti, yaitu 50 mg, 100 mg, dan 150-200 mg.<sup>7</sup> Bila dibandingkan waktu delta yaitu waktu antara hari pemberian klomifen sitrat terakhir sampai diperoleh folikel ukuran maksimal, maka didapatkan nilai rheologi lendir serviks lebih baik jika waktu delta lebih dari 6 hari dibandingkan kurang dari 6 hari.<sup>10</sup>

Pada wanita tanpa terapi klomifen sitrat, kecenderungan kualitas lendir serviks membaik seiring dengan peningkatan kadar estradiol. Sedangkan pada wanita yang mendapat klomifen sitrat, peningkatan kadar estradiol berbanding terbalik dengan nilai rheologi lendir serviks, kecuali pada beberapa keadaan dimana kadar estradiol meningkat sangat bermakna. Kadar estradiol yang tinggi pada fase periovulasi wanita yang mendapat klomifen sitrat merupakan petunjuk adanya peningkatan sensitivitas kerja antiestrogen klomifen sitrat dan kerja tersebut masih tetap berlangsung sehingga kualitas lendir serviks menurun.<sup>58</sup>

Selain itu klomifen sitrat juga memiliki efek antiestrogenik terhadap endometrium yaitu terjadi perubahan morfologi endometrium sehingga ketebalan endometrium berkurang.<sup>59,60</sup> Klomifen sitrat mempengaruhi ketebalan endometrium pada akhir fase proliferasi, dan tidak ditemukan perbedaan ketebalan endometrium pada pertengahan fase sekresi.<sup>61</sup> Pada wanita yang hipoestrogenik, pemberian klomifen sitrat dapat menyebabkan atrofi endometrium.<sup>11</sup>

Berbagai usaha untuk mengurangi efek negatif klomifen sitrat pada organ perifer diantaranya dengan pemberian klomifen sitrat lebih awal pada siklus menstruasi yaitu hari ke 1 atau 3 daripada dimulai hari ke 5, penambahan estradiol eksogen, pemberian *human Menopause Gonadotropin* (hMG) atau FSH.<sup>62- 64</sup>

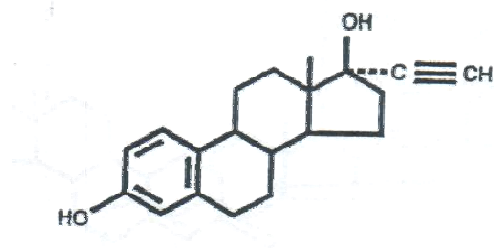
Efek samping pemakaian klomifen sitrat umumnya muncul berhubungan dengan dosis dan lamanya pemberian. Klomifen sitrat umumnya dapat ditoleransi dengan baik, efek samping jarang berat dan menetap. Efek samping lain adalah semburan panas (15-20%) seperti pada menopause, sindroma hiperstimulasi ovarium (5-10%), pembesaran ovarium yang reversibel (5%), rasa tidak nyaman di perut atau pelvis (5%), kadang nyeri disertai mual-muntah (3%), gangguan penglihatan berupa pandangan kabur atau skotoma (1,5%). Penyebab gangguan penglihatan ini belum diketahui, dan umumnya hilang beberapa hari setelah penghentian obat.<sup>46,48</sup> Gejala lain berupa reaksi pada kulit berupa ruam alergi, urtikaria dan alopesia ringan. Pada sistem syaraf pusat gangguan berupa nyeri kepala, vertigo, insomnia dan depresi. Kadang dapat terjadi tes faal hati yang abnormal. Pada penderita penyakit ovarium polikistik dimana terdapat gangguan keseimbangan FSH/LH, resistensi insulin dan obesitas, penggunaan klomifen sitrat berisiko terjadi hiperstimulasi.<sup>49,50,56</sup>

Akibat terapi klomifen sitrat dapat terjadi peningkatan risiko persalinan kembar (7-10%). Insidensi abortus spontan tidak berbeda dengan kehamilan dari ovulasi spontan (10-15%). Tidak ada bukti pengobatan klomifen sitrat meningkatkan risiko kelainan kongenital.<sup>51,52</sup>

## 2.7. ETINIL ESTRADIOL

### 2.7.1 Farmakologi

Estrogen dapat dibagi dalam dua bentuk yaitu estrogen steroid dan non-steroid. Estrogen steroid dan estrogen non-steroid dibagi lagi menjadi alamiah dan sintetik. Etinil estradiol merupakan estrogen steroid sintetik dimana terdapat penambahan gugus etinil pada C 17 pada estradiol. Tujuan penambahan gugus etinil untuk memperlambat penghancurannya oleh berbagai jenis enzim di dalam hepar.<sup>65</sup>



**Gambar 6. Etinil estradiol<sup>65</sup>**

Pemberian etinil estradiol secara peroral seluruhnya diabsorpsi pada traktus gastrointestinal dengan bioavailabilitasnya 40%. Ikatannya dengan protein plasma terutama dengan albumin. Molekul yang bebas terdistribusi luas pada jaringan oleh karena sifatnya yang lipofilik. Konsentrasi plasma puncak timbul sekitar 2 sampai 3 jam setelah pemberian peroral. Konsentrasi plasma puncak kedua timbul sekitar 12 jam kemudian yang disebabkan oleh sirkulasi enterohepatik. Waktu paruh biologik sekitar 7 jam setelah pemberian dosis terapi

oral, dengan fase eliminasi antara 13-27 jam.<sup>66</sup> Metabolisme di hepar dan di jaringan lain lebih lama daripada preparat estrogen alamiah. Oleh karena itu, estrogen sintetik ini masa kerjanya lebih panjang dan dapat diberikan dengan dosis satu kali sehari, sedangkan estrogen alamiah harus diberikan 2-3 kali sehari.<sup>65</sup> Inaktivasi terutama terjadi di hepar dan akan diekskresikan ke empedu kemudian mengalami sirkulasi enterohepatik. Selama menjalani sirkulasi enterohepatik, hormon ini mengalami degradasi menjadi senyawa yang kurang aktif yaitu estriol dan estron untuk kemudian dikonjugasi dengan asam sulfat atau glukoronat dan akhirnya diekskresi melalui urin dan feses.<sup>65,66</sup>

Etinil estradiol sangat kuat menstimulasi *sex hormone binding globulin* (SHBG) di hepar. SHBG memiliki daya ikat yang sangat kuat terhadap dihidrotestosteron sedangkan terhadap estrogen daya ikatnya lemah. Seperti diketahui khasiat biologik suatu hormon tidak hanya tergantung dosis, lama pemberian, resorpsi, metabolisme melainkan juga tergantung dari keberadaan hormon tersebut dalam darah dan dalam sel target. Hanya hormon yang bebas dan tidak terikat oleh protein memiliki khasiat biologik. Etinil estradiol yang terikat oleh *sex hormone binding albumin* (SHBA) mencapai 98,5% sedangkan yang bebas 1,5%.<sup>3</sup>

Hampir semua sediaan estrogen menunjukkan efek hormonal yang sama, yang berbeda adalah dalam hal potensi estrogenik. Perbedaan ini tergantung jenis obat, lama kerjanya serta rute pemberian. Sedangkan efek samping yang timbul hampir sama. Estradiol yang merupakan estrogen endogen yang paling aktif memiliki afinitas terhadap reseptor estrogen yang kuat, sedangkan metabolitnya

estron dan estriol memiliki efek yang lemah terhadap uterus. Potensi estrogenik etinil estradiol hampir 20 kali dari estradiol.<sup>49,66</sup>

### **2.7.2 Mekanisme kerja**

Seperti hormon steroid lainnya, etinil estradiol bekerja terutama melalui regulasi ekspresi gen. Sebagai hormon yang lipofilik, etinil estradiol mudah berdifusi melalui membran sel untuk berikatan dengan reseptor estrogen yang berada di nukleus. Terdapat 2 jenis reseptor estrogen yaitu reseptor estrogen  $\alpha$  dan  $\beta$ . Kedua reseptor estrogen tersebut terdapat pada traktus reproduksi wanita, payudara, hipofisis, hipotalamus, tulang dan hepar dengan distribusi yang berbeda. Pada jaringan uterus dan payudara, reseptor estrogen  $\alpha$  lebih banyak diekspresikan daripada reseptor estrogen  $\beta$ . Reseptor tersebut akan berinteraksi dengan nukleotida yang spesifik, sehingga timbul peningkatan transkripsi gen pengatur hormon. Respon jaringan yang timbul bervariasi terhadap aktivasi reseptor tersebut, dimana kedua jenis reseptor berperan dalam regulasi permeabilitas paraseluler. Pada jaringan serviks, etinil estradiol mampu menstimulasi sel sekretorik sehingga terjadi peningkatan jumlah lendir serviks serta kandungan air di dalamnya.<sup>30,67,68</sup>

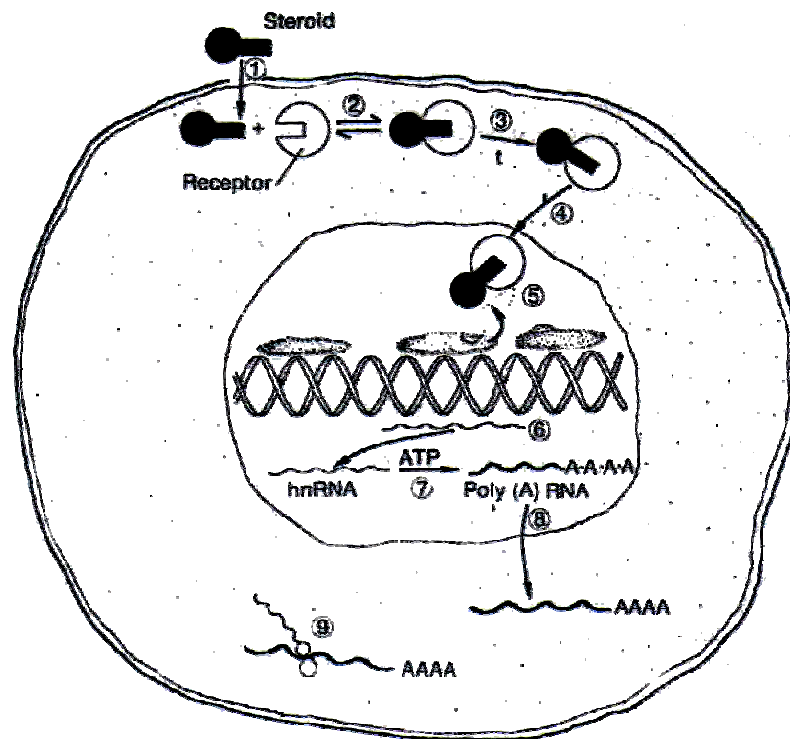
Estrogen telah diketahui meningkatkan sekresi musin dan plasma serviks. Plasma serviks merupakan 80%-90% dari total berat lendir serviks dan diyakini bahwa plasma serviks berasal dari transudasi cairan dari darah ke dalam kanalis servikalis melalui jalur paraseluler. Penelitian dengan menggunakan kultur sel epitel serviks manusia menunjukkan bahwa estrogen meningkatkan permeabilitas

paraseluler, selain itu sitoskeleton sel menjadi lebih fleksibel, sel menjadi lebih sensitif terhadap stimulus, dan terjadi pengecilan ukuran sel. Pengecilan ukuran sel ini menyebabkan ruang interseluler menjadi lebar, akibatnya permeabilitas paraseluler meningkat sehingga aliran cairan lebih banyak melalui ruang interseluler dan meningkatkan produksi lendir serviks.<sup>30</sup> Selain efek langsung etinil estradiol pada kelenjar di serviks, etinil estradiol juga mempunyai efek sentral terhadap penurunan kadar serum testosteron, hal ini diduga bertanggung jawab dalam peningkatan nilai rheologi lendir serviks.<sup>15</sup>

Hormon steroid menghasilkan reaksi jaringan yang spesifik karena peran dari reseptor di intraseluler. Mekanisme kerja hormon estrogen diawali oleh difusi hormon estrogen melalui membran sel kemudian berikatan dengan reseptor di sitoplasma, ikatan ini mempunyai afinitas yang tinggi. Kompleks hormon-reseptor ini kemudian ditranslokasi ke inti sel dan berikatan dengan kromatin. Kemudian terjadi proses transkripsi *DNA* sesuai dengan bagian dari kromatin dan sintesis *mRNA*. *Heterogeneous nuclear RNA* yang dihasilkan mengalami proses dengan *ATP*, terjadi penambahan *polyadenylic acid tail* sehingga menjadi *poly (A) RNA*. Kemudian terjadi pemindahan *mRNA* ke ribosom, dan proses translasi terjadi dimana *mRNA* berfungsi sebagai cetakan untuk sintesis protein di ribosom (Gambar 7).<sup>69-71</sup>

Salah satu mekanisme kerja yang penting dari hormon estrogen yang berlawanan dengan kломifen sitrat dan progesteron adalah kemampuan estrogen untuk menambah konsentrasi reseptor intraseluler yang disebut proses *replenishment*. Sedangkan kломifen dan progesteron disisi lain menghambat

proses *replenishment*, sehingga menurunkan konsentrasi reseptor estrogen.<sup>48</sup> Pengaruh estrogen terhadap aktivitas sekretoris kelenjar hipotalamus dan hipofisis sangat kompleks. Estrogen memperlihatkan efek umpan balik negatif terhadap sekresi FSH dan LH oleh hipofisis dan juga sekresi GnRH dari hipotalamus.<sup>70,72</sup>



**Gambar 7. Mekanisme hormon steroid mensintesis protein di sel sasaran**<sup>70</sup>

### 2.7.3. Indikasi

Indikasi etinil estradiol adalah gejala vasomotor sedang dan berat pada wanita menopause, dan hipogonadisme wanita.<sup>67,68</sup> Pemberian estrogen eksogen pada induksi ovulasi bertujuan untuk mengurangi efek antiestrogen dari klomifen sitrat terhadap lendir serviks dan morfologi endometrium. Sel sekretorik di endoserviks dengan pemberian etinil estradiol akan meningkatkan sekresi lendir serviks dan menurunkan viskositas lendir serviks, sehingga meningkatkan migrasi

spermatozoa dan kemampuan hidupnya.<sup>12</sup> Pemberian estrogen eksogen tersebut dapat meningkatkan nilai lendir serviks dan ketebalan endometrium.<sup>13,18</sup>

Etinil estradiol diberikan secara sekuensial yaitu dimulai setelah pemberian klomifen sitrat yang terakhir, etinil estradiol dosis 0,05 mg diberikan selama 5 hari secara peroral. Dari penelitian, etinil estradiol tidak akan mengganggu perkembangan folikel di ovarium. Tidak ada perbedaan perkembangan folikel antara induksi ovulasi dengan klomifen sitrat ditambah etinil estradiol atau tanpa etinil estradiol. Baik dosis etinil estradiol 0,02 mg atau 0,05 mg keduanya tidak menekan maturasi folikel.<sup>22</sup> Etinil estradiol mulai diberikan setelah pemberian obat induksi ovulasi klomifen sitrat selesai (pada hari ke 8) bertujuan untuk mencegah terjadinya gangguan perkembangan folikel. Perkembangan folikel pada awal siklus menstruasi dipengaruhi oleh FSH, kadar estrogen yang tinggi pada awal siklus mengakibatkan umpan balik negatif sehingga terjadi penurunan kadar FSH. Selain pengaruh etinil estradiol terhadap lendir serviks, juga ditemukan pengaruh pada endometrium. Pemberian etinil estradiol dosis 0,05 mg/hari selama 5 hari mulai hari ke 8 mampu menghilangkan efek buruk klomifen sitrat terhadap ketebalan endometrium dan meningkatkan angka kehamilan.<sup>18,73</sup> Penelitian lain menunjukkan bahwa penambahan estrogen pada induksi ovulasi tidak mempengaruhi perbedaan ukuran diameter folikel, jumlah folikel praovulasi dan angka keberhasilan ovulasi.<sup>18,19,20</sup> Terjadi peningkatan kadar estradiol dan ukuran folikel dominan, serta penurunan kadar testosteron.<sup>74</sup> Pemberian etinil estradiol tidak mempengaruhi indeks pulsatilitas arteri uterina.<sup>18</sup>

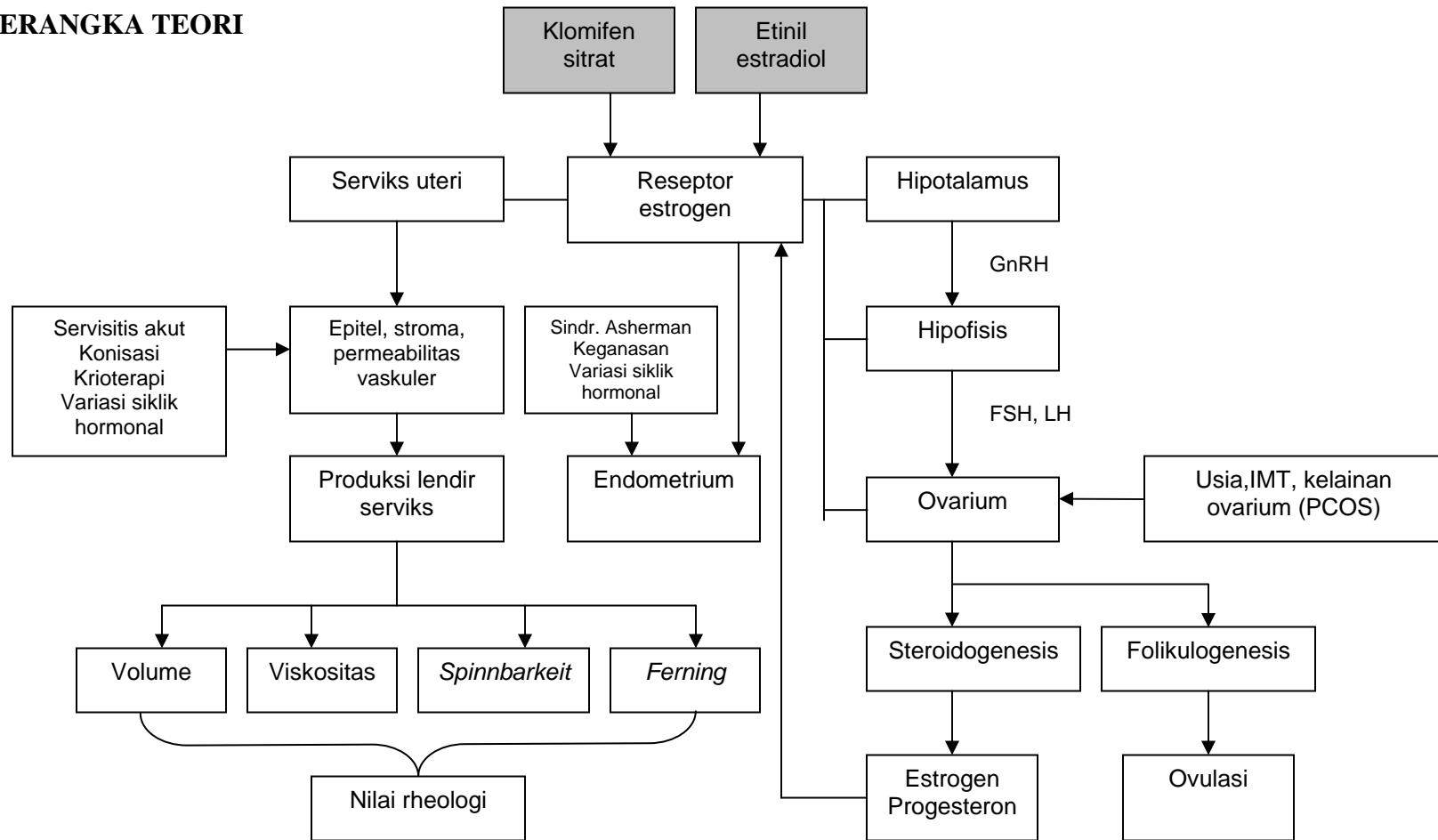
Pada pemeriksaan 17- $\beta$ -estradiol, reaksi silang yang terjadi dengan etinil estradiol sangat kecil bila dibandingkan dengan estrogen eksogen lain seperti estrogen terkonjugasi. Sehingga kadar estradiol endogen saja yang terukur, sedangkan kadar estrogen eksogen tidak termasuk.<sup>75</sup>

#### **2.7.4. Efek samping**

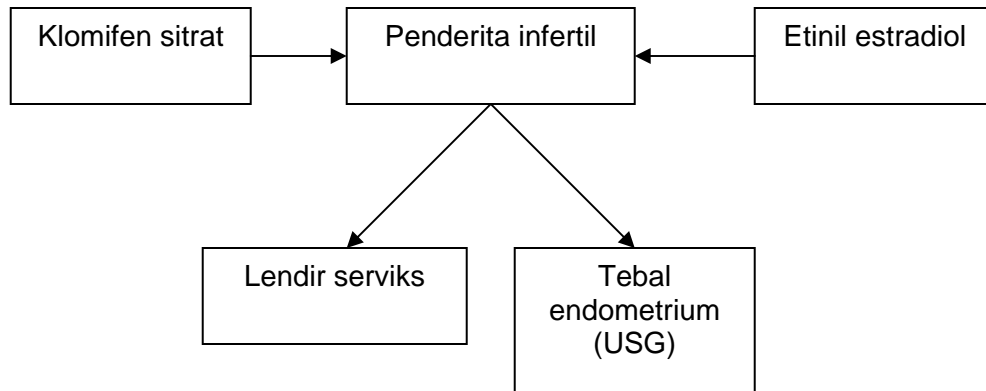
Efek samping estrogen yang paling sering timbul adalah mual, anoreksia, pusing. Frekuensi timbulnya mual diduga sejajar dengan potensi estrogeniknya. Efek samping lain berupa rasa penuh dan nyeri pada payudara, dan udem yang disebabkan oleh retensi air dan natrium, yang terjadi pada penggunaan dosis besar.<sup>65</sup>

Kontraindikasi absolut pemakaian estrogen sintetik adalah kehamilan, tromboemboli, riwayat stroke, riwayat infark jantung, gangguan sirkulasi perifer, dan perdarahan dari uterus yang belum diketahui penyebabnya. Kontraindikasi relatif adalah mioma uteri, obesitas, merokok, insufisiensi ginjal, hipertensi, dan diabetes mellitus.<sup>49,65,72</sup>

## 2.8. KERANGKA TEORI



## 2.9. KERANGKA KONSEP



## **BAB 3**

### **HIPOTESIS**

Klomifen sitrat yang digunakan untuk induksi ovulasi mempunyai efek antiestrogenik terhadap lendir serviks dan morfologi endometrium. Hormon estrogen menyebabkan kuantitas dan kualitas lendir serviks meningkat serta ketebalan endometrium meningkat sehingga angka keberhasilan kehamilan lebih tinggi. Estrogen eksogen (etinil estradiol) diberikan untuk mengimbangi efek antiestrogenik dari klomifen sitrat.

Hipotesis yang disusun adalah sebagai berikut:

- Nilai rheologi lendir serviks pada kelompok wanita infertil yang dilakukan induksi ovulasi menggunakan klomifen sitrat dengan penambahan etinil estradiol akan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tanpa penambahan etinil estradiol.
- Ketebalan endometrium pada kelompok wanita infertil yang dilakukan induksi ovulasi menggunakan klomifen sitrat dengan penambahan etinil estradiol akan lebih tebal dibandingkan dengan kelompok tanpa penambahan etinil estradiol.

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian uji klinis acak terkontrol (*randomized controlled trial*)

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

Penelitian dilakukan di Klinik Fertilitas Endokrinologi dan Reproduksi RS Dr Kariadi dan RS Telogorejo Semarang, dimulai bulan April 2005 sampai jumlah sampel terpenuhi.

#### **4.3. Subyek penelitian**

Subyek penelitian adalah wanita infertil yang berobat di Klinik Fertilitas Endokrinologi dan Reproduksi RS Dr Kariadi dan RS Telogorejo Semarang yang memenuhi kriteria inklusi.

##### **4.3.1. Kriteria Inklusi**

- Wanita dengan infertilitas primer maupun sekunder yang dilakukan induksi ovulasi karena gangguan ovulasi atau untuk tujuan *superovulasi* dalam program senggama terencana dan program inseminasi buatan
- Usia 20-35 tahun
- Indeks Massa Tubuh (IMT) : 18,5-29,9

#### 4.3.2. Kriteria Eksklusi

- Mendapat terapi klomifen sitrat atau obat hormonal lain dalam 6 bulan terakhir
- Servisititis akut
- Pernah dilakukan konisasi atau krioterapi
- Sindroma Ovarium Polikistik

#### 4.4. Perhitungan sampel

Perhitungan besar sampel untuk menguji hipotesis mengenai nilai rheologi lendir serviks dan ketebalan endometrium antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dimana dengan menggunakan *power* 80% dan tingkat kemaknaan 0,05 dalam mendeteksi perbedaan klinis yang diinginkan (*clinical judgement*) sebesar 1,4 dan simpang baku 1,39 dengan memakai rumus sebagai berikut:

$$n = 2 \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta)s}{(X1 - X2)} \right]^2$$

Keterangan:

- n : Besar sampel yang diperlukan masing-masing kelompok
- $Z\alpha$  : Pada tabel distribusi Z ( $Z\alpha$  dua arah) dengan tingkat kemaknaan sebesar 0,05 didapatkan  $Z\alpha = 1,96$
- $Z\beta$  : Pada tabel distribusi Z ( $Z\beta$ ) dengan *power* statistik 80% atau tingkat kesalahan 20% ( $1-\beta$ ) maka didapatkan  $Z\beta$  sebesar 0,842
- s : Simpang baku ketebalan endometrium dari penelitian sebelumnya didapatkan sebesar 1,39<sup>73</sup>

X1-X2 : Perbedaan nilai klinis yang dianggap bermakna

Pada penelitian sebelumnya didapatkan sebesar 1,4<sup>73</sup>

$$\text{Maka } n = 2 \left[ \frac{(1,960+0,842) 1,39}{1,4} \right]^2 = 15,47 \approx 16$$

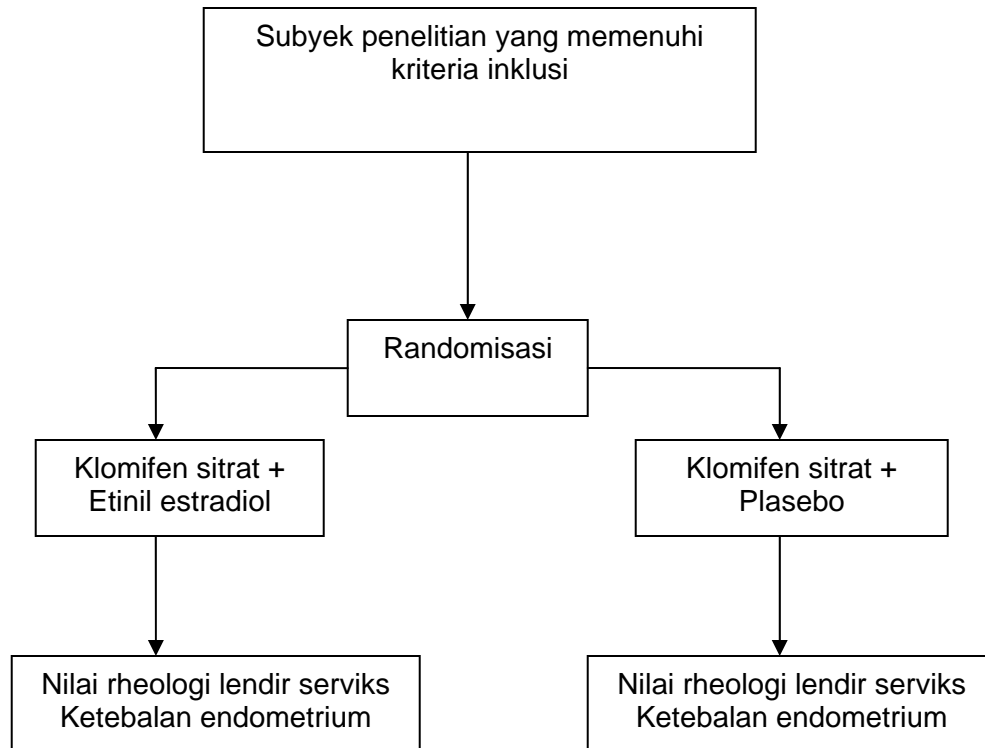
Total besar sampel (kelompok perlakuan dan kontrol)  $16 \times 2 = 32$  orang

#### 4.5. Proses Penelitian

- Penderita yang memenuhi kriteria inklusi diberi penjelasan mengenai penelitian yang akan dilakukan dan menandatangani surat persetujuan untuk mengikuti penelitian
- Setelah dilakukan randomisasi, kelompok perlakuan mendapat klomifen sitrat dan etinil estradiol, sedangkan kelompok kontrol mendapat klomifen sitrat dan plasebo
- Klomifen sitrat 50 mg/hari diberikan peroral mulai hari ke 3 siklus menstruasi selama 5 hari, kemudian etinil estradiol 0,05 mg/hari secara peroral diberikan mulai hari ke 8 siklus menstruasi selama 5 hari.
- Penilaian rheologi lendir serviks dilakukan pada hari ke 13 siklus menstruasi.
- Cara untuk menilai rheologi lendir serviks:
  - Penderita berbaring litotomi kemudian pasang spekulum steril sampai tampak serviks uteri
  - Bersihkan permukaan serviks dari lendir vagina yang menutupi dengan kasa steril
  - Dengan menggunakan spuit tuberkulin tanpa jarum yang dihubungkan dengan kateter, lendir serviks dikumpulkan dari kanalis servikalis

- Lendir serviks yang didapat segera diperiksa volume, viskositas, *spinnbarkeit* dan *ferning* kemudian diberi penilaian masing-masing 0-3.
- Pada hari yang sama juga dilakukan pemeriksaan ketebalan endometrium menggunakan alat USG transvaginal. (Aloka-SSD-680Ex, transduser 5 Mhz di RS Dr Kariadi dan Toshiba-Capasee II, transduser 6 Mhz di RS Telogorejo). Potongan antero-posterior uterus yang dinilai untuk mendapatkan tebal endometrium dengan jarak maksimal antar 3 lapisan hiperekoik (*triple-line patern*).
- Oleh karena subyek penelitian berasal dari 2 RS, maka pengukuran dilakukan oleh pemeriksa yang berbeda. Pemeriksa di RS Dr Kariadi dilakukan oleh peneliti sendiri, dan di RS Telegorejo dokter spesialis obstetri ginekologi. Sebelum penelitian dimulai, pemeriksa melakukan standarisasi pengukuran untuk mengurangi variabilitas hasil pengukuran antara pemeriksa (*inter-observer variation*). Standarisasi pengukuran tersebut yaitu dengan pelatihan sehingga pengukuran dapat dilakukan dengan cara yang sama.
- Penilaian dilakukan hanya dalam 1 siklus induksi ovulasi.
- Selama induksi ovulasi dilakukan pengawasan terhadap efek samping induksi ovulasi. Bila terjadi efek samping berat seperti hiperstimulasi ovarium, pembesaran ovarium disertai nyeri, mual muntah, skotoma, maka terapi dihentikan.

#### 4.6. Alur Penelitian



#### 4.7. Variabel Penelitian

Variabel bebas adalah pemberian klomifen sitrat dan etinil estradiol

Variabel tergantung adalah nilai rheologi lendir serviks meliputi: volume, *spinnbarkeit*, *ferning* dan viskositas serta ketebalan endometrium.

#### 4.8. Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional	Skala	Satuan
Infertilitas primer adalah tidak didapatkan kehamilan pada pasangan suami istri yang melakukan senggama tanpa pelindung selama lebih dari 1 tahun	Nominal	-
Infertilitas sekunder adalah pasangan suami istri yang sebelumnya pernah hamil, kemudian tidak mendapatkan kehamilan lagi walaupun melakukan senggama tanpa pelindung selama lebih dari 1 tahun	Nominal	-
Induksi ovulasi adalah upaya memacu ovarium untuk mendapatkan ovum yang lebih baik dan lebih banyak	Nominal	-
Pemberian klomifen sitrat (Serophene®) tablet dengan dosis 50 mg/hari yang diberikan mulai hari ke 3 siklus menstruasi selama 5 hari	Nominal	-
Pemberian etinil estradiol (Lynoral®) tablet dengan dosis 0,05 mg/hari yang diberikan mulai hari ke 8 siklus menstruasi selama 5 hari	Nominal	-
Nilai rheologi lendir serviks adalah penilaian karakteristik fisik lendir serviks yang metode Moghissi dimana penilaian meliputi volume, viskositas, <i>spinnbarkeit</i> dan <i>ferning</i> . Masing-masing diberi penilaian 0-3	Ordinal	-
Volume lendir serviks adalah jumlah lendir yang diaspirasi dengan spuit tuberkulin tanpa jarum yang dihubungkan dengan kateter pada kanalis servikalis Nilai 0 : 0 ml Nilai 1 : 0,1 ml Nilai 2: 0,2 ml	Ordinal	-

Nilai 3 : $\geq 0,3$ ml		
<p><i>Spinnbarkeit</i> lendir serviks adalah kemampuan lendir serviks untuk ditarik membenang. Lendir serviks ditaruh pada kaca obyek, kemudian ditempel dengan kaca penutup, lalu diangkat.</p> <p>Nilai 0 : &lt; 1 cm  Nilai 1 : 1-4 cm  Nilai 2: 5-8 cm  Nilai 3 : <math>\geq 9</math> cm</p>	Ordinal	-
<p><i>Ferning</i> lendir serviks adalah pola kristalisasi yang diamati ketika lendir serviks mengering pada permukaan kaca obyek.</p> <p>Nilai 0 : Tidak ada kristalisasi  Nilai 1 : <i>Ferning</i> atipikal  Nilai 2: <i>Ferning</i>, cabang primer-sekunder  Nilai 3 : <i>Ferning</i>, cabang tersier-kwartener</p>	Ordinal	-
<p>Viskositas lendir serviks adalah kekentalan lendir serviks</p> <p>Nilai 0 : Tebal, sangat kental  Nilai 1 : Bentuk antara (kental)  Nilai 2: Agak kental  Nilai 3 : Normal</p>	Ordinal	-
<p>Ketebalan endometrium adalah pengukuran ketebalan endometrium yang diukur dengan ultrasonografi transvaginal potongan antero-posterior uterus. Diukur jarak maksimal dari 3 garis ekogenik yang tampak. Saat pengukuran adalah hari ke 13 siklus menstruasi</p>	Rasio	Milimeter
<p>Indeks Massa Tubuh adalah penentuan status gizi dengan menggunakan rumus <math>BB(kg)/TB^2(m)</math></p>	Rasio	$kg/m^2$

#### **4.9. Pengolahan dan analisis data**

Pengolahan dan analisis data menggunakan program SPSS for Window 11.5. Analisis data menggunakan uji *chi square* atau *fisher exact test* untuk mengetahui perbedaan variabel yang bersifat nominal, uji *Mann-Whitney U* untuk variabel yang bersifat ordinal dan uji *t* untuk variabel yang bersifat interval dan rasio. Perbedaan yang dianggap bermakna bila  $p < 0.05$ .

#### **4.10. Etika penelitian**

- Semua subyek penelitian pada penelitian ini memberikan persetujuan tertulis yang menyatakan kesediaannya untuk mengikuti penelitian.
- Biaya pemeriksaan dibebankan pada peneliti.
- Penelitian ini tidak merugikan atau membahayakan penderita.
- Apabila penelitian ini dipublikasikan, kerahasiaan penderita tetap terjaga.

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan mulai bulan April 2005 sampai jumlah subyek penelitian terpenuhi yaitu pada bulan Oktober 2005. Diperoleh 32 subyek penelitian (10 subyek penelitian dari poliklinik FER RS Dr Kariadi dan 22 subyek penelitian dari Klinik Infertilitas RS Telogorejo Semarang) yang memenuhi syarat untuk ikut dalam penelitian, subyek penelitian tersebut dibagi dalam kelompok perlakuan dan kontrol secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 16 subyek.

#### 5.1. Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik subyek penelitian yang dinilai adalah usia, jenis infertilitas, lama infertilitas dan indeks massa tubuh.

Rerata usia kelompok perlakuan  $28,19 \pm 3,08$  tahun dan kelompok kontrol  $28,13 \pm 3,65$  tahun. Secara statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ( $p=0,959$ ). Tidak didapatkan perbedaan usia antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

**Tabel 2. Karakteristik kelompok perlakuan dan kontrol**

	<b>Perlakuan n=16 rerata (SB)</b>	<b>Kontrol n=16 rerata (SB)</b>	<b>p</b>
Usia, th	28,19 (3,08)	28,13 (3,65)	0,959*
Jenis infertilitas			
- infertilitas primer	14 (87,5%)	15 (93,8%)	1,00 <sup>#</sup>
- infertilitas sekunder	2 (12,5%)	1 (6,3%)	
Lama infertilitas, th	2,84 (1,71)	3,53 (2,58)	0,381*
Indeks Massa Tubuh (BB/TB <sup>2</sup> )	21,99 (1,57)	22,50 (1,87)	0,413*

\* *t test*; <sup>#</sup> *Fischer's exact test*

Persentase infertilitas primer kelompok perlakuan 87,5% dan kelompok kontrol 93,5%. Persentase infertilitas sekunder kelompok perlakuan 12,5% dan kelompok kontrol

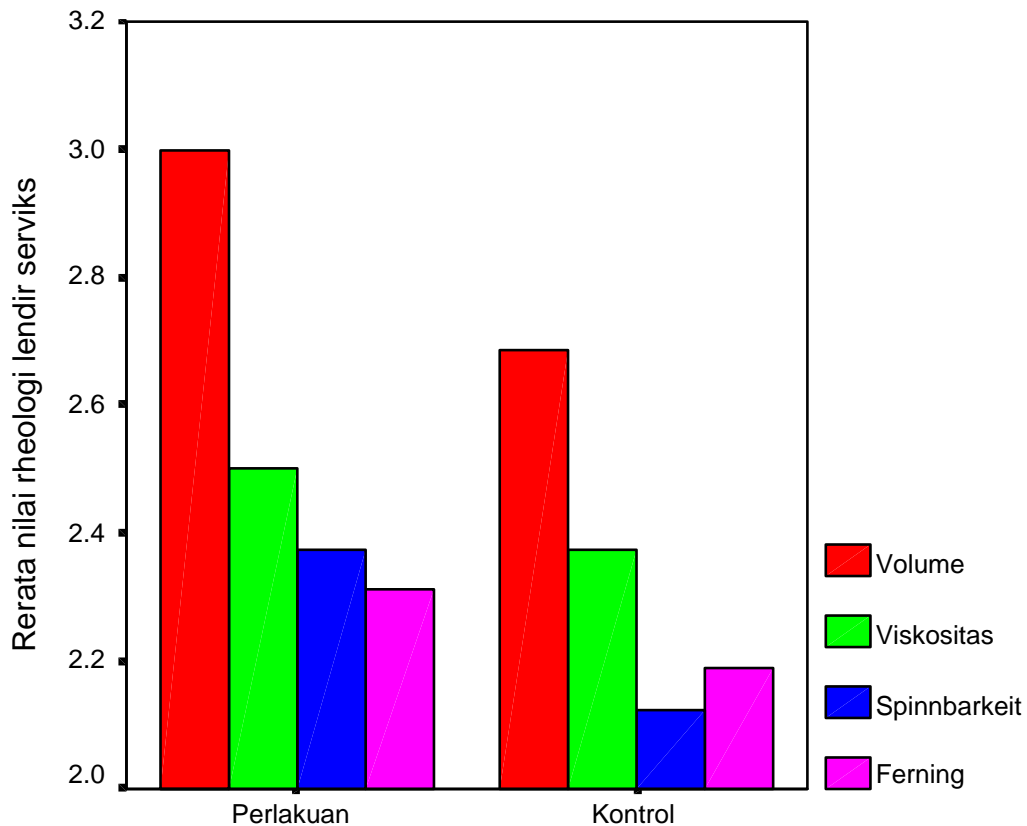
6,3%. Secara statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ( $p=1,00$ ). Tidak didapatkan perbedaan jenis infertilitas antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Rerata lama infertilitas kelompok perlakuan  $2,84 \pm 1,71$  tahun dan kelompok kontrol  $3,53 \pm 2,58$  tahun. Secara statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ( $p=0,38$ ). Tidak didapatkan perbedaan lama infertilitas antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Rerata indeks massa tubuh kelompok perlakuan  $21,99 \pm 1,57$  dan kelompok kontrol  $22,50 \pm 1,87$ . Secara statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ( $p=0,41$ ). Tidak didapatkan perbedaan indeks massa tubuh antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

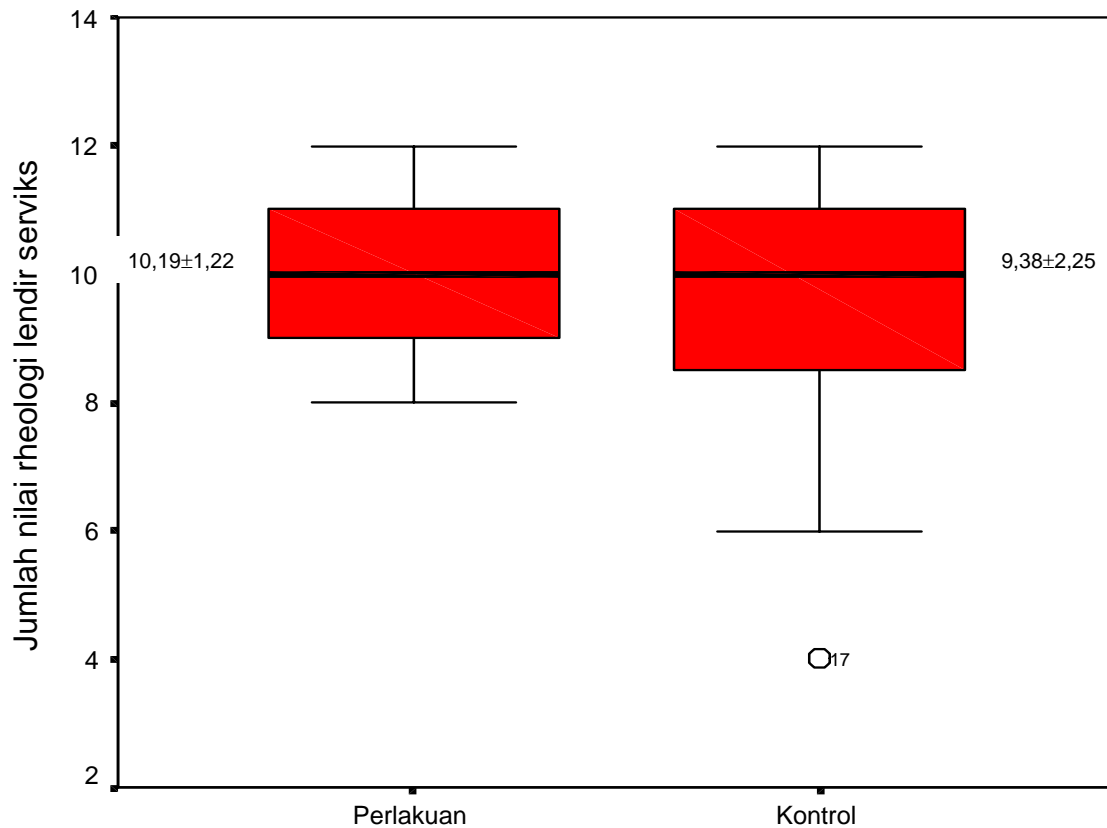
## **5.2. Nilai rheologi lendir serviks**

Hasil penelitian nilai rheologi lendir serviks antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, didapatkan rerata nilai volume lendir serviks  $3 \pm 0$  dan  $2,69 \pm 0,7$  ( $p=0,07$ ); rerata nilai viskositas  $2,5 \pm 0,52$  dan  $2,38 \pm 0,62$  ( $p=0,60$ ); rerata nilai *spinnbarkeit*  $2,38 \pm 0,5$  dan  $2,13 \pm 0,62$  ( $p=0,25$ ); serta rerata nilai *ferning*  $2,31 \pm 0,6$  dan  $2,19 \pm 0,75$  ( $p=0,67$ ). Secara statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Tidak didapatkan perbedaan masing-masing jenis pemeriksaan nilai lendir serviks antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (Gambar 8).



Gambar 8. Perbandingan rerata nilai rheologi lendir serviks antara perlakuan dan kontrol.

Hasil pengamatan jumlah nilai rheologi lendir serviks pada kelompok perlakuan meliputi terendah 8 dan tertinggi 12, sedangkan kelompok kontrol meliputi terendah 4 dan tertinggi 12. Rerata jumlah nilai rheologi lendir serviks kelompok perlakuan  $10,19 \pm 1,22$  dan kelompok kontrol  $9,38 \pm 2,25$ . Secara statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ( $p=0,214$ ). Tidak didapatkan perbedaan jumlah nilai rheologi lendir serviks antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (Gambar 9).

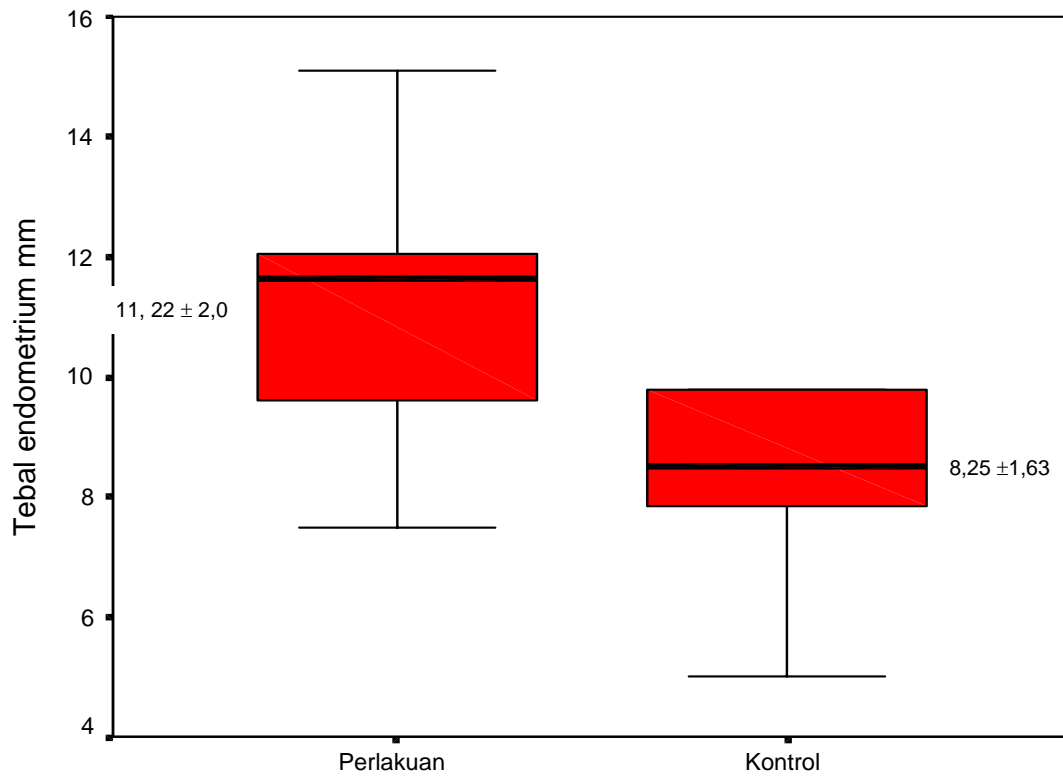


$p = 0,214$  (*t test*)

Gambar 9. Rerata jumlah nilai rheologi antara perlakuan dan kontrol.

### 5.3. Ketebalan endometrium

Hasil pengamatan ketebalan endometrium pada kelompok perlakuan meliputi terendah 7,5 mm dan tertinggi 15,1 mm, sedangkan kelompok kontrol meliputi terendah 5,0 mm dan tertinggi 9,8 mm. Rerata ketebalan endometrium pada kelompok perlakuan  $11,22 \pm 2,0$  mm dan kelompok kontrol  $8,25 \pm 1,63$  mm. Secara statistik perbedaan tersebut bermakna ( $p < 0,001$ ). Ketebalan endometrium kelompok perlakuan lebih tebal daripada kelompok kontrol (Gambar 10).



$p < 0,001$  (*t test*)

Gambar 10. Rerata tebal endometrium antara perlakuan dan kontrol

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Telah dilakukan penelitian pengaruh penambahan etinil estradiol pada induksi ovulasi yang menggunakan klomifen sitrat terhadap nilai rheologi lendir serviks dan ketebalan endometrium. Penelitian ini menyertakan 32 subyek penelitian (10 subyek penelitian dari poliklinik FER RS Dr Kariadi dan 22 subyek penelitian dari Klinik Infertilitas RS Telogorejo Semarang) yang memenuhi syarat untuk ikut dalam penelitian. Subyek penelitian tersebut dibagi secara acak dalam 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, masing-masing kelompok terdiri dari 16 subyek penelitian.

Dari hasil penelitian menunjukkan karakteristik antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol yang meliputi usia, jenis infertilitas, lama infertilitas dan Indeks Massa Tubuh adalah sama.

Karakteristik subyek penelitian ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan di Jakarta 1986 dengan metode uji klinis tanpa randomisasi, 28 subyek penelitian berusia 19-36 tahun, 82% subyek adalah penderita infertilitas primer.<sup>21</sup> Demikian juga penelitian di Roma tahun 2000 dengan metode uji klinis tersamar ganda, 64 subyek penelitian berusia 25-35 tahun dengan lama infertilitas lebih dari 2 tahun dan indeks massa tubuh  $<25 \text{ kg/m}^2$ .<sup>18</sup> Pada penelitian ini, didapatkan karakteristik subyek penelitian yang hampir sama, rerata usia 28 tahun, sebagian besar adalah infertilitas primer, dengan rerata lama infertilitas lebih dari 2 tahun dan indeks masa tubuh  $<25 \text{ kg/m}^2$ .

Usia penderita infertil pada penelitian ini semuanya dibawah 35 tahun. Usia wanita berhubungan dengan fertilitasnya, peluang wanita usia 35 tahun untuk hamil dan

melahirkan bayi sehat adalah 50% dibandingkan wanita usia 25 tahun.<sup>2</sup> Obesitas menurunkan kesuburan oleh karena peningkatan leptin dan serum insulin, sehingga terjadi oligoovulasi/anovulasi dan kualitas oosit jelek yang diduga akibat kadar serum LH yang selalu tinggi. Terdapat korelasi antara berat badan dengan dosis klomifen sitrat. Induksi ovulasi pada wanita obesitas seringkali tidak memberikan hasil yang baik, selain itu diperlukan obat induksi ovulasi dosis tinggi, sehingga akan menimbulkan berbagai macam efek samping.<sup>3,76</sup>

Perbandingan nilai rheologi lendir serviks berdasarkan masing-masing jenis pemeriksaan yaitu volume, viskositas, *spinnbarkeit*, dan *ferning* adalah tidak berbeda antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Hasil penelitian yang dilakukan di Jakarta pada tahun 1986 juga menyimpulkan bahwa pengaruh pemberian estrogen eksogen terhadap mutu lendir serviks tidak selalu menonjol.<sup>21</sup> Penelitian yang dilakukan di Virginia pada tahun 1990 menggunakan metode uji klinis acak terkontrol dengan 48 subyek yang meneliti estrogen eksogen jenis *micronized E<sub>2</sub>* dan *conjugated estrogen* juga menyimpulkan pemberian preparat estrogen tidak memperbaiki kualitas dan kuantitas lendir serviks pada penderita yang mendapat klomifen sitrat.<sup>22</sup> Hasil yang sama juga didapatkan pada penelitian yang menggunakan preparat estrogen intravagina terhadap kualitas lendir serviks.<sup>23</sup> Pada penelitian ini, juga didapatkan jumlah nilai lendir serviks antara perlakuan dan kontrol tidak berbeda. Diduga faktor reseptor estrogen di endoserviks ikut berperan dalam menentukan pengaruh estrogen endogen maupun eksogen terhadap organ sarannya.<sup>21</sup>

Farmakologi dan mekanisme kerja preparat klomifen sitrat masih menjadi suatu hal yang belum sepenuhnya dipahami, dimana kandungan klomifen sitrat yang terdiri dari

campuran isomer trans dan cis yang berpotensi sebagai agonis maupun antagonis terhadap estrogen. Kedua isomer dapat memberikan efek gabungan estrogenik dan antiestrogenik yang bervariasi pada masing-masing individu.<sup>46</sup> Selain itu masing-masing isomer juga menunjukkan aktivitas yang berlainan tergantung pada sistem bioassai pada setiap individu. Dalam percobaan, klomifen sitrat lebih menonjol dalam menstimulus hipertrofi sel epitel pada uterus, tetapi efeknya minimal pada miometrium. Kemampuan ini yang disebut *differential cell stimulation* diduga sebagai faktor yang menyebabkan klomifen sitrat mempunyai efek yang bervariasi terhadap sekresi gonadotropin.<sup>22</sup>

Mekanisme kerja klomifen sitrat pada tingkat seluler yaitu kemampuannya menghambat reseptor estrogen pada nukleus sel. Klomifen sitrat menduduki reseptor estrogen selama beberapa minggu sehingga terjadi penurunan konsentrasi reseptor. Hipotalamus dan hipofisis menjadi kurang respon terhadap kadar estrogen di sirkulasi, karena kapasitas reseptor berkurang, sinyal estrogen seakan-akan berkurang juga, terjadi umpan balik negatif dan mekanisme kompensasi neuroendokrin untuk pengeluaran GnRH diaktifkan. Kadar FSH akan meningkat kemudian diikuti peningkatan produksi estradiol.<sup>48</sup> Pada penelitian, kadar estradiol puncak dapat mencapai hingga 1.254 pg/mL pada subyek yang diterapi klomifen sitrat, sedangkan pada kontrol kadar estradiol adalah 337 pg/mL.<sup>5</sup> Hal ini menunjukkan walaupun kadar estradiol yang dihasilkan pada terapi klomifen sitrat mencapai nilai diatas kadar fisiologis, efek antiestrogenik pada organ perifer tetap terjadi.<sup>45</sup> Penambahan estrogen eksogen tidak sebanding dengan kadar estradiol yang telah tinggi tersebut, dalam mengharapkan terjadinya perbaikan kualitas dan kuantitas lendir serviks.<sup>22</sup> Penilaian jumlah selularitas lendir serviks tidak diikutkan dalam perhitungan sampel oleh karena penilaian selularitas ini tidak dipengaruhi oleh faktor hormonal.

Terhadap ketebalan endometrium, hasil penelitian ini menunjukkan ketebalan endometrium pada kelompok perlakuan lebih tebal dibandingkan kelompok kontrol.

Pemberian etinil estradiol dapat mengatasi efek antiestrogenik klomifen sitrat terhadap ketebalan endometrium, hasil yang sama ditunjukkan pada penelitian di Roma tahun 2000. Hasil yang didapatkan adalah persentase ketebalan endometrium  $\geq 9$  mm lebih banyak pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan persentase ketebalan endometrium  $< 9$  mm lebih banyak pada kelompok kontrol.<sup>18</sup> Demikian juga penelitian di Surabaya tahun 2004 dengan metode uji klinis acak terkontrol dengan 40 subyek, menunjukkan kelompok yang mendapat etinil estradiol, ketebalan endometriunya lebih tebal dibandingkan kelompok kontrol.<sup>73</sup> Pada penelitian ini, juga didapatkan ketebalan endometrium meningkat pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol.

Peningkatan ketebalan endometrium berhubungan dengan peningkatan keberhasilan untuk hamil pada penderita infertil yang diterapi.<sup>43</sup> Bila ketebalan endometrium  $\geq 9$  mm, maka angka keberhasilan untuk hamil lebih besar, sedangkan bila ketebalan endometrium  $< 5$  mm, maka angka keberhasilan untuk kehamilan rendah.<sup>44, 77</sup>

Klomifen sitrat menyebabkan reseptor estrogen di endometrium pada fase proliferasi berkurang sehingga ketebalan endometrium menjadi tipis.<sup>59</sup> Peningkatan ketebalan endometrium pada kelompok perlakuan diduga karena estrogen eksogen mampu menggeser ikatan klomifen sitrat dengan reseptor estrogen di endometrium.<sup>73</sup>

Terapi klomifen sitrat akan meningkatkan kadar estradiol suprafisiologis, namun efek antiestrogenik klomifen sitrat tetap terjadi.<sup>45,60</sup> Penambahan estrogen eksogen untuk mengimbangi efek antiestrogenik tersebut.<sup>11</sup> Pada penelitian ini, penderita yang mendapat

tambahan etinil estradiol ketebalan endometrium meningkat, sedangkan jumlah nilai lendir serviks tidak berbeda dengan penderita yang tidak mendapatkan tambahan etinil estradiol.

Faktor yang mempengaruhi proses implantasi antara lain kesiapan endometrium untuk menerima *blastocyst* yang merupakan peristiwa biomolekuler dari endometrium. Nidasi dan invasi trofoblas pada awal pertumbuhan embrio dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti fluktuasi hormon parakrin, reaksi jaringan lokal yang terjadi pada trofoblas dan desidua, serta peran metaloproteinase dan protein adhesi. Perubahan-perubahan endometrium tersebut digunakan untuk memperkirakan keberhasilan kehamilan. Perubahan yang dapat dinilai secara ultrasonografi selain ketebalan endometrium, juga ekogenitas endometrium, dan *pulsatility index* arteri uterina. Sedangkan secara biokimiawi, dilakukan penilaian terhadap sitokin, *growth factor*, reseptor dan enzim yang berperan dalam aposisi, adhesi dan invasi *blastocyst* ke dalam endometrium.<sup>78</sup>

Preparat etinil estradiol diberikan secara peroral, konsentrasi plasma puncak 2-3 jam setelah pemberian. dengan waktu paruh 7 jam dan mengalami inaktivasi oleh hepar dan diekskresi waktu 13-27 jam. Proses degradasi menjadi senyawa yang kurang aktif yaitu estriol dan estron untuk kemudian dikonjugasi dengan asam sulfat atau glukoronat, akhirnya diekskresi melalui urin dan feses, sehingga tidak mempunyai efek kumulasi. Oleh karena itu etinil estradiol tidak mempengaruhi perkembangan folikel pada siklus berikutnya.<sup>66</sup>

Penilaian lendir serviks terutama viskositas tidak dapat dilakukan secara akurat karena lendir serviks bukan suatu cairan yang homogen, sehingga dalam menilai lendir serviks mungkin terjadi perbedaan dalam menentukan nilai rheologi.

## **BAB 7**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **SIMPULAN**

1. Penambahan etinil estradiol pada induksi ovulasi menggunakan klomifen sitrat tidak meningkatkan nilai rheologi lendir serviks.
2. Penambahan etinil estradiol pada induksi ovulasi menggunakan klomifen sitrat meningkatkan ketebalan endometrium.

#### **SARAN**

Selain faktor lendir serviks dan ketebalan endometrium, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi penerimaan endometrium untuk keberhasilan proses implantasi hasil konsepsi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Hornstein MD, Schust D. Infertility. In: Berek JS, Adashi EY, Hillard PA, editors. *Novak's gynecology* 12<sup>th</sup> ed. Baltimore:William & Wilkins;1996.p.915-62.
2. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Female infertility. In: Mitchell C, Reter R, Stewart J, Magee RD, editors. *Clinical gynecologic endocrinology and fertility*. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore:William & Wilkins; 1994.p.1013-42.
3. Baziad A. *Endokrinologi ginekologi*. Edisi ke 2. Jakarta:Media Aesculapius; 2003.
4. Randall JM, Templeton A. Cervical mucus score and in vitro sperm mucus interaction in spontaneous and clomiphene citrate cycle. *Fertil Steril* 1991;56(3):465-8.
5. Maxson WS, Pittaway DE, Herbert CM, Garner CH, Wentz AC. Antiestrogenic effect of clomiphene citrate: correlation with serum estradiol concentrations. *Fertil Steril* 1984;42(3):356-9.
6. Thompson LA, Baratt CLR, Thornton SJ, Bolton AE, Cooke ID. The effect of clomiphene citrate and cyclofenil on cervical mucus volume and receptivity over the periovulatory period. *Fertil Steril* 1993;59:125-9.
7. Gelety TJ, Buyalos RP. The effect of clomiphene citrate and menopausal gonadotropins on cervical mucus in ovulatory cycles. *Fertil Steril* 1993;60:471-6.
8. Sher G, Katz M. Inadequate cervical mucus: a cause of idiopathic infertility. *Fertil Steril* 1976;27:886-91.
9. Acharya U, Irvine DS, Hamilton MP, Templeton AA. The effect of three anti-oestrogen drugs on cervical mucus quality and in-vitro sperm-cervical mucus interaction in ovulatory women. *Hum Reprod* 1993;8(3):437-41
10. Marchini M, Dorta M, Bombelli F, Ruspa M, Campana A, Dolcetta G, et al. Effect of clomiphene citrate on cervical mucus: analysis of some influencing factors. *Int J Fertil* 1989;34(2):154-9.
11. Massai MR, de Ziegler D, Lesobre V, Bergeron C, Frydman R, Bouchard P. Clomiphene citrate affects cervical mucus and endometrial morphology independently of the changes in plasma hormonal level induced by multiple follicular recruitment. *Fertil Steril* 1993;59(6):1179-86.
12. Sas M, Godo G, Szollosi J. Response of the cervical factor to combined treatment with clomiphene and ethinyl-oestradiol. *Acta Med Hung* 1984;41(2-3):103-12.
13. Roumen FJ. Decreased quality of cervix mucus under the influence of clomiphene: a meta-analysis. *Ned Tijdschr Geneesk* 1997;141(49):2401-5.
14. Kokia E, Bider D, Lunenfeld B, Blankstein J, Mashiach S, Ben-Rafael Z. Addition of exogenous estrogens to improve cervical mucus following clomiphene citrate medication. Patient selection. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1990; 69(2):139-42.
15. Langer R, Golan A, Ron-el R, Pansky M, Neuman M, Caspi E. Hormonal changes related to impairment of cervical mucus in cycles stimulated by clomiphene citrate. *Aust NZ J Obstet Gynaecol* 1990;30(3):254-6.
16. Garcea N, Giacchi E, Campo S, Messina M, Panetta V, Moneta E. Canalization of human cervical mucus. *Obstet Gynecol* 1984;64:164-9.

17. Check JH, Dietterich C, Lurie D. The effect of consecutive cycles of clomiphene citrate therapy on endometrial thickness and echo pattern. *Obstet Gynecol* 1995;86(3):341-5.
18. Gerli S, Gholami H, Manna A, DiFrega AS, Vitiello C, Unfer V. Use of ethinyl estradiol to reverse the antiestrogenic effect of clomiphene citrate in patients undergoing intrauterine insemination: a comparative, randomized study. *Fertil Steril* 2000;73(1):85-8.
19. Yagel S, Ben-Cherit A, Anteby E, Zacut d, Hochner-Celnikier D, Ron M. The effect of ethinyl estradiol on endometrial thickness and uterine volume during ovulation induction by clomiphene citrate. *Fertil Steril* 1992;57(1):33-6.
20. Check JH, Adelson HG, Davies E. Effect of clomiphene citrate therapy on postcoital test in successive treatment cycles including response to supplemental estrogen therapy. *Arch Androl* 1994;32(1):69-76.
21. Jacoeb TZ, Baziad A, Surjana EJ, Soebijanto S, Rachman IA. Pemakaian gabungan epimestrol dan klomifen sitrat untuk pemicuan ovulasi. *MOGI* 1986;12:149-56.
22. Bateman BG, Nunley WC, Kolp LA. Exogenous estrogen therapy for treatment of clomiphene citrate-induced cervical mucus abnormalities: is it effective? *Fertil Steril* 1990;54(4):577-9.
23. Punnonen R, Multamaki s, Honkonen E. Estrogen in the treatment of abnormal cervical mucus infertility. *Acta Eur Fertil* 1984;15(3):171-4.
24. Merwe JV. The effect of clomiphene and conjugated oestrogens on cervical mucus. *A Afr Med J* 1981;60(9):347-9.
25. Palter SF, Olive DL. Reproductive physiology. In: Berek JS, Adashi EY, Hillard PA ed. *Novak's gynecology* 12<sup>th</sup> ed. Baltimore:William & Wilkins;1996.p.149-74.
26. Ganong WF. Physiology of reproduction in women. In: DeCherney AH, Pernoll ML editors. *Curr obstetric & gynecologic diagnosis & treatment*. 8<sup>th</sup> ed. Connecticut:Appleton&Lange;1994.p.124-45.
27. Smith YR, Randolph JF, Christman GM, Ansbacher R, Howe DL, Hurd WW. Comparison of low-technology and high technology monitoring of clomiphene citrate ovulation induction. *Fertil Steril* 1998;70(1):165-7.
28. Roman GS, Long CA, Reshef E, Dodds W, Gast MJ. Monitoring the ovulation induction cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172(2):785-9.
29. Stillman RJ, Arbit DI. Monitoring ovulation. In: Wallach EE, Zacur HA, editors. *Reproductive medicine and surgery*. 1<sup>st</sup> ed. St Louis Missouri: Mosby;1995.p.569-90
30. Gorodeski GI, Pal D. Involment of estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  in the regulation of cervical permeability. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000;278:C689-96
31. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Sperm and egg transport, fertilization, and implantation. In: Mitchell C, Reter R, Stewart J, Magee RD, editors. *Clinical gynecologic endocrinology and fertility*. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore:William & Wilkins; 1994.p.247-74
32. Odeblad E. Discovery of different types of cervical mucus and the billings ovulation method. *Bulletin of ovulation method research and reference centre of Australia* 1994;21:3-35.
33. Moghissi KS. Cervical factor in infertility. In: Wallach EE , Zacur HA, editors. *Reproductive medicine and surgery*. 1<sup>st</sup> ed. St Louis Missouri: Mosby; 1995.p.376-96.
34. Hafez ESE. Sperm transport. In: Behrman SJ, Kistner RW, editors. *Progress in infertility*. 2<sup>nd</sup> ed. Boston:Little Brown and Company; 1975.p.143-69.

35. Davajan V, Nakamura RM. The cervical factor. In: Behrman SJ, Kistner RW, editors. Progress in infertility. 2<sup>nd</sup> ed. Boston:Little Brown and Company; 1975.p.17-41.
36. Odeblad E. Investigations on the physiological basis for fertility awareness. Bulletin of ovulation method research and reference centre of Australia 2002;29:2-11.
37. World Health Organization. Laboratory manual for examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4<sup>th</sup> ed. Cambridge:Cambridge University Press; 1999.
38. Moghissi KS. Infertility evaluation. Targeting the work up and management. Women's health in primary care 2002;5(3):155-67.
39. Speroff L, Glass RH, Kase NG. The uterus. In: Mitchell C, Reter R, Stewart J, Magee RD, editors. Clinical gynecologic endocrinology and fertility. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore:William & Wilkins; 1994.p.123-158.
40. Fleischer AC, Vasquez JM, Parsons AK. Transvaginal sonography in gynecologic infertility. In: Fleischer AC, Manning FA, Jeanty P, Romero R, editors. Sonography in obstetrics and gynecology. 6<sup>th</sup> ed. Norwalk:Appleton & Lange; 2003.p.1047-76.
41. Drugan A, Itskovitz J, Brandes JM. The use of transvaginal sonography in the diagnosis and treatment of infertility. In: Timor-Tritsch IE, Rottem S, editors. Transvaginal sonography 2<sup>nd</sup> ed. New York:Elsevier; 1991.p.193-210.
42. Kovacs P, Matyas Sz, Boda K, Kaali SG. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. Hum reprod 2003;18(11):2337-41.
43. Zang X, Chen CH, Confino E, Barnes R, Milad M, Kazer RR. Increased endometrial thickness is associated with improved treatment outcome for selected patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. Fertil Steril 2005;83(2):336-40.
44. Noyes N, Liu DC, Sultan K, Schattman G, Rosenwaks Z. Endometrial thickness appears to be a significant factor in embryo implantation in in-vitro fertilization. Hum reprod 1995;10:919-22.
45. Practice committee of the American Society for Reproductive Medicine. Use of clomiphene citrate in women. Fertil Steril 2003;80(5):1302-8
46. Adashi EY. Clomiphene citrate initiated ovulation. In: Wallach EE , Zacur HA, editors. Reproductive medicine and surgery. 1<sup>st</sup> ed. St Lous Missouri:Mosby; 1995.p.593-607
47. Lavery S. Drugs used in reproductive medicine. Curr Obstetr Gynaecol 2003;13:355-61.
48. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Induction of ovulation. In: Mitchell C, Reter R, Stewart J, Magee RD, editors. Clinical gynecologic endocrinology and fertility. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore:William & Wilkins; 1994.p.1097-132.
49. Chrousos GP. The gonadal hormones and inhibitors. In: Katzung BG, editor. Basic and clinical pharmacology. 9<sup>th</sup> ed. New York:McGraw Hill 2004.p.661-92.
50. Goldfien A. Ovaries. In: Greenspan FS, Gardner DG, editors. Basic & clinical endocrinology. 6<sup>th</sup> ed. New York:Mc Graw Hill; 2001.p.453-508.
51. American College of Obstetricians and Gynecologists. Management of infertility caused by ovulatory dysfunction. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Obstet Gynecol 2002;99(2):347-58
52. Wallach EE. Induction ovulation. In: Wallach EE , Zacur HA, editors. Reproductive medicine and surgery. 1<sup>st</sup> ed. St Lous Missouri:Mosby; 1995.p.555-67.
53. Balen A. Ovulation induction. Curr Obstetr Gynaecol 2004;14:261-8.
54. Imani B, Eijkemans MJC, te Velde ER, Habbema JDF, Fauser BCIM. Predictors of chances to conceive in ovulatory patients during clomiphene citrate induction of

- ovulation in normogonadotropic oligoamenorrhoeic infertility. *J Clin Endocrinol Metabol* 1999;84(5):1617-22.
55. Shoham Z. Drug used for controlled ovarian stimulation: clomiphene citrate and gonadotropins. In: Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z, editors. *Textbook of assisted reproductive techniques. Laboratory and clinical perspectives.* London:Martin Dunitz Ltd; 2001.p.413-24.
  56. Amino AR. Induksi ovulasi pada senggama terencana dan inseminasi buatan intra uterin. *Kursus penanganan infertilitas dasar. KOGI XII 2003*.p.59-83.
  57. Vandekerckhove P, Lilford R, Vail A, Hughes E. Clomiphene or tamoxifen for idiopathic oligo/asthenospermia. *The Cochrane Library* 2001;4.
  58. Asaad M, Abdulla U, Hipkin L, Diver M. The effect of clomiphene citrate treatment on cervical mucus and plasma estradiol and progesteron levels. *Fertil Steril* 1993;59(3):539-42.
  59. Nakamura Y, Ono M, Yoshida Y, Sugino N, Ueda K, Kato H. Effects of clomiphene citrate on the endometrial thickness and echogenic pattern of the endometrium. *Fertil Steril* 1997;67(2):256-60.
  60. Haritha S, Rajagopalan G. Follicular growth, endometrial thickness, and serum estradiol levels in spontaneous and clomiphne citrate-induced cycles. *Intl J Gynecol Obstet* 2003;81:287-92.
  61. Dehbashi S, Parsanezhad ME, Alborzi S, Zarei A. Effect of clomiphene citrate on endometrium thickness and echogenic patterns. *Intl J Gynecol Obstet* 2003;80:49-53.
  62. Dickey RP, Holtkamp DE. Development, pharmacology and clinical experience with clomiphene citrate. *Hum Reprod Update* 1996;2(6):483-506.
  63. Biljan MM, Mahutte NG, Tulandi T, Tan SL. Prospective randomized double-blind trial of the correlation between time of administration and antiestrogenic effects of clomiphene citrate on reproductive end organs. *Fertil Steril* 1999;71(4):633-8.
  64. Kelekci S, Saygili-Yilmaz E, Inan I, Eminsoy G. A trial of a new regimen with clomiphene citrate administration to reduce the antiestrogenic effect on reproductive end organs. *Euro J Obstet Gynecol* 2004;116:54-7.
  65. Suherman SK. Estrogen, antiestrogen, progestin dan kontrasepsi hormonal. *In: Farmakologi dan terapi.* Jakarta:Gaya Baru; 1991.p.390-407.
  66. Murad F, Kuret JA. Estrogens and progestins. In: Goodman and Gilman's. *The pharmacological basic of therapeutics.* 8<sup>th</sup> ed. New York:McGrawHill;1993.p.1384-412
  67. Kerr JF. Ethinyl estradiol. Toxicology treatment program. <http://www.inchem.org>
  68. Anonymous. Ethinyl estradiol. <http://www.mdconsult.com>
  69. O'Malley BW, Strott CA. Steroid hormones: metabolism and mechanism of action. In: Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri RL, editors. *Reproductive endocrinology.* 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia:WB Saunders; 1999.p.110-31.
  70. Page EW, Ville CA, Ville DB. Human reproduction. *Essentials of reproductive and perinatal medicine.* 3<sup>th</sup> ed. Philadelphia:WB Saunder; 1981.p.59-67.
  71. Taylor P, Insel PA. Moleculer basic of drug action. In: Pratt WB, Taylor P, editors. *Principles of drug action. The basic of pharmacology.* 3<sup>th</sup> ed. New York:Churchill Livingstone; 1990.p.103-200.
  72. Carr BR, Griffin JE. Fertility control and its complication. In: Wilson JD, Foster DW. *William textbook of endocrinology.* Philadelphia:WB Saunders; 1992.p.1008-15.

73. Ratna SD. Uji banding tebal dan pola ekogenik endometrium pada wanita infertil yang mendapat induksi ovulasi klomifen sitrat dengan tambahan etinil estradiol dengan hanya mendapatkan klomifen sitrat. MOGI 2004;28:78
74. Balat O, Kokcii A, Coksenim S, Ustun C. The effect of exogenous estrogen on ovarium folliculometric finding in ovulation induction with clomiphene. J Turgut Ozal Med Centre 1996;3(3):191-4.
75. Check JH, Wu CH, Dietterich C, Lauer CC, Liss J. The treatment of cervical factor with ethinyl estradiol and human menopause gonadotropins. Int J Fertil 1986;31(2):148-52.
76. Samsulhadi. Pengaruh gaya hidup pada kesuburan. MOGI 2005;29(3):135-44
- 77.** Troncoso C, Bosh E, Epifanio R, Simon C, Pellicer A, Remohi J. Endometrial thickness and serum oestradiol level as predictors of success in oocyte donation. Fertil Steril 2003;80(3S):164.
78. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Sperm and egg transport, fertilization, and implantation. In: Mitchell C, Reter R, Stewart J, Magee RD, editors. Clinical gynecologic endocrinology and fertility. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore:William & Wilkins; 1994.p.247-69.