



Apa dan bagaimana fertilisasi dengan bantuan

What and how is the assisted fertilization

Bambang Wasito dan Taufiq Hidayat

Research and Development Center of Health Service, Surabaya

KEY WORDS ART, GIFT, ZIFT, IVGET, ICSI, Infertility

ABSTRACT *Infertility is condition where pregnancy was never took place after 12 months of coitus without contraception. This is a problem of a spouse, since husband and wife has their own contribution in the rate of success of fertility potency of **the spouse**. **Assisted Reproductive Technology (ART)** is medical techniques to help reproductive process in over coming the the impediment of the meeting of a sperm and an ovum that leads to a conception or fertilization. Artificial Insemination technique using husband's sperm has a long record in helping infertile couple, but its rate of success is merely around 5%. Other technique is GIFT or Gamete Intra-Follopian Transfer, ZIFT or Zygote Intra Follopian Transfer and IVFET or In Vitro Fertilization-Embryo Transfer. The implementation of ART technique with micro manipulation gives hope to improve the rate of success, particularly to the infertile couple where husband has poor sperm condition. In 1992 is the milestone where the first pregnancy using ICSI or Intra Cytoplasmic Sperm Injection was published. From that time on, the rate of success is significantly improving The ICSI technique uses only one spermatozoon to fertilize an ovum.*

Salah satu misi Pembangunan kesehatan Nasional untuk menuju Indonesia Sehat 2010 adalah memelihara dan meningkatkan kesehatan keluarga. Hal ini merupakan alasan pelayanan kesehatan terhadap pasangan suami-istri yang belum dikaruniai anak adalah sama dengan pasangan yang ingin menjarangkan atau membatasi jumlah anaknya. Angka infertilitas yang sebenarnya di Indonesia belum diketahui secara pasti, namun dari hasil-hasil sensus penduduk diperkirakan berkisar antara 12 %-15 %.

Dari segi Ginekologis, faktor penyebab infertilitas antara lain: faktor ovulasi, faktor tuba dan pelvik, faktor serviks, dan uterus, faktor vagina, faktor imunologik, serta faktor nutrisi dan metabolik. Sedang dari segi Andrologi penyebab infertilitas antara lain: faktor disfungsi seksual dan atau ejakulasi, faktor varikokel, faktor imunologik, faktor sebab tak dapat dipertunjukkan, faktor kelainan plasma semen,

faktor iatrogenik, faktor sistemik, faktor infeksi kelenjar seks asesori, faktor endokrin, faktor oligo zoospermia idiopatik, faktor astheno zoospermia idiopatik, faktor terato zoospermia ideopatik, faktor azoospermia obstruktif, faktor azoospermia ideopatik Untuk mengatasi faktor-faktor penyebab infertilitas yang begitu banyak baik pada wanita maupun pria , maka tujuan utama agar proses reproduksi dapat berlangsung sampai terjadinya kehamilan dan persalinan pada pasangan wanita, maka dikembangkan teknik-teknik reproduksi (Hinting 1996). Teknik-teknik tersebut dapat berupa teknik yang sederhana sampai dengan teknik yang canggih dan mutahir antara lain: pengaturan

Correspondence:

Dr. Bambang Wasito, MS,SpAnd, Research and Development Center of Health Service Surabaya, Jalan Indrapura No. 17, Surabaya 60176, Telephone 031-3522952, 3528748 Facsimile: 3528749.

saat sanggama yang tepat, pemberian obat-obatan, operasi rekonstruktif, dan "Assisted Reproductive Techniques". Secara harfiah "Assisted Reproductive Techniques" (ART) adalah: teknik-teknik reproduksi yang dibantu atau dengan bantuan WHO memakai istilah "Medically Assisted Conception" bantuan yang dimaksud adalah bantuan secara medik. Karena yang dibantu tidak hanya konsepsi atau fertilitasnya saja, juga implantasi atau proses-proses lainnya, mungkin istilah yang lebih tepat adalah "Medically Assisted Reproduction". Yang dimaksud dengan "Assisted Reproductive Techniques" adalah: teknik-teknik reproduksi tanpa melakukan senggama tetapi dengan bantuan secara medik. Menurut tempat fertilisasinya, ART dibagi menjadi dua jenis, yakni teknik dengan fertilisasi In Vivo dan dengan fertilisasi In Vitro (Ekstra Korporeal). Pembagian ini penting karena teknik-teknik fertilisasi In Vivo memerlukan persyaratan salah satu tuba harus paten dan normal. Termasuk ART In Vivo adalah: Intra Uterine Insemination (IUI) , Gamete Intra Fallopian Transfer (GIFT), sedang ART dengan fertilisasi In Vitro adalah : "Invitro Fertilisation Embryo Transfer (IVFET) dikenal dengan istilah Bayi Tabung, dan "Zygote Intra Fallopian Transfer" (ZIFT).

Sebenarnya telah dimulai kurang lebih satu abad percobaan-percobaan ke arah fertilisasi di luar tubuh telah banyak dicoba. Pada tahun 1971 Steptoe dan Purdy berhasil membuahi sel telur manusia mencapai stadium blastokis setelah fertilisasi invitro. Setelah kelahiran bayi tabung tahun 1978 maka timbullah senter-senter bayi tabung yang tersebar di seluruh dunia dan banyak percobaan-percobaan untuk memperbaiki teknik yang sudah ada. Banyak kemajuan yang telah dicapai terutama dari kelompok Trouson dan Wood dari Australia, salah satu diantaranya adalah keberhasilannya dalam menggunakan stimulasi ovum (super induksi ovulasi) sehingga bisa didapatkan lebih dari satu oosit dalam satu siklus, yang sampai sakarang masih tetap digunakan di senter-senter lain diseluruh dunia. Disamping itu mereka berhasil mengupayakan donasi oosit pada wanita dengan menopause

prekoks, erhasil pula dengan aspirasi sperma dari epidemis pria dengan pembuntuan saluran deferen, mereka juga berhasil mendapatkan keberhasilan dari embrio yang telah dibekukan.

APA YANG DIMAKSUD DENGAN "BAYI TABUNG" FERTILISASI IN VITRO-EMBRIO TRASFER (FIV-ET)

Pengambilan sel telur dari folikel matang didalam rahim, kemudian mempertemukannya dengan sel sperma dengan medium kultul diluar tubuh. Setelah terjadi pembuahan dan berkembang sampai stadium morula, embrio tersebut dipindahkan kedalam rahim. Teknik ini lebih dikenal di Indonesia dengan istilah "Bayi Tabung" atau Fertilisasi In Vitro-Embrio Trasfer (FIV-ET).

INDIKASI "BAYI TABUNG"

"Bayi Tabung" merupakan salah satu alternatif saja untuk menolong pasangan infertil, mengingat bahwa teknik "Bayi Tabung" ini memerlukan penanganan dan laboratorium khusus dengan biaya yang masih relatif lebih mahal. Oleh karena itu sebelum diputuskan bahwa pasangan tersebut memang perlu ditolong dengan "Bayi Tabung" perlu pertimbangan yang masak baik oleh dokter yang merawat maupun oleh pasangan yang bersangkutan. Indikasi "Bayi Tabung" ini antara lain (Hadi, 1991):

1. Faktor istri

a. Kelainan tuba

Merupakan indikasi utama dari "Bayi Tabung" FIV-ET, faktor tuba ini merupakan faktor penyebab infertilitas yang paling sering dijumpai meliputi kurang lebih 25-50% (Sumapradja, 1980), sedangkan WHO mencatat untuk tuba buntu koleteral 11.2%, dan kelainan tuba yang lain 9.2%, perlekatan pelvis 11.0% dan endometriosis 4.5%. Kelainan tuba ini pada umumnya disebabkan karena infeksi atau endometriosis. Santoso dan Hadi selama 7 tahun (1979-1986) dari 669 yang dikerjakan laporoskopi terdapat

243 kasus didapatkan kelainan tuba yang diusulkan untuk dikerjakannya rekonstruksi. Perawatan pasangan infertil dengan tuba ini ada dua pilihan, FIV-ET atau rekonstruksi dengan teknik bedah mikro.

b. Endometriosis

Endometriosis merupakan prolema yang sangat tua dan cukup pelik dibidang ginekologi terutama dibidang reproduksi. Endometriosis dapat menyebabkan Infertilitas. Diduga melalui beberapa mekanisme antara lain :1. Pembuntuan tuba, 2. Perlekatan/faktor peritonium, 3. Merusak jaringan (ovarium), 4. Kadar prostaglandin yang meningkat sehingga peristaltik tuba terganggu, 5. Faktor Immunologik. Dampak lain dari endometriosis adalah adanya angka kejadian abortus yang meningkat, sekitar 34%-46%.

c. Faktor servik

Bila faktor servik saja sedangkan faktor lainnya baik maka pemikiran pertama adalah intra uteri inseminasi suami. Baru bila gagal dapat dipikirkan GIFT atau ZIFT.

d. Interfertilitas idiopatik

Diagnosa infertilitas idiopatik tentunya tergantung pada sarana pemeriksaan dari klinik tersebut, oleh karena itu sulit untuk dibuat definisi yang baku. Moghissi dan Wallach (1983), membuat batasan dasar dari infertilitas idiopatik ini. Yaitu bila pada pemeriksaan didapatkan :

- Siklus menstruasi normal dengan interval rata-rata 21-35 hari; defek fase luteal jarang terjadi dalam jangka waktu yang cukup lama walaupun pada infertilitas idiopatik, oleh karena itu evaluasi ini sebaiknya dikerjakan selama 6 siklus.
- Normal uji pasca sanggama paling tidak terdapat satu spermatozoa yang aktif bergerak maju pada setiap lapangan pandang besar mikroskop 12 jam sesudah koitus.

- Normal laparoskopi diagnostik, genetalia interna tampak normal tidak ada sedikitpun perlekatan atau tanda-tanda endometriosis.

- Normal frekuensi koitus, sedikitnya dua kali seminggu atau paling tidak koitus pada saat yang tepat sekitar ovulasi yang diketahui dengan keadaan mukus servik dan atau dengan adanya lonjakan LH.

Lain lagi dengan Welner (1988) yang memberi batas ferti-litas idiopatik bila didapatkan: normal temperatur badan basal atau normal pada hasil pemeriksaan histopatologi biopsi endometrium pada akhir fase luteal; uji paska sanggama dengan lendir servik jernih dan terdapat > 5 sperma motil per lapang pandang besar; analisa semen dengan jumlah. 20 juta/ml, 50% bentuk normal; foto HSG paling tidak satu tuba paten; dan pada laparoskopi minimal satu tuba normal

e. Faktor imunologik

Faktor imunologik ini dimaksudkan bila didalam serum istri dijumpai anti body (isoimun) sedangkan untuk anti sperma antibody yang berada pada semen (autoimun) akan dibicarakan pada faktor suami.

f. Anovulasi

Pasangan-pasangan yang tidak memberi hasil dengan obat-obat induksi ovulasi, dapat dicoba dengan induksi ovulasi memakai protokol FIV misalnya dengan memakai FSH murni.

2. Faktor suami

Banyak parameter yang digunakan untuk menilai kesuburan suami antara lain konsentrasi, motilitas, morfologi dan lebih jauh bila perlu dinilai pula faktor imunologik. Untuk teknik pembantu reproduksi dengan indikasi faktor suami ini Hinting (1996) membuat pegangan, bila terdapat 1. Faktor imunologik tes MAR > 40%, maka sebaiknya dikerjakan FIV 2. Bila tidak terdapat faktor imunologik maka dilihat konsentrasinya, bila konsentrasi > 20 juta/ml maka sebaik-

nya juga FIV. Tetapi bila konsentrasi > 20 juta/ml maka dilihat motilitas serta morfologinya. 3. Pada motilitas yang kurang baik (motilitas grade a<25%) dipikirkan GIFT (Gamete Intra Fallopian Trasfer) atau FIV. Selain mempunyai arti terapi sebenarnya FIV atau ZIFT (Zygote Intra Fallopian Trasfer) ini dari bidang andrologi juga mempunyai arti diagnostik. Semua parameter diatas, yang biasa dipakai pada pemeriksaan analisa sperma rutin, sebenarnya belum menggambarkan keadaan sebenarnya apakah spermatozoa tersebut mampu membuahi ovum atau tidak.

Apabila sel sperma dalam ejakulasi berjumlah sedikit dianjurkan FIV dengan teknik ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection), apabila tidak ada sel sperma sama sekali pada ejakulasi, untuk mendapatkan sel sperma akan dilakukan TESE (Testicular Sperm Extraction), PESA (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration) atau MESA (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration).

SYARAT-SYARAT MENGIKUTI PROGRAM "BAYI TABUNG" (FIV-ET)

- Perkawinan yang sah
- Sebaiknya usia isteri kurang dari 40 tahun
- Mengetahui resiko kegagalannya
- Melakukan pemeriksaan lengkap
- Sudah dilakukan penanganan secara konvensional, tetapi tidak juga berhasil hamil
- Sebaiknya jumlah sel-sel sperma (5-20 juta/cc), pergerakan dan bentuknya mencukupi.

PROSEDUR PELAKSANAAN

Ada beberapa tahap proses, yaitu (Hadi, 1991):

1. Pemeriksaan persiapan
2. Pemberian obat untuk memicu sel telur
3. Petik ovum (Ovum Pick Up: OPU)
4. Persiapan sperma
5. Fertilisasi In Vitro (FIV)
6. Embrio Trasfer (Tandur Alih Mudigah)

1. Pemeriksaan Persiapan

Setelah memutuskan akan melakukan tindakan FIV, biasanya dokter melakukan persiapan guna mendukung penanganan FIV agar lebih baik, seperti:

- Meninjau kembali data pasien
Seperti riwayat perkawinan, kehamilan, haid 6 bulan terakhir, dan pengobatan serta penanganan yang pernah dilakukan.
- Pemeriksaan ginekologi
Untuk mengetahui keadaan organ genitalia dalam dan luar, seperti keadaan vagina, indung telur, leher rahim, rahim, dan arah rahim.
- Pemeriksaan USG
Pemeriksaan USG transvaginal untuk menilai besar, bentuk, arah, posisi atau kelainan rahim, seperti *myoma*, serta ukuran dan letak indung telur, jumlah dan ukuran folikel dan kemungkinan adanya penyakit kista.
- Pemeriksaan hormonal
Untuk mengetahui kadar FSH, LH, E2, PRL dan P4 sehingga dapat dilihat fungsi *ovarium* adakah kista indung telur, apakah sel telur dapat berkembang dan berovulasi, termasuk bagaimana kemungkinan respon indung telur terhadap obat pemicu sel telur.
- Analisa sperma
Untuk melihat kuantitas dan kualitas sel sperma sebelum dan sesudah pencucian sperma dan *leukosit* sebagai tanda infeksi yang mengganggu proses *fertilisasi*.
- Pemeriksaan serologi
Dilakukan pada pasangan suami istri untuk mengetahui apakah ada antibodi darah untuk melindungi tubuh dari penyakit.
- Pemeriksaan lainnya
Untuk menghindari hambatan selama masa pembuahan atau apabila terjadi kehamilan maka dilakukan beberapa pemeriksaan pasangan suami istri yang menyangkut kesehatan tubuh pada umumnya dan reproduksi seperti

deteksi : sifilis, TORCH-KM, hepatitis B atau C, dan HIV/AIDS.

- Pemeriksaan *Laparoskopi*

Mengingat biayanya mahal maka pemeriksaan ini dilakukan secara selektif pada pasien-pasien dengan dugaan *endometriosis* berat atau kista *endometriosis* atau indung telur, *hidrosalping* (penimbunan cairan dalam saluran telur) dan posisi indung telur yang tidak menguntungkan untuk aspirasi transvaginal.

2. Pemberian Obat-obatan Untuk Memicu Sel Telur (Sukaputra,1990)

Pemicuan/induksi ovulasi pada program ini berbeda dengan pemicuan ovulasi biasa (yang diberikan pada pasangan infertil biasa). Pemicuan disini diharapkan menghasilkan lebih dari satu folikel yang dominan, dan menghasilkan beberapa ovum yang matang/mature yang siap untuk dibuahi/fertilisasi.

Bermacam-macam metoda diperkenalkan oleh senter-senter FIV-ET diluar negeri dan mereka menyatakan keberhasilan yang dicapai, tapi sampai saat ini belum ditemukan satu metode yang baku dengan hasil yang terbaik. Setiap metode pemicuan ovulasi selalu mempunyai semua kondisi penderita.

Beberapa protokol pemicuan ovulasi pada program FIV-ET.

- Stimulasi dengan C.C + HMG + HCG

C.C dimulai hari ketiga dosis 100 mg/hari selama 5 hari HMG disuntikkan I.M. mulai hari ke 6 daur haid, siang hari dosis 2 ampul per hari, atau dapat dinaikkan bergantung respon E2 maupun besar folikel.

Pemberian dihentikan apabila terdapat kadar E2 lebih dari 250 pg/folikel, dengan lebih dari 2 folikel berukuran 1,8 cm.

HCG disuntikkan malam hari, dosis 5000-10.000 I.V., bila syarat telah terpenuhi.

O.P.U. dilakukan kira-kira 34-36 jam setelah pemberian HCG.

Keuntungan dengan protokol ini (Diedrich K dkk.1988) :

1. Harga relatif lebih murah
2. Waktu yang tepat untuk laparoscopy/USG
3. Didapatkan 4 Oocyte pada saat Laparoscopy
4. Tidak didapatkan kasus hyperstimulasi yang serius

Kerugian

1. Pemeriksaan yang seksama dari siklus (E2,LH,USG)
2. Kemungkinan timbulnya LH endogen
3. Populasi oocyte yang berlainan (tingkat maturasi berbeda)

Diklinik IVP RSUD Dr. Soetomo:

Pada 16 kasus dicapai total folikel 119, dengan rata-rata 1528 pg/ml

- Stimulasi dengan HMG + HCG

HMG diberikan mulai dari daur haid hari ke 3, dengan dosis pertama 3 ampul dan dapat dinaikkan sesuai kebutuhan hingga dihasilkan kadar E2 250 mg/ml tiap folikel, dan lebih dari 2 folikel dengan diameter 1.8 HCG diberikan 5000-10.000 I.M. apabila syarat telah terpenuhi. OPU dikerjakan 34-36 jam kemudian

Keuntungan:

1. Waktu yang tepat untuk laparoscopy
2. Dihasilkan 6 oocyte per laparoscopy/USG

Kerugian:

1. Pemeriksaan yang seksama pada siklus (E2,LH,Prog)
2. Biaya lebih mahal
3. Bahaya terjadinya hiperstimulasi ovarium
4. Kemungkinan terjadinya "spare" embrio

Di RSUD Dr. Soetomo:

Pada 7 kasus dicapai total folikel 30, dengan rata-rata 4,28 folikel, oocyte 4,25/siklus, ET 1,5/siklus, kadar E2 rata-rata 613,9 pg/ml

- Stimulasi dengan FSH murni dan HCG

FSH (metrodin R) diberikan pada hari ke 3 daur haid I.M. 2 Amp (150 I.U). Dosis dapat dinaikkan bila dibutuhkan hingga dihasilkan 2 folikel berukuran lebih dari 1,8 cm atau kadar estradiol 250 pg/per folikel

Keuntungan

Dapat diberikan pada keadaan hyperandrogenisme, sindroma P.C.O. dan kenaikan ratio LH dibanding FSH.

- Stimulasi dengan GnRH +HMG + HCG GnRH (Buserelin/Sprrefac R) dapat diberikan melalui Long protocol dimulai hari ke 22 daur haid dosis GnRH 6 kali semprot hidung (+ 100 ug) dengan selang waktu 3 jam.

HMG mulai dari hari-hari 2-3 daur haid,2 amp I.M. HCG diberikan bila terdapat 2 folifel dengan ukuran 1,8 cm

Keuntungan yang dapat dikerjakan

1. Pada kasus kegagalan pertumbuhan folikel dengan CC + HMG + HCG
2. Prematur LH surge (Progesteron meningkat >2mg/ml) dapat dicegah
3. Endometriosis
4. Uterus miomatosis
5. Derajat maturasi folikel sama
6. Hyperstimulasi ovarium sangat jarang

Kerugian

1. Biaya mahal
2. Efek supresi GnRH berkelanjutan

Di RSUD Dr. Soetomo:

Pada 12 kasus dicapai total folikel 103, dengan rata-rata 8,6 folikel, oocyte 5,3/siklus,ET 2,27/siklus, kadar E2 rata-rata 214opg/ml

- Pemantauan pada saat pemicuan Pemantauan penderita merupakan kunci utama pada saat pemicuan ovulasi dan harus dikerjakan secara teliti dan seksama demi keberhasilan program FIV-ET.

Pemantauan dibagi menjadi dua cara :

Ultrasonografi

Dapat dikerjakan secara bertahap dengan transvaginal USG:

Pada saat daur haid hari pertama dipantau keadaan ovarium adanya folikel maupun Rest Folicle.

Bersama dengan pemberian HMG maupun HCG dikerjakan pemantauan perkembangan folikel hingga tampak folikel de Graf dengan kumulus oophorus didalamnya, juga dilihat penebalan endometrium dan adanya reaksi decidua.

Pemantauan hormonal

Dikerjakan secara bertahap, dan dimulai dengan:

Hari ke 1 : pemeriksaan kadar FSH, LH, Estradiol, progesteron

Hari ke 6/7/8: Bersamaan dengan pemberian HMG/FSH murni dilakukan pemantauan kadar E2,FSH

Hari ke 9 : bersamaan dengan pemberian HMG/FSH murni, dilakukan pemantauan kadar E2,FSH,LH bila perlu progesteron

Hari ke 11 dan seterusnya dilakukan pemantauan kadar E2 dan LH dan ditunggu saat O.P.U.

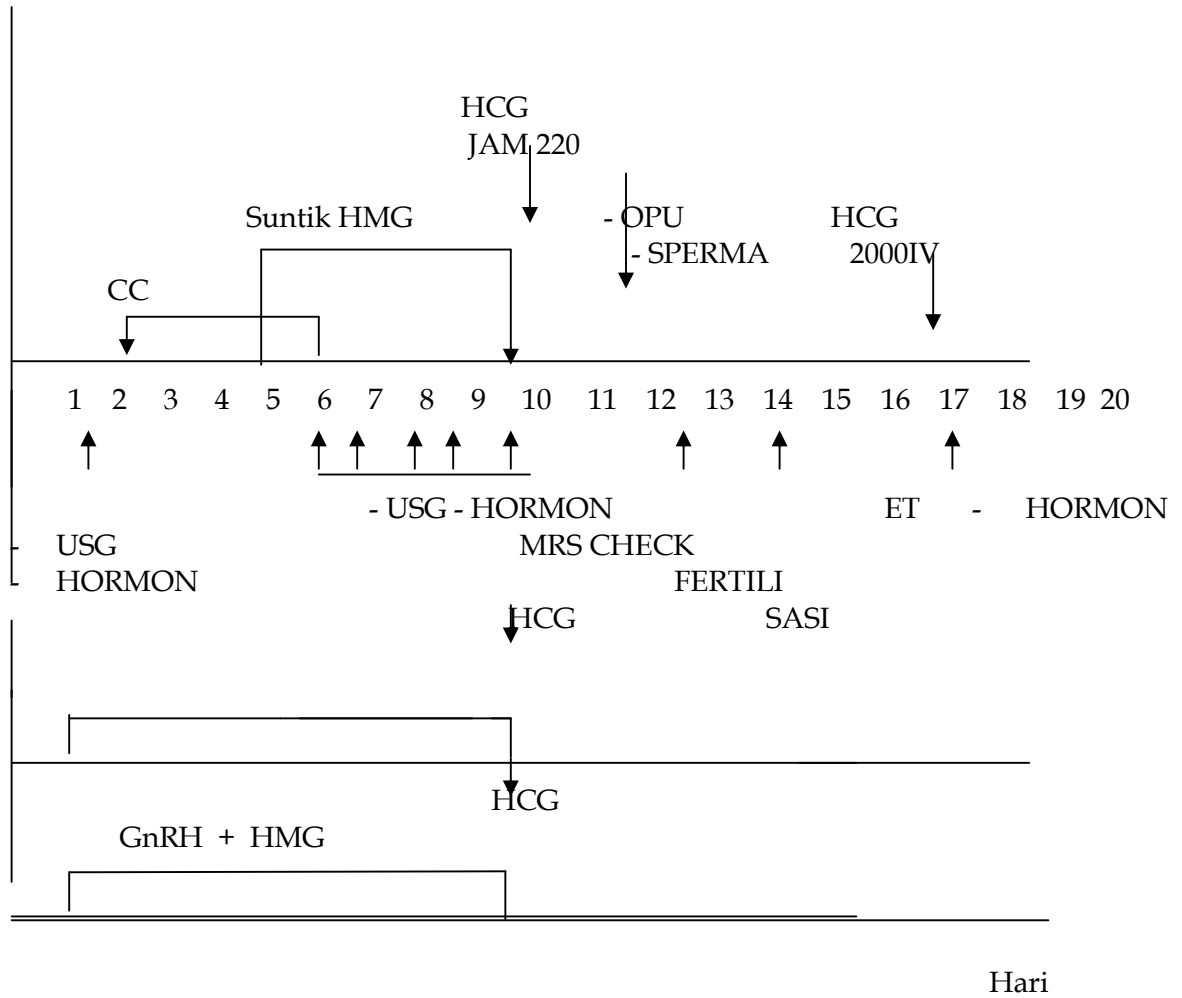
Pemantauan hormonal memegang peranan penting dalam hal:

1. Peningkatan kadar E2 melebihi 1000-1500 mg/ml prognose baik
2. Kadar progesteron yang meningkat lebih dini,melebihi 2 mg/ml, prognose menjadi jelek
3. Kadar LH yang meningkat sebelum waktunya (premature LH peak) prognosenya lebih jelek
4. Kadar E2 yang justru menurun setelah pemberian HCG (>30%) prognosenya jelek

**Skema Pemicuan & pemeriksaan Di Program BATAB
R.S.Dr.Soetomo**

Bagan

Pemicuan



3. Petik Ovum (Soedarto.1990)

Selama siklus pengobatan maka perkembangan folikel-folikel dipantau dengan menggunakan ultrasonografi dan juga pemeriksaan kadar 17-B estradiol didalam serum. Atas dasar hasil pemeriksaan tersebut maka dosis HMG yang diberikan disesuaikan setiap hari

Apabila sekurang-kurangnya terlihat 2 folikel yang cukup matang (diameter kurang lebih 1,8 mm) dan kadar 17-B estradiol mencapai sekurang-kurangnya 1000ng/L, maka akan diberikan suntikan human chorionic Gonadotropin (HCG, Profasi *R) 10.000IU untuk mematangkan sel-sel telur (OPU) biasanya dijadwalkan 36 jam setelah pemberian HCG. Pengambilan sel-sel telur dapat dilakukan dengan bermacam-macam cara :

- a. Teknik laparoscopi : membutuhkan bius local
- b. Bimbingan ultrasonografi : anesthesia lokal atau sedasi
 - _ transabdominal-transversical
 - _ perurethral-transversical
 - _ transvaginal

Teknik terakhir ini yang sekarang paling banyak digunakan karena relatif mudah dan tidak mengandung resiko tinggi. Kadangkadang diperlukan kombinasi dari teknik-teknik tersebut diatas untuk dapat mencapai lokasi indung telur.

Sel telur atau tepatnya oosit disedot dari folikel kedalam tabung untuk kemudian dibawa ke laboratorium, oosit dicari dibawah mikroskop stereo, dipisahkan dari cairan folikel, dicuci dengan medium kultur dan ditempatkan dalam tetes medium kultur, Pada saat ini juga dilakukan penilaian terhadap kematangan sel telur. Oosit dapat dinilai sebagai "mature" (metafase II), "intermediate" (metafase II), atau "immature" (profase I) tergantung dari apa yang terlihat dari morfologi kompleks sel-sel oosit, korona radiata dan kumulus oophorus.

Seluruh kegiatan pengumpulan dikerjakan dimana oosit berada pada lingkungan suhu

37 c dan berisi oosit diletakkan dalam inkubator untuk dieram.

4. Persiapan Sperma (WHO,1992)

Tujuan metode persiapan sperma adalah memisahkan spermatozoa motil dari plasma semen, dengan hasil tuaian semaksimal mungkin dan kerusakan pada sel spermatozoa seminimal mungkin. Selain itu hasil persiapan harus sebersih mungkin dari debris. Hal-hal ini yang mendasari pemilihan dari teknik persiapan sperma. Walaupun terdapat banyak metoda persiapan sperma, saat ini laboratorium ART memilih satu dari metoda pencucian renang atas atau kolom bertingkat Percoll atau teknik migrasi ke samping.

- Pencucian dan Renang Atas ("Washing and Swim up")

Teknik ini meliputi pengenceran sperma dengan medium inseminasi, dua atau tiga kali pemusingan dengan kekuatan rendah (300 sampai 400 g) untuk jangka waktu singkat dalam 1-2 ml medium, atau dilapisi diatasnya dengan 1-2 ml medium, atau diletakkan dibawah 1-2 ml medium. Kemudian dieram selama 30-60 menit dimana saat itu spermatozoa motil berenang keatas dari lapisan bawah. Spermatozoa motil tersebut kemudian dituai dari lapisan atas medium.

Teknik ini sejak lama dianggap sebagai standart persiapan sperma pada beberapa laboratorium ART (Assisted Reproduction Technology).

- Kolom Bertingkat Percoll ("Percoll gradient Column")

Percoll adalah larutan yang mengandung partikel-partikel koloid silica terlapis polyvinyl-pyrrolidone (PVP) dan dapat dibuat dalam berbagai densitas dengan melarutkannya dalam medium.

Kolom dibuat dalam tabung reaksi dengan menempatkan mulai dasar tabung keatas masing-masing 100%, 90%, 70%, 60%, 40%. Ada juga yang menyederhanakan kolom dengan membuat hanya kolom 80-90% dan 40-45% Percoll. Sperma diletakkan diatas kolom dan

tabung kemudian dipusingkan dengan kekuatan 350 sampai 450 g selama 20 menit. Spermatozoa akan terpidah pada tiap-tiap lapisan dan spermatozoa yang terbaik akan terletak dilapisan bawah (90 dan 100%). Sperma dituai dari lapisan bawah, dicuci 1 atau 2 kali, kemudian dilarutkan dalam medium.

Beberapa laboratorium menggunakan teknik ini secara rutin. Teknik ini juga dapat menyingkirkan secara efektif mikroorganisme dan lekosit pada sperma yang tercemar. Saat ini, teknik ini disederhanakan dengan menggunakan 2 kolom Percoll, 45% dan 90% dan diterapkan dengan mudah di laboratorium untuk IUI, IVF maupun ICSI baik pada sperma normal maupun abnormal.

- Teknik Migrasi Ke Samping (Side Migration Technique)

Teknik ini digunakan terutama untuk ICSI pada sperma yang sangat sedikit. Disiapkan tetes-tetes medium pada piring petri dimana terdapat satu tengah tetes kira-kira 200 ul dikelilingi oleh 6-20 tetes kecil masing-masing 10 ul kemudian dilapis dengan minyak mineral. Tetes samping dihubungkan dengan tetes tengah melalui jembatan medium yang dibuat dengan ujung pipet kecil. Sperma yang telah dicuci 2 kali disesuaikan dalam medium kemudian diteteskan ke dalam tetes tengah. Setelah sekitar 10 sampai 60 menit, sperma motil akan bermigrasi ke tetes samping, sedangkan debris, sel-sel lain dan sperma mati tetap ditetes tengah. Dengan menggunakan pipet spermatozoa motil pada tetes samping kemudian dituai.

5. Fertilisasi In Vitro (FIV)

Setelah pengambilan, oosit dieram dan diinseminasi pada tetes medium terpisah untuk memungkinkan pemeriksaan dan penilaian secara sendiri-sendiri. Jangka waktu antara pengumpulan oosit dan inseminasi tergantung dari derajat kematangan oosit pada saat pengambilan. Secara praktis, jika stimulasi ovariumnya optimal,

maka inseminasi dilaksanakan sekitar 3-6 jam setelah pengumpulan oosit. Konsentrasi spermatozoa motil pada saat inseminasi adalah sekitar 50.000 sampai 100.000 per ml. Maka itu, untuk setiap oosit ditetes 50 mikroliter diperlukan sekitar 2.500 sampai 5.000 spermatozoa motil. Jumlah spermatozoa yang terlalu tinggi tidak dianjurkan oleh karena akan meningkatkan kemungkinan polispermi. Disamping itu, beberapa bahan hasil metabolisme spermatozoa yang mengalami degenerasi dapat mengganggu proses fertilisasi.

Adanya fertilisasi dapat dinilai antara 12-18 jam setelah fertilisasi. Kejadian infertilisasi ini sebenarnya mungkin telah terjadi dalam waktu 3 jam setelah inseminasi. Sekitar 18 jam setelah inseminasi, pada umumnya sel-sel kumulus telah terlepas dan mengendap pada dasar tetes kultur sehingga oosit yang mungkin telah difertilisasi dapat dilihat dengan hanya dikelilingi oleh sel-sel korona, Sel-sel ini kemudian dibersihkan dengan pemipetan berulang dan fertilisasi dilihat dengan adanya dua pronuklei (2PN). Penilaian pronuklei ini sangat penting untuk mendeteksi adanya kemungkinan poliploidi harus lebih dari 2 pronuklei. Pre-embrio dengan poliploidi harus disingkirkan, oleh karena dapat menimbulkan kelainan pada embrio dan meningkatkan kejadian abortus spontan.

Selanjutnya, pre-embrio dipindahkan ke dalam tetes medium kultur segar untuk dieram lagi. Setelah sekitar 24 jam, dilakukan penilaian dari perkembangan embrio. Pada saat ini, embrio telah mencapai stadium 2 atau 4 sel, atau bahkan kadang-kadang lebih. Dilakukan pula penilaian terhadap derajat kualitas embrio berdasarkan kesamaan ukuran blastomer dan adanya fragmentasi dari blastomer. Embrio dapat diberi derajat 1 yang terbaik sampai 3 yang terjelek. Pada fase ini dilakukan embrio transfer (ET) dari maksimal 3 embrio terbaik.

6. Embrio Trasfer (Tandur Alih Mudigah)
 Untuk transfer embrio, penderita tidak dipuaskan karena tidak memakai anestesi. Setelah penderita diletakkan pada posisi lithotomi, vagina dicuci dengan cairan media. Sebaiknya, pada saat-saat kontrol di poliklinik, telah diketahui terlebih dahulu posisi rahim (ante atau retrofleksi) dan berapa panjang rongga rahim dengan melakukan sondase. Di pasang spekulum Grave (cocor bebek) atau spekulum sim dengan tarikan pada bibir depan serviks memakai tenakulum, untuk melihat ostium uteri.
 Kateter embrio bagian luar dimasukkan ke dalam rongga rahim melalui ostium uteri. Setelah mencapai fundus, ditarik kembali sekitar 1 cm ; kemudian plunger yang berada di bagian dalam kateter luar tersebut ditarik ke luar. Kateter yang berisi embrio yang telah disiapkan dimasukkan ke rongga rahim melalui kateter luar tersebut. Setelah semuanya masuk, spuit disuntikkan, ditunggu beberapa detik, kateter dalam diputar 180 derajat, kemudian bersama-sama kateter luar dikeluarkan dari rongga rahim. Bila uterus antefleksi dianjurkan penderita berada dalam posisi telungkup untuk beberapa waktu, dan bila uterus retrofleksi penderita tetap dalam posisi terlentang. Setelah berbaring 4 jam, penderita diperbolehkan pulang. Kateter embrio yang digunakan buatan Perancis merek TDT.

Tingkat Keberhasilan

Keberhasilan proses pembuahan program FIV cukup tinggi yaitu sekitar 80 %. Namun presentase ini juga tergantung beberapa sebab yaitu kualitas sel telur, kualitas sel sperma, dan medium kultur. Setelah di TAE (Embrio Trasfer) hasil pembuahan ini menurun menjadi 20-30% untuk sampai terjadi kehamilan. Hal ini juga tergantung berbagai hal yang sementara ini masih menjadi misteri.

Faktor Penyebab Kegagalan FIV-ET

Seperti disebutkan diatas, ada beberapa faktor yang bisa menjadi penyebab kegagalan FIV-ET . Dan penyebab sebenarnya juga masih menjadi penelitian sampai sekarang. Sebenarnya, keberhasilan kehamilan program FIV-ET sekitar 20-30% sama dengan presentase kehamilan alami. Artinya dalam keadaan normal, pasangan suami istri memiliki kemungkinan 20-30% terjadi kehamilan pada setiap kali sanggama pada masa subur. Namun karena FIV-ET memerlukan biaya besar dan penanganan yang rumit, maka angka keberhasilan tersebut dianggap kecil, sehingga perlu ditingkatkan lagi.

Faktor-faktor dibawah ini yang diduga memberikan peranan terhadap faktor kegagalan program FIV-ET, yaitu :

1. Kualitas dan Kuantitas sel telur
 Berikut ini beberapa penyebab yang bisa mempengaruhi.
 - Hasil stimulasi obat yang diharapkan. Misalnya folikel yang berkembang sedikit atau kualitasnya tidak baik. Dengan demikian, sel telur yang dihasilkan sedikit, atau apabila sel telur kurang baik (belum matang atau tidak normal) akan mengurangi terjadinya pambuahan dan kehamilan. Namun dengan kemajuan ilmu pengetahuan, sekarang mulai bisa diatasi. Misalnya, dengan pilihan obat pemicunya jenis *recombinant* FSH yang terbuat dari rekayasa genetik. Jenis ini akan memberikan peluang lebih besar pada perkembangan folikel
 - Keadaan hormonal atau kesehatan istri menghambat perkembangan sel telur. Misalnya, kadar FSH dan LH tinggi atau karena mempunyai riwayat kista indung telur.
 - Usia wanita mempengaruhi produksi indung telur dalam menghasilkan sel telur. Termasuk dipengaruhi kualitas dan kuantitas sel telur, embrio dan keadaan *endromertium*. Reaksi obat pemicu sel telur terhadap produksi folikel dipengaruhi pula oleh usia

wanita. Memang kemampuan organ reproduksi wanita menurun memasuki usia 30 th dan sudah sangat menurun mulai usia 38 th angka keberhasilan bisa mencapai 40 %. Sedangkan, apabila usia wanita 30-38 th kemungkinan keberhasilan program mencapai 20-25%. Namun, apabila usia wanita 38-42 th kemungkinan haid hanya 10%, sedangkan diatas usia 42 th hampir tidak ada yang berhasil hamil.

2. Kualitas dan kuantitas sel sperma

Teknik bayi tabung konvensional biasanya kurang berhasil apabila jumlah sel spermanya sedikit (kurang dari sepuluh ribu perml air mani), bentuk dan pergerakannya rendah sehingga sulit untuk menembus sel telur.

Berdasarkan penelitian, dengan jumlah dan kualitas sperma yang kurang, keberhasilannya dengan teknik bayi tabung tidak lebih dari 20% dengan peluang kehamilan yang terjadi jumlahnya kurang dari 7%. Sementara dalam keadaan normal, artinya sel telur dan sel sperma baik, keberhasilan pembuahan proses bayi tabung mencapai 80% dan peluang kehamilan mencapai 20-30%.

3. Faktor Embrio

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan teknik bayi tabung adalah kemampuan embrio untuk berkembang setelah ditanamkan dalam rahim. Sampai saat ini, kegagalan terbesar program FIV adalah pada embrio yang dipindahkan ke rahim, yaitu gagal untuk menanamkan diri (*implantasi*). Memang sinkronisasi antara perkembangan embrio dan keadaan *endometrium* sampai sekarang masih merupakan misteri.

Untuk mengurangi kegagalan tersebut, pemantauan pembiakan embrio dilakukan lebih ketat. Biasanya embrio yang pembelahan selnya lebih cepat dari yang lain, akan memberikan kemungkinan lebih tinggi terjadinya kehamilan. Oleh karena itu, pilihan embrio seperti ini yang diutamakan untuk dipindahkan kedalam rahim. Dengan

demikian dipilih tiga embrio yang dianggap berkualitas terbaik yang akan ditandur alih ke dalam rahim. Namun jika pembuahan yang berhasil dan menjadi embrio tidak jelas perbedaannya maka sangat sulit untuk melakukan proses seleksi embrio yang akan di TAE (Tandur Alih Embrio).

Sehubungan dengan faktor embrio tadi, orang berusaha mengembangkan suatu cara untuk mengurangi resiko kegagalan. Selama ini, embrio yang dipindahkan ke dalam rahim mencapai tahap atau stadium morula yaitu sekitar hari 2-3 setelah pembuahan. Kini sedang dikembangkan pemindahan embrio pada stadium blastula (sekitar hari kelima setelah pembuahan) secara alami, embrio dalam tahap morula sebenarnya belum siap dipindahkan kedalam rahim. Pemindahan ini membuat embrio stress karena kondisi rahim terlalu asam baginya. Sebaliknya, apabila pemindahan embrio dilakukan pada stadium blastula maka telah mendekati usia embrio yang tertanam di dinding rahim dalam proses pembuahan alami. Sayangnya, tidak semua hasil pembuahan mampu bertahan sampai tahap blastula. Selain itu, biaya menjadi lebih mahal karena memerlukan waktu yang lebih lama dan kultur yang berbeda

Seperti penelitian yang diterbitkan jurnal *Fertility and Sterility*, Agustus 1999 yang dilakukan oleh **Jose R. Cruz** dan koleganya di *George Washington University Medial Center* membuktikan bahwa wanita yang menempuh pemindahan pada tahap blastula pasca program FIV, 40% diantaranya berhasil hamil. Namun hanya 9% yang berhasil menjalani FIV biasa, yaitu pemindahan embrio pada stadium morula (Bongso and Fong, 1995)

Kendalanya memang pada medium kultur embrio. Selama ini dikembangkan bertahun-tahun sebagai medium kultur yang digunakan hanya bisa mendukung pertumbuhan embrio hingga stadium morula saja.

Namun sejak ditemukan medium kultur yang bisa mengembangkan embrio sampai pada tahap blastula, beberapa klinik bayi

tabung sudah mulai melakukan metode ini., tanpa meninggalkan metode tahap morula atau disebut *sequence transfer*. Jadi sebagian embrio ditrasfer ketika embrio berusia 2 hari dan sebagian lainnya sudah memasuki tahap blastula, menyusul kemudian. Metode ini hanya dilakukan apabila hasil embrio lebih dari tiga.

4. Implantasi

Seperti disebutkan diatas, sampai sekarang faktor kegagalan terbesar pada program FIV-ET adalah *implantasi*. Penelitian juga belum bisa mengungkap misteri kegagalan tersebut. Diduga, selain kualitas embrionya, juga kondisi *endomertiumnya*, keadaan ideal untuk *implantasi* adalah *endometrium* dengan ketebalan tertentu. Selain itu, belum diketahui juga kapan waktu *endometrium* bisa menerima embrio. Hal-hal tersebut belum dapat diatasi dengan teknologi atau temuan yang dapat memanipulasi keadaan *endometrium*, seperti halnya indung telur dengan obat pemicu sel telur. Beberapa dokter sudah mencoba mengatasi hal ini dengan memberikan *aspirin* atau *aspilet* pada saat pemberian obat semprot. Di Argentina, pemberian ini dapat meningkatkan angka kehamilan. Namun, dosis pemberian obat yang tinggi malah justru membuat *endometrium* tidak siap menerima embrio.

5. Faktor Medium Kultur

Medium yang dipakai untuk pembiakan sel makin lama makin disempurnakan. Misalnya, medium biakan *Whittingham T-6* yang dibubuhi fetal colf serum yang sangat berhasil untuk membiakkan embrio sampai tahap morula dan blastula. Saat ini, juga sedang dicoba penelitian mengenai medium tanpa glukosa yang dapat menghasilkan tingkat pembelahan sel yang lebih baik.

Kapan Boleh Mengulang program FIV-ET ?

Sangat tergantung dari keuangan dan emosi pasangan suami istri. Karena itu, keputusannya sangat individual. Pada umumnya pasangan suami istri bersedia mengulang prosedur konsepsi buatan secepatnya 3 bulan

setelah konsepsi buatan terakhir yang gagal sebanyak 3-5 kali.

Bagaimana Memperbesar Kemungkinan Keberhasilan?

1. Sebaiknya setelah melakukan pemeriksaan lengkap dan berobat teratur selama 1 tahun dan tidak berhasil, segera memutuskan untuk melakukan FIV-ET. Problemnya, pada saat sekarang adalah usia wanita untuk menikah dan hamil semakin meningkat, tambah lagi upaya pemeriksaan untuk hamil yang biasanya membutuhkan waktu lama. Padahal, semakin cepat keputusan untuk melakukan FIV semakin baik. Mengingat faktor usia pasangan suami istri memegang peranan terhadap keberhasilan program FIV. Sayangnya karena FIV membutuhkan biaya yang tinggi sehingga banyak pasangan suami istri menjadi ragu-ragu atau justru menunda waktu yang tidak ditentukan.
2. Menggunakan medium kultur yang baik
3. Menggunakan obat penyubur yang baik
4. Mengelola stress dengan baik
5. Memohon ke Sang Pencipta, Allah SWT

KESIMPULAN

Pasangan suami istri yang dengan cara konvensional, tidak memungkinkan untuk bisa hamil, maka dengan adanya Program "Bayi Tabung" (Fertilisasi In Vitro-Embrio Transfer : FIV-ET) ini, masih mempunyai harapan untuk bisa hamil, walaupun dengan persentase yang baru mencapai: 20-30%, padahal keberhasilan saat dilakukan proses pembuahan sel telur oleh spermatozoa dengan medium kultur diluar tubuh (Fertilisasi I Vitro) cukup tinggi, yaitu :kurang lebih 80 %, tetapi paling tidak dengan kejadian ini akan membangkitkan secercah harapan.

Dengan kemajuan teknologi kedokteran, sudah banyak gangguan dalam bidang kesehatan reproduksi yang sudah dapat ditangani, sehingga harapan pasangan suami istri untuk mewujudkan keinginan mendapatkan anak biologis semakin besar hanya saja memang keputusan terakhir dari upaya tangan

manusia adalah pada sang Pencipta: Allah SWT, artinya manusia berusaha, Allah yang menentukan.

SARAN

Seperti telah diketahui bahwa kegagalan terbesar program "Bayi Tabung" (FIV-ET) adalah embrio gagal menanamkan diri (implantasi) dan berkembang lebih lanjut didalam dan intensif terhadap semua faktor yang mempengaruhi semua kondisi tersebut diatas, misal : kualitas sel telur, kuantitas spermatozoa, tahap perkembangan embrio saat dilakukan transfer, pemakaian medium kultur yang tepat, kesiapan endometrium saat menerima embrio agar dapat terjadi implantasi dan berkembang lebih lanjut dengan baik, dan lain-lain. Untuk semua itu perlu kiranya pemilihan dan penyaringan spermatozoa dengan kualitas yang baik, stimulasi follicle yang tepat sehingga dihasilkan ovum yang cukup dan kualitasnya baik, meningkatkan kemampuan sumber daya manusia baik dokter obgen, androlog maupun embriolognya Sehingga angka persentasi keberhasilan program "Bayi Tabung" lebih meningkat lagi.

KEPUSTAKAAN

- Ahmadi A et all 1996. *Methodology of Micromanipulation. Advanced Course on Micromanipulation and Coculture*, Singapore, 21 - 24 may: Department of Obstetrics & Gynaecology Natinal University of Singapore.
- Bongso A and Fong CY 1995. *Blastocyst Transfer in ART: Use of Embryo Coculture. Second Advanced Course on Micromanipulation ang Co - culture*, Singapore, 21 - 24 may: Department of Obstetrics & Gynaecology National University of Singapore.
- Diedrich K et all 1988. *Ovarium stimulation using pure FSH in an in-vitro fertilization programme*. Human Reprod Suppl 3:23-28.
- Edward R G and Streptoe P C 1974. *Control of Human Ovulation, Fertilization o and Implantation Proc. R. Soc Biol Med 67; 932-936*
- Hadi 1991. *Indikasi dan Seleksi Penderita Program Bayi Tabung*, Surabaya:lab/UPF Obstertri dan Ginekologi FK UNAIR .
- Hinting 1996. *Perkembangan Teknik Rekayasa Reproduksi*, Surabaya : lab Biomedik FK UNAIR
- 1999. *ART pada infertilitas pria, pelatihan penatalaksanaan infertilitas pria dan analisa sperma*, Surabaya, 21-23 Oktober: Pusat Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Kesehatan.
- Kasdu D dan Januadi Judi JE 2001. *Kiat Sukses Pasangan Memperoleh Keturunan*. Jakarta : Puspa swara ..
- Moghissi, K.S and Wallach, E.E 1983. *Unexplained infertility Fertil. Seteril* 39:5.
- Santoso B, Hadi S 1979 - 1986. *Rekonstruksi Genitalia Interna pada Wanita Pasangan infertile dengan Tehnik Bedah Mikro di RSUD Dr. Sutomo Surabaya*
- Soedarto 1990. *Pengambilan Ovum dan Transfer Embrio*, Surabaya: lab/ UPF Obstertri dan Ginekologi FK UNAIR.
- Sumapraja S 1980. *Beberapa Penelitian Klinik Pasangan Infertil*. Tesis Jakarta
- Sukaputra 1990. *Stimulasi Ovulasi dalam Program FIV-ET* , Surabaya: lab/UPF Obstetri dan Ginekologi FK UNAIR .
- 1991. *Induksi Ovulasi*, Surabaya: lab.UPF Obstetri dan Ginekologi FK UNAIR
- Trounson AO, Wood JFL, Weeb J and Wood J 1981. *Transfer in The Controlled Ovulatory Cycle*, Science 212; 681-682.
- Welner S et all 1988. *Human Menopousal Gonodotropins: A Justifiable Therapy in Ovulatory Women With Long Standing Idiopathic Infertility*. Am Jobstet Gynecol 158: 112 - 117
- Wisanto A et all 1991. *Fertilisasi In Vitro dan Trasfer Embrio*, Jakarta: Unit Melati RSAB Harapan Kita.
- World Health Organization 1992. WHO Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction.