

Stres Infertilitas Menghambat Maturasi Oosit dan Hasil Fertilisasi In Vitro

Hendy Hendarto

Departemen Obstetri Ginekologi,
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
RSUD Dr Soetomo Surabaya

ABSTRAK

Tujuan: Melakukan evaluasi hubungan antara stres infertilitas terhadap maturasi oosit dan hasil fertilisasi in vitro.

Bahan dan Metode: Penelitian ini adalah studi potong lintang analitik observasional. Dilakukan di klinik Fertilitas Graha Amerta RSUD Dr Soetomo Surabaya. Tercatat 30 subyek penelitian perempuan infertil yang mengikuti fertilisasi in vitro dan telah dilakukan evaluasi tingkat stres dengan menggunakan *Infertility Reaction Scale*. Maturasi oosit dan hasil fertilisasi dicatat. Hubungan antara stres infertilitas, maturasi oosit dan hasil fertilisasi dihitung dengan Anova.

Hasil: Semua subyek penelitian yang mengikuti fertilisasi in vitro mengalami stres infertilitas dari kadar ringan sampai berat. Pada kelompok tingkat stres infertilitas berat didapatkan oosit matur lebih sedikit ($p=0.01$). Pada kelompok tingkat stres infertilitas ringan didapatkan oosit matur lebih banyak ($p=0.00$). Tingkat stres infertilitas berat akan menghasilkan fertilisasi lebih sedikit ($p=0.00$).

Simpulan: Semakin berat stres infertilitas akan menghambat maturasi oosit dan hasil fertilisasi in vitro.

Kata kunci: stres, infertilitas, maturasi oosit, fertilisasi in vitro

ABSTRACT

Objectives: to evaluate the correlation between infertility stress and oocyte maturation and fertilization outcome.

Materials and Methods: This was an observational analytical cross-sectional study. This study was conducted at fertility clinics Graha Amerta Dr Soetomo hospital. There were 30 infertile women as study subject who followed in vitro fertilization and were previously evaluated stress levels by using *Infertility Reaction Scale*. Oocyte maturation and fertilization outcome were recorded. Anova test was used to evaluate the correlation between infertility stress and oocyte maturation and fertilization outcome.

Results: All the study subjects who followed in vitro fertilization had infertility stress from mild to severe levels. The group of severe infertility stress level were encountered few mature oocytes ($p=0.01$). The group of mild infertility stress level were encountered more mature oocytes ($p = 0.00$). Severe infertility stress levels resulted fewer fertilization outcome ($p = 0.00$).

Conclusion: The more severe infertility stress, the more inhibition of oocyte maturation and in vitro fertilization outcome.

Keywords: stress, infertility, oocyte maturation, fertilization outcome

Correspondence: Hendy Hendarto, Departemen Obstetri Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr Soetomo, Jl. Prof dr Moestopo 6-8, Surabaya 60286.

PENDAHULUAN

Pada pelaksanaan fertilisasi in vitro diketahui bahwa oosit yang didapat saat tindakan *ovum pick-up* mempunyai maturasi yang tidak sama, sebanyak 5-20% merupakan oosit yang tidak matur. Secara teoritis maupun aplikasi telah dibuktikan bahwa oosit matur menjadi syarat penting keberhasilan fertilisasi in vitro. Alvarez (2013) menyebutkan kejadian fertilisasi lebih banyak (70.7%) didapatkan pada oosit dengan maturasi metaphase II, demikian juga keberhasilan kehamilan didapatkan terbanyak (33.1%) pada oosit matur (metaphase II).¹ Fertilisasi membutuhkan dua sel, oosit dan sperma yang telah berdiferensiasi secara spesifik dan akhirnya menyatu. Sebelumnya kedua sel tersebut terutama oosit mengalami pertumbuhan dan maturasi untuk mendapatkan kompetensi fertilisasi. Pada pelaksanaan fertilisasi in vitro oosit didapatkan setelah sebelumnya dilakukan pemberian obat stimulasi ovarium untuk memicu pertumbuhan folikel multiple dan obat maturasi final oosit serta obat penghambat kerja aksis hipotalamus-hipofisi-ovarium untuk men-

cegah ovulasi prematur. Proses perkembangan folikel dan maturasi oosit pada fertilisasi in vitro menjadi berbeda dengan fisiologi folikulogenesis dan akan dipengaruhi berbagai faktor.^{1,2}

Telah diketahui bahwa fertilisasi in vitro merupakan tindakan yang kompleks dan dapat menimbulkan stres pada pasangan infertil yang menjalaninya. Pelaksanaan siklus fertilisasi in vitro membutuhkan sembilan sampai 12 hari suntikan obat fertilitas poten untuk menstimulasi produksi oosit, pengambilan oosit melalui tindakan *ovum pick-up* di kamar operasi, transfer embrio dan dibutuhkan waktu menunggu dua sampai tiga minggu untuk mengetahui terjadi implantasi embrio atau keberhasilan kehamilan yang semua tersebut menimbulkan beban psikologis dan rasa khawatir bagi pasangan infertil.² Studi prospektif pada perempuan infertil mendapatkan bahwa tingkat kecemasan meningkat pada fertilisasi in vitro dan distres emosi misal tekanan, khawatir dan kecemasan menjadi salah satu faktor kegagalan pada penanganan infertilitas maupun terjadinya kehamilan secara alami.^{3,4} Namun, Boivin (2011)

berbeda pendapat dan menyatakan bahwa distress emosional tidak berhubungan dengan hasil penanganan infertilitas.^{2,3,5} Kontroversi pengaruh stres pada infertilitas dan hasil penanganannya kami angkat menjadi masalah sehingga tujuan pada penelitian ini adalah mengevaluasi pengaruh stres infertilitas terhadap maturasi oosit dan hasil fertilisasi in vitro.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini adalah studi potong lintang analitik observasional. Dilakukan di klinik Fertilitas Graha Amerta RSUD Dr Soetomo Surabaya dengan subyek penelitian perempuan infertil yang melakukan fertilisasi in vitro. Subyek penelitian dipilih yang berusia 20-35 tahun dan mempunyai siklus haid teratur serta tanpa adanya penyakit metabolik, kencing manis, hipertensi, tiroid, obesitas.

Fertilisasi in vitro

Pada Hari ketiga siklus haid subyek penelitian dilakukan pemeriksaan ultrasonografi transvagina untuk evaluasi hitung folikel antral dan pemeriksaan hormon basal *follicle stimulating hormone* (FSH), *luteinizing hormone* (LH), estradiol. Stimulasi ovarium dimulai pada hari ketiga tersebut dengan memakai obat FSH rekombinan yang selanjutnya dosis disesuaikan berdasarkan responnya. *Gonadotropin releasing hormone* (GnRH) antagonis diberikan untuk mencegah lonjakan LH prematur dimulai bila diameter folikel mencapai 14 mm. Maturasi final menggunakan suntikan *human chorionic gonadotropine* (hCG) dilakukan bila didapatkan minimal tiga folikel dengan ukuran 17 mm dan *ovum pick-up* dikerjakan 36 jam setelah suntikan hCG. Embrio hari ketiga atau kelima ditransfer dan dilanjutkan dengan pemberian progesteron intravagina untuk penunjang fase luteum.⁶

Tingkat stres infertilitas

Evaluasi tingkat stres dilakukan sebelum pelaksanaan fertilisasi in vitro. Evaluasi dilakukan dengan cara subyek penelitian diminta menjawab 5 pertanyaan yang bertujuan untuk mengevaluasi persepsi dan perasaan terhadap infertilitas. Jawaban pertanyaan tersebut mempunyai nilai tertentu melalui penggunaan skala Linkert yang diberi nama *Infertility Reaction Scale* (IRS) yaitu sebagai berikut: 7 0-5 : Tidak ada masalah bermakna berkaitan dengan infertilitas, 6-10 : Stres ringan berkaitan dengan infertilitas, 11-15: Stres sedang berkaitan dengan infertilitas, dan 16-20 : Stres berat berkaitan dengan infertilitas.

Maturasi oosit

Evaluasi maturasi dilakukan di laboratorium fertilisasi in vitro bersamaan dengan pelaksanaan *ovum pick-up*. Maturasi oosit diperiksa dengan melihat morfologi oosit dibawah mikroskop dikategorikan menjadi tiga, yaitu tidak matur, intermediet dan matur. Tidak matur: oosit dalam fase pembelahan propase I dengan gambaran germinal vesicle berbentuk sferis berisi satu nucleolus besar dengan lokasi eksentris. Intermediet: oosit dalam fase pembelahan metafase I dengan gambaran tanpa polar bodi dan germinal vesikel. Matur: oosit dalam fase pembelahan metafase II dengan gambaran polar bodi I beserta periviteline space, berbentuk kecil dan struktur ooplasmik oval berisi 23 kromosom

Hasil fertilisasi in vitro.

Hasil fertilisasi oosit dievaluasi satu hari setelah dilakukan pertemuan oosit dan sperma. Bila pemeriksaan dibawah mikroskop didapatkan oosit dengan gambaran 2 pronuclei (2PN) berarti telah terjadi fertilisasi sperma terhadap oosit. Pada penelitian ini hasil fertilisasi in vitro dinyatakan dengan menghitung jumlah oosit yang terfertilisasi (2PN). Data yang didapat pada penelitian ini dicatat dan dianalisis tentang hubungan antara tingkat stres infertilitas dengan maturasi oosit dan hasil fertilisasi dengan uji Anova.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dikerjakan setelah mendapatkan kelaikan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr Soetomo Surabaya dan dilaksanakan selama 4 bulan yaitu pada bulan Maret sampai Juni 2015. Selama periode tersebut didapatkan 30 orang perempuan infertil bersedia ikut menjadi subyek penelitian dengan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang sudah disepakati. Semua subyek penelitian tersebut adalah peserta fertilisasi in vitro menggunakan protokol antagonis GnRH.

Berdasarkan data karakteristik subyek penelitian didapatkan rerata usia subyek penelitian 29.36 ± 2.65 tahun, relatif muda artinya tidak terlalu tua yang dapat mengganggu maturasi oosit. Rerata lama menikah 5.30 ± 1.51 tahun, menunjukkan kesesuaian untuk dilakukan penanganan infertilitas dengan fertilisasi in vitro. Rerata *Body Mass Index* (BMI) adalah 22.27 ± 1.98 kg/m² yang masuk kategori normal yaitu tidak obesitas yang akan mengganggu proses maturasi oosit. Pemeriksaan hormon basal FSH, LH, estradiol dan pemeriksaan pencitraan ultrasonografi hitung folikel antral memberikan hasil normal semua.

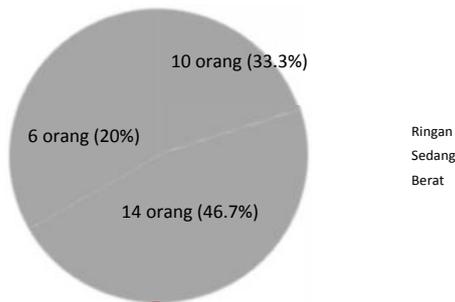
Karakteristik

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik	Minimum	Maksimum	Rerata
Usia	24.00	34.00	29.36±2.65
Lama menikah	2.00	8.00	5.30±1.51
BMI	20	29	22.27±1.98
FSH	4.38	9.56	6.98±1.48
LH	1.52	4.98	2.88±0.98
Estradiol	14.58	35.74	22.11±5.15
HFA ov kanan	3.00	10.00	6.03±1.88
HFA ov kiri	0.00	10.00	5.26±2.33

BMI: Body Mass Index, FSH: Follicle Stimulating Hormone, LH: Luteinizing Hormone, HFA: Hitung Folikel Antral

Hasil hitungan tingkat stres infertilitas dengan menggunakan skor *Infertility Reaction Scale* didapat semua 30 subyek penelitian mengalami stres dengan gambaran terbanyak 14 orang mengalami stress sedang (46.7%) (gambar 1)



Gambar 1. Tingkat stres dengan *Infertility Reaction Scale* menunjukkan semua subyek penelitian mengalami stres infertilitas dengan berbagai tingkat gradasi.

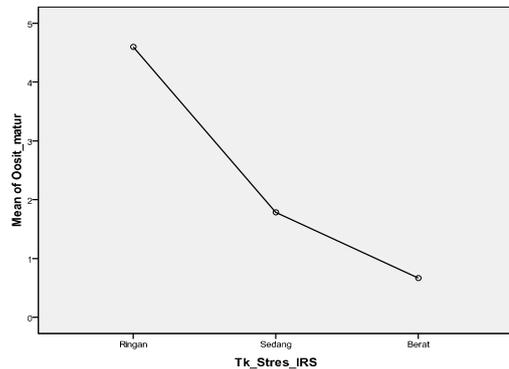
Evaluasi maturasi oosit dan hasil fertilisasi berdasarkan tingkat stres didapatkan hasil seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Maturasi oosit dan hasil fertilisasi berdasarkan tingkat stres infertilitas.

		Rerata maturasi oosit			Rerata hasil fertilisasi
		Tidak matur	intermediet	Matur	
Stres	Ringan	0,90±0,99	4,20±1,54	4,60±1,89	5,90±1,10
	Sedang	0,07±0,26	3,79±1,12	1,79±0,97	3,43±1,01
	Berat	0,17±0,49	3,00±0,63	0,67±0,81	1,83±0,40

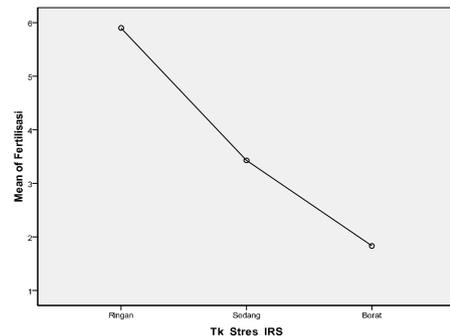
Berdasar data penelitian ini tampak bahwa semakin berat tingkat stres yang dialami oleh subyek penelitian akan menghasilkan oosit matur lebih sedikit. Oosit

matur lebih banyak didapatkan pada subyek penelitian dengan stres ringan dibandingkan dengan yang mengalami stres sedang dan berat (0.00) (gambar 2)



Gambar 2. Hubungan antara tingkat stres dan maturasi oosit. Tingkat stres infertilitas berat didapatkan oosit matur lebih sedikit (p=0.01).

Pada tahap penelitian selanjutnya oosit yang didapat saat *ovum pick-up* dilakukan fertilisasi dengan sperma yang mempunyai kualitas dan kuantitas relatif sama. Hasilnya adalah semakin berat tingkat stres yang dialami oleh subyek penelitian akan mendapatkan keberhasilan fertilisasi yang rendah. Angka fertilisasi yang tinggi akan didapatkan pada subyek penelitian dengan tingkat stres ringan dibandingkan dengan yang mengalami stress sedang dan berat (p=0.00).



Gambar 3. Hubungan antara tingkat stress dan hasil fertilisasi. Tingkat stres infertilitas berat akan menghasilkan fertilisasi lebih sedikit (p=0.00).

Sebagaimana diketahui infertilitas dapat berpengaruh pada hampir semua aspek kehidupan pasangan suami isteri, terutama berdampak pada kondisi fisik dan psikologis. Sebelum era teknologi reproduksi, terapi infertilitas sangat terbatas namun saat ini telah tersedia berbagai metode teknologi reproduksi berbantu sehingga meningkatkan angka keberhasilan kehamilan bagi pasangan infertil.⁵

Fertilisasi in vitro merupakan salah satu metode pada teknologi reproduksi berbantu yang pelaksanaannya membutuhkan 6 langkah tindakan yaitu stimulasi ovarium, maturasi final oosit, *ovum pick-up*, fertilisasi-kultur embrio, transfer embrio dan penunjang fase luteum. Pada setiap langkah tindakan tersebut berisiko terjadi kegagalan yang berupa folikel ovarium tidak berkembang, maturasi oosit dan fertilisasi tidak terjadi, embrio gagal implantasi, ketakutan hasil gagal saat dilakukan tes kehamilan dan sebagainya. Selain itu 6 langkah dilaksanakan dengan waktu yang ketat dan dapat menyebabkan ketidaknyamanan karena dilakukan suntikan stimulasi ovarium setiap hari sehingga sebagian besar pasangan infertil menyatakan bahwa mengikuti program fertilisasi in vitro menimbulkan stres, tidak hanya melibatkan fisik namun juga emosi.^{5,6}

Pada penelitian ini dengan menggunakan skor *Infertility Reaction Scale* didapatkan semua subyek penelitian mengalami stres yaitu stres ringan 33.3%, stres sedang 46.7% dan stres berat 20%. Pengukuran skor IRS dilakukan paling lambat pada saat awal dimulainya fertilisasi in vitro yaitu saat haid hari ketiga, berarti merupakan gabungan antara stres yang dirasakan sebelum dan beban yang akan dirasakan nanti saat fertilisasi in vitro berjalan. Hasil penelitian ini hampir sama dengan data hasil review Eugster yang mendapatkan sepertiga kasus mengalami stres berat dan sisanya sebagian besar mengalami stres sedang. Selain itu baik pasangan pria dan perempuan mengalami anxiety, yang merupakan tanda ketidakefektifan strategi coping.⁸

Selanjutnya pada penelitian ini dilakukan evaluasi maturasi oosit yang dihubungkan dengan stres infertilitas. Maturasi oosit diperiksa di laboratorium saat dilakukan *ovum pick-up* yang sebelumnya dilakukan stimulasi ovarium. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa stres berat akan menghasilkan rerata jumlah oosit matur sedikit sedangkan stres ringan didapatkan rerata jumlah oosit matur lebih banyak. Pada penelitian yang kami lakukan ini semua kondisi yang diperkirakan mengganggu pertumbuhan, perkembangan dan maturasi oosit sudah ditiadakan, seperti usia subyek penelitian relatif muda dan BMI dalam batas normal. Selain itu hormon basal FSH, LH dan estradiol serta hitung antral folikel dalam batas normal sehingga tidak akan menyebabkan bias pada hasil maturasi oosit.

Seperti diketahui maturasi oosit merupakan gambaran proses meiosis berupa perkembangan kompetensi fertilisasi oosit dengan tujuan menghasilkan oosit matur yang siap difertilisasi.⁹ Sudah diketahui stres akan berpengaruh pada aksis hipotalamus-hipofisis-adrenal sehingga mengganggu fungsi reproduksi. Setiyono dkk. membuktikan bahwa semakin tinggi tingkat stres pada perempuan infertil yang mengikuti fertilisasi in vitro

berhubungan dengan kadar kortisol yang semakin tinggi sehingga akan menghasilkan jumlah folikel lebih sedikit.¹⁰ Gonzales dkk (2010) pada penelitian menggunakan hewan coba kambing mendapatkan bahwa kadar kortisol tinggi akan mengganggu maturasi oosit melalui hambatan proses meiosis menuju metafase II namun tidak mengganggu maturasi sitoplasma.¹¹ Gangguan meiosis oleh kadar kortisol tinggi tersebut dibuktikan melalui aktivasi *mitogen activated-protein kinase* (MAPK). Pada penelitian Gonzales kortisol dosis rendah tidak mengganggu *germinal vesicle breakdown* (GVBD) sehingga tidak berpengaruh pada maturasi oosit.^{11,12}

Pada penelitian kami ini dilakukan evaluasi hasil fertilisasi antara oosit dari subyek penelitian dengan berbagai tingkat stres dengan sperma yang kuantitas dan kualitas relatif tidak berbeda. Penelitian ini mendapatkan hasil semakin berat stres akan menghasilkan angka fertilisasi yang rendah. Stres ringan menghasilkan angka fertilisasi lebih tinggi dibandingkan stres sedang dan berat. Hasil ini memperkuat hasil sebelumnya bahwa stres berat akan menghasilkan banyak oosit tidak matur sehingga menghasilkan angka fertilisasi yang rendah.

Seperti diketahui fertilisasi adalah proses pertemuan gamet pria, sperma dengan gamet perempuan ovum. Keberhasilan fertilisasi membutuhkan kondisi sperma dan oosit yang baik, antara lain dibutuhkan kualitas dan maturasi oosit yang baik. Khalili (2005) berdasarkan hasil penelitiannya menyimpulkan bahwa kualitas oosit merupakan parameter penting keberhasilan fertilisasi in vitro. Oosit dan embrio dengan kualitas baik akan menghasilkan angka fertilisasi yang tinggi. Oosit dengan maturasi metaphase II akan berperan penting pada keberhasilan fertilisasi.¹³ Lee (2001) menyebutkan bahwa usia menentukan keberhasilan fertilisasi, usia diatas 35 tahun mulai banyak ditemukan oosit dengan morfologi abnormal.¹⁴ Pada penelitian ini rerata usia subyek penelitian adalah dibawah 30 tahun, jadi faktor usia dapat disingkirkan, sehingga angka fertilisasi yang rendah terjadi lebih disebabkan karena stres berat yang dialami.

SIMPULAN

Semakin berat stres infertilitas yang dialami perempuan infertil yang menjalani fertilisasi in vitro akan menghambat maturasi oosit yaitu menghasilkan banyak oosit tidak matur sehingga menghasilkan angka fertilisasi yang lebih rendah dibandingkan dengan yang mengalami stres ringan dan sedang. Berdasarkan hasil ini sebaiknya diperlukan konseling yang baik kepada calon pengikut fertilisasi in vitro agar tidak stres dan cemas dengan harapan dapat meningkatkan keberhasilan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alvarez C, Garrido CG, Taronger R, de Merlo GG. In vitro maturation, fertilization, embryo development & clinical outcome of human metaphase-I oocytes retrieved from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Indian J Med Res.* 2013;137:331-8.
2. Boivin J, Griffiths E, Venetis CA. Emotional distress in infertile women and failure of assisted reproductive technologies: meta-analysis of prospective psychosocial studies. *BMJ.* 2011;342:1-9.
3. The Women's Health Council. Infertility and Its Treatments: A Review of Psycho-social Issues. 2009.
4. De Klerk C. The Psychological Impact of IVF Treatment. Thesis. Erasmus Universiteit Rotterdam. 2008.
5. Hammarberg K. Stress in assisted reproductive technology: implications for nursing practice. *Human Fertility.* 2003;6:30-3.
6. Hendarto. Fertilisasi invitro pada infertilitas karena endometriosis in: Endometriosis: dari aspek teori sampai penanganan klinis. Airlangga University Press. 2015.
7. Klonoff-Cohen H, Chu E, Natarajan L, Sieber W. A prospective study of stress among women undergoing in vitro fertilization or gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril.* 2001;76:675-87.
8. Eugster A, Vingerhoets AJ. Psychological aspects of in vitro fertilization: a review. *Social Science & Medicine.* 1999;48:575-89.
9. Voronina E and Wessel GM. The Regulation of Oocyte Maturation. *Current Topics in Develop Biol.* 2003;58:53-110.
10. Setiyono A, Hendarto H, Prasetyo B, Maramis MM. Hubungan antara tingkat stres dan kadar kortisol darah dengan jumlah folikel dominan pada pasien infertil yang menjalani fertilisasi in vitro. Dep-SMF Obstetri Ginekologi FK Unair-RSUD Dr Soetomo Surabaya. 2015.
11. González R, Ruiz-Leónb Y, Gomendioa M, Roldana ERS. The effect of glucocorticoids on ERK-1/2 phosphorylation during maturation of lamb oocytes and their subsequent fertilization and cleavage ability in vitro. *Reprod Toxicol.* 2010;29:198-205.
12. Berlinguer F, González R, Succu S, del Olmo A, Garde JJ, Espeso G, et al. In vitro oocyte maturation, fertilization and culture after *ovum pick-up* in an endangered gazelle (*Gazella dama mhorr*). *Theriogenology.* 2008;69:349-59.
13. Khalili MA, Mojibian M, Sultan AM. Role of oocyte morphology on fertilization and embryo formation in assisted reproductive techniques. *Middle East Fertility Society Journal.* 2005;1(10):72-7.
14. Lee KS, Joo BS, Na YJ, Yoon MS, Choi OH, Kim WW. Cumulus cells apoptosis as an indicator to predict the quality of oocytes and the outcome of IVF-ET. *J AssistReprod Genet.* 2001;13:3431-33.