

1 CLOMIPHENE

2 EMBRYO PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK.  
TKR 04/01  
Pri  
P

## TESIS

# PERKEMBANGAN EMBRIO MENCIT (*Mus musculus*) PREIMPLANTASI SETELAH INDUKSI OVULASI DENGAN KLOMIFEN SITRAT PADA INDUKNYA

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



**EKO PRIHIYANTORO**

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2000

*Apa yang pernah ada akan ada lagi, dan apa yang pernah dibuat akan dibuat lagi; tak ada sesuatu yang baru di bawah matahari.....*

*(Pengkhotbah. 1:9)*

*Semua yang benar, semua yang mulia, semua yang adil, semua yang suci, semua yang manis, semua yang sedap didengar, semua yang disebut kebajikan dan patut di puji pikirkanlah semuanya itu... ..*

*(Filipi 4: 8)*

*Sebab segala sesuatu adalah dari Yesus, dan oleh Yesus dan kepada Yesus, bagi Yesuslah kemuliaan sampai selama-lamanya.....*

*(Roma 11:36)*

*Karya ini Kupersembahkan Untuk:  
Ruth Lidyawati & Chrystie Dendra Priscyllia  
Istri dan anakku tercinta.....*

**TESIS**

**PERKEMBANGAN EMBRIO MENCIT (*Mus musculus*)  
PREIMPLANTASI SETELAH INDUKSI OVULASI  
DENGAN KLOMIFEN SITRAT PADA INDUKNYA**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



**EKO PRIHIYANTORO**

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2000

**TESIS**

**PERKEMBANGAN EMBRIO MENCIT (*Mus musculus*)  
PREIMPLANTASI SETELAH INDUKSI OVULASI  
DENGAN KLOMIFEN SITRAT PADA INDUKNYA**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**

**TESIS**

**Untuk memperoleh Gelar Magister  
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

**Oleh :**

**EKO PRIHIYANTORO  
NIM 099712654/M**

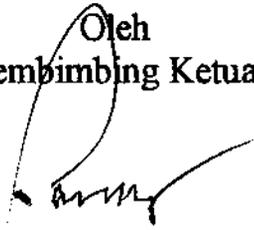
**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**Tanggal 6 September 2000**

Lembar pengesahan

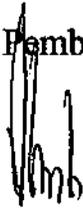
TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 6 September 2000

Oleh  
Pembimbing Ketua



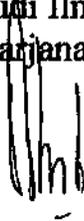
Prof. H.A. Soeparmo, M.Sc.  
NIP. 130 058 170

Pembimbing



dr. Aucky Hinting, Ph.D.  
NIP. 130 873 509

Mengetahui  
Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



dr. Aucky Hinting, Ph.D.  
NIP. 130 873 509

Telah diuji pada  
Tanggal 6 September 2000  
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Laba Maha Putra, M.Sc.  
Anggota : 1. Prof. H.A. Soeparmo, M.Sc.  
2. dr. Aucky Hinting, Ph.D.  
3. Dra. Hj. Mariatun Loegito, MS.

# UCAPAN TERIMA KASIH

Tesis ini dapat diselesaikan hanya oleh Kasih dan Kemurahan Tuhan Yesus Kristus yang senantiasa menolong, memberkati dan memberikan kemampuan kepada saya. Di dalam segala hal Dia turut bekerja untuk mendatangkan kebaikan bagi setiap orang yang mengasihi Dia, yaitu bagi orang yang dipanggil sesuai dengan rencana Bapa di surga.

Ucapan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Prof. H.A. Soeparmo, M.Sc., Pembimbing Ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, teguran yang tulus dan saran-saran untuk mengembangkan kemampuan saya dan menyempurnakan tesis ini.

Ucapan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya juga saya sampaikan kepada dr. Aucky Hinting, Ph.D., Pembimbing yang dengan penuh ketekunan, kesabaran dan kebijaksanaan telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Saya ucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Pendidikan Nasional melalui Tim BPPS yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya juga saya sampaikan kepada :  
Rektor Universitas Airlangga; Prof. H. Soedarto, dr. DTMH, Ph.D. atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang dijabat oleh Prof. Dr. Muhamad Amin, dr. Sp.P. atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang dijabat oleh Drs. H. Harjana, M.Sc., atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Pendidikan Program Magister.

Ketua Jurusan Biologi dan Kepala Laboratorium Biologi Reproduksi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga yang masing-masing dijabat oleh Dr. Bambang Irawan dan Dra. Hj. Mariatun Loegito, MS. yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk dapat mengikuti Program Magister dan menyelesaikan penelitian saya.

Rekan-rekan Mahasiswa Program Pascasarjana Universitas Airlangga Bidang Minat Ilmu Kesehatan Reproduksi angkatan 1997/1998, khususnya dr. Peter Gunawan Tandean, M.Kes. yang telah dengan segala kebaikan membantu saya dan memberikan saran-saran yang membangun dalam menyelesaikan penelitian maupun penyusunan tesis ini.

Rekan-rekan sejawat staf pengajar Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga.

Ruth Lidyawati, Christie Dendra Priscyllia, Istri dan putri tercinta yang dengan setia membantu, mendorong dan berdoa untuk saya dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini. Bapak & Ibu, Ir Heru Dwi Irawan sekeluarga, Papa & Mama yang dengan setia berdoa dan selalu mendukung, memberikan kekuatan selama penelitian dan penyusunan tesis ini.

Semua pihak yang telah membantu saya hingga tesis ini dapat diselesaikan.

**TUHAN YESUS MEMBERKATI.**

## RINGKASAN

Salah satu penyebab terjadinya infertilitas yang berasal dari wanita adalah terjadinya kasus anovulasi dan oligomenorhea. Untuk menangani kasus-kasus tersebut digunakan obat-obatan yang menginduksi terjadinya ovulasi. Obat-obatan yang sering digunakan untuk menginduksi ovulasi tersebut adalah klomifen sitrat. Klomifen sitrat efektif untuk menginduksi terjadinya ovulasi karena dapat bertindak sebagai inhibitor kompetitif estrogen pada jaringan-jaringan hipotalamus, hipofisis dan ovarium. Klomifen sitrat berhasil meningkatkan laju ovulasi maupun laju fertilisasi. Keberhasilan induksi ovulasi ini tidak diimbangi dengan keberhasilan untuk meningkatkan laju kehamilan. Rendahnya laju kehamilan ini diduga disebabkan klomifen sitrat bersifat embriotoksik, sehingga embrio yang dihasilkan berkualitas jelek. Perkembangan embrio di dalam saluran reproduksi wanita ditentukan oleh lingkungannya. Keberadaan zat-zat yang bersifat embriotoksik akan mempengaruhi perkembangannya. Untuk membuktikan embriotoksisitas klomifen sitrat, maka dilakukan penelitian dengan menggunakan hewan coba mencit.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental sesungguhnya, menggunakan rancangan faktorial dengan faktor dosis dan waktu kawin. Dosis yang digunakan meliputi 0  $\mu\text{g/g}$  bb (Dosis 0), 2,5  $\mu\text{g/gbb}$  (Dosis 1) dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb (Dosis 2), sedangkan waktu kawin meliputi; Setelah disuntik satu kali kemudian dikawinkan (W1), disuntik dua kali kemudian dikawinkan sore harinya (W2), disuntik dua kali selanjutnya dikawinkan pada sore hari keesokan harinya (W3). Masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor mencit. Mencit dikawinkan dengan cara dikumpulkan dalam satu kandang dengan mencit jantan pada pukul 17.00 kemudian dilihat adanya sumbat vagina pada keesokan harinya. Ditemukannya sumbat vagina dianggap

sebagai umur kebuntingan nol hari. Pada umur kebuntingan tiga hari mencit dibunuh dengan cara dislokasi serviks kemudian dibedah. Ovarium mencit dipotong untuk dihitung jumlah korpus luteumnya dengan menggunakan mikroskop bedah, selanjutnya dilakukan flushing uterus untuk mendapatkan embrio. Embrio hasil flushing ditampung dalam gelas arloji kemudian dihitung di bawah “inverted microscope” dan ditentukan stadium perkembangannya. Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan Anava dan dilanjutkan dengan uji Duncan bila terdapat interaksi yang bermakna antara faktor dosis dan waktu kawin.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat interaksi yang nyata antara dosis dan waktu kawin terhadap perbedaan rata-rata jumlah rata-rata korpus luteum dan rata-rata jumlah embrio pada taraf signifikansi 0,05, namun tidak terdapat interaksi yang nyata terhadap perbedaan rata-rata persentase blastokis. Perbedaan rata-rata persentase blastokis tersebut disebabkan oleh pengaruh dosis pemberian klomifen sitrat. Terdapat korelasi antara peningkatan dosis klomifen sitrat dan penurunan persentase blastokis.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa meningkatnya jumlah korpus luteum dan jumlah embrio dipengaruhi oleh interaksi antara dosis klomifen sitrat dan waktu kawin mencit, sedangkan penurunan persentase blastokis dipengaruhi oleh dosis pemberian klomifen sitrat. Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengamatan terhadap kualitas oosit serta viabilitas embrio yang dihasilkan.

**ABSTRACT**

The objective of this study is to investigate the effect of clomiphene citrate on ovulation, fertilization and embryonic development in mice. The ovulation process was detected indirectly by counting the number of corpus luteum, fertilization was detected by the number of embryo and embryonic development was detected by the percentage of blastocyst formation.

The design of the study is true experimental using 3x3x5 factorial includes dose factor (3), mating times (3) and replications (3). The dose factor consist of 0  $\mu\text{g/g}$ , body weight.; 2.5  $\mu\text{g/g}$  body weight. ; 5,0  $\mu\text{g/g}$  body weight. The mating time consist of after once injection, after twice injection ; a day after twice injection. On the 3<sup>rd</sup> day of gestation, mice were sacrificed by cervical dislocation, then ovary and uterus were collected. Corpus luteum was counted by dissecting microscope and the embryos were collected by flushing uterus. Embryos were obtained and counted then development stages of embryo were observed.

From this study it may be concluded that clomiphene citrate increased ovulation rate and fertilization rate but decreased embryos quality.

Key word: Clomiphene Citrate, Embryo, Preimplantation, Blastocyst

**DAFTAR ISI**

|   | Halaman   |
|---|-----------|
| UCAPAN TERIMAKASIH.....                           | i         |
| RINGKASAN.....                                    | iii       |
| ABSTRACT.....                                     | v         |
| DAFTAR ISI.....                                   | vi        |
| DAFTAR TABEL.....                                 | viii      |
| DAFTAR GAMBAR.....                                | ix        |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>                     | <b>1</b>  |
| 1.1. Latar Belakang Permasalahan.....             | 1         |
| 1.2. Rumusan Masalah.....                         | 3         |
| 1.3. Tujuan Penelitian.....                       | 3         |
| 1.4. Manfaat Penelitian.....                      | 4         |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>               | <b>5</b>  |
| 2.1. Tinjauan Mengenai Klomifen Sitrat.....       | 5         |
| 2.1.1. Struktur kimia.....                        | 5         |
| 2.1.2. Absorpsi dan ekskresi.....                 | 6         |
| 2.1.3. Mekanisme kerja.....                       | 6         |
| 2.2. Klomifen Sitrat dan Ovulasi.....             | 7         |
| 2.3. Klomifen Sitrat dan Sistem Reproduksi.....   | 7         |
| 2.4. Klomifen Sitrat dan Perkembangan Embrio..... | 9         |
| <b>BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS</b>  |           |
| <b>PENELITIAN.....</b>                            | <b>11</b> |
| 3.1. Kerangka Konseptual Penelitian.....          | 11        |
| 3.2. Hipotesis Penelitian.....                    | 12        |
| <b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>              | <b>14</b> |
| 4.1. Jenis Penelitian.....                        | 14        |
| 4.2. Rancangan Penelitian.....                    | 14        |
| 4.3. Sampel Penelitian.....                       | 15        |
| 4.4. Variabel Penelitian.....                     | 16        |
| 4.5. Definisi Operasional Variabel.....           | 17        |
| 4.6. Bahan Penelitian.....                        | 18        |
| 4.7. Tempat dan Waktu Penelitian.....             | 19        |
| 4.8. Prosedur Penelitian.....                     | 19        |
| 4.9. Teknik Analisis Data.....                    | 20        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN.....</b> | <b>22</b> |
| 5.1. Hasil Penelitian.....                                       | 22        |
| 5.1.1. Data jumlah korpus luteum.....                            | 22        |
| 5.1.2. Data jumlah embrio.....                                   | 26        |
| 5.1.3. Data persentase blastokis.....                            | 31        |
| 5.2. Analisis dan Hasil Penelitian.....                          | 35        |
| 5.2.1. Korpus luteum.....  | 35        |
| 5.2.2. Embrio.....   | 41        |
| 5.2.3. Persentase blastokis.....                                 | 47        |
| <b>BAB VI PEMBAHASAN.....</b>                                    | <b>53</b> |
| 6.1. Korpus Luteum.....  | 53        |
| 6.2. Embrio.....   | 55        |
| 6.3. Blastokis.....  | 57        |
| <b>BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>                         | <b>60</b> |
| 7.1. Kesimpulan.....   | 60        |
| 7.2. Saran.....  | 60        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>                                       | <b>61</b> |
| <b>Lampiran.....</b>   | <b>64</b> |

## DAFTAR TABEL

| Tabel  | halaman |
|--|---------|
| 5.1. Rata-rata jumlah korpus luteum mencit yang diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada dosis 0, 2,5 dan 5,0 $\mu\text{g/g}$ bb.....                         | 22      |
| 5.2. Rata-rata jumlah korpus luteum mencit yang diinduksi dengan klomifen sitrat pada berbagai jenis waktu kawin setelah perlakuan                                 | 22      |
| 5.3. Rata-rata jumlah korpus luteum mencit yang mendapatkan perlakuan induksi ovulasi klomifen sitrat dengan berbagai dosis dan waktu kawin setelah pemberian..... | 23      |
| 5.4. Rata-rata jumlah embrio mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada dosis 0, 2,5 dan 5,0 $\mu\text{g/g}$ bb.....                       | 26      |
| 5.5. Rata-rata jumlah embrio mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada berbagai jenis waktu kawin setelah perlakuan .....                 | 26      |
| 5.6. Rata-rata jumlah embrio mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada kombinasi dosis dan jenis waktu kawin dan jumlah pemberian ..      | 27      |
| 5.7. Rata-rata persentase blastokis setelah induksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada dosis 0, 2,5 dan 5,0 $\mu\text{g/g}$ bb. ....                              | 31      |
| 5.8. Rata-rata persentase blastokis mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada berbagai jenis waktu kawin dan jumlah pemberian.....        | 31      |
| 5.9. Rata-rata jumlah embrio mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada kombinasi dosis dan jenis waktu kawin dan jumlah pemberian .....   | 31      |
| 5.10. Statistik deskriptif jumlah korpus luteum mencit setelah perlakuan Dengan klomifen sitrat pada berbagai dosis .....  | 35      |
| 5.11. Uji homogenitas varians dengan uji Levene untuk data jumlah korpus luteum.....   | 36      |
| 5.12. Uji normalitas untuk data jumlah korpus luteum.....  | 36      |
| 5.1.3. Rangkuman analisis varians untuk data jumlah korpus luteum  | 37      |
| 5.14. Uji Duncan untuk data jumlah korpus luteum.....  | 39      |
| 5.15. Statistik deskriptif jumlah embrio mencit setelah perlakuan dengan klomifen sitrat pada berbagai dosis.....  | 41      |
| 5.16. Uji homogenitas varians dengan uji Levene untuk data jumlah embrio.....  | 42      |
| 5.17. Uji normalitas untuk data jumlah embrio.....   | 42      |
| 5.18. Rangkuman analisis varians untuk data jumlah embrio.....   | 43      |
| 5.19. Uji Duncan untuk data jumlah embrio.....   | 45      |
| 5.20. Statistik deskriptif persentase blastokis setelah perlakuan dengan klomifen sitrat pada berbagai dosis.....  | 47      |
| 5.21. Uji homogenitas varian untuk data persentase blastokis.....  | 48      |
| 5.22. Uji normalitas untuk data persentase blastokis.....  | 48      |
| 5.23. Rangkuman analisis varian untuk data persentase blastokis.....   | 49      |
| 5.24. Hasil uji Duncan faktor dosis.....   | 51      |
| 5.25. Hasil uji faktor waktu kawin.....  | 51      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar  | halaman |
|---|---------|
| 2.1. Struktur kimia klomifen sitrat .....   | 5       |
| 3.1. Skema kerangka konseptual.....   | 13      |
| 5.1. Histogram jumlah korpus luteum mencit setelah perlakuan induksi ovulasi dengan klomifen sitrat.....  | 24      |
| 5.2. Histogram rata-rata jumlah embrio mencit yang induknya diperlakukan dengan klomifen sitrat.....      | 28      |
| 5.3. Embrio mencit umur tiga hari kebuntingan yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat..... | 29      |
| 5.4. Histogram rata-rata persentase blastokis setelah induksi ovulasi dengan klomifen sitrat.....         | 32      |
| 5.5. Blastokis mencit setelah induknya diberi perlakuan klomifen Sitrat.....                              | 33      |
| 5.6. Plot profil jumlah korpus luteum mencit setelah perlakuan dengan klomifen sitrat.....                | 38      |
| 5.7. Plot profil jumlah embrio mencit setelah diperlakukan dengan klomifen sitrat.....                    | 44      |
| 5.8. Plot profil persentase blastokis.....  | 50      |

## BAB 1 PENDAHULUAN



### 1.1. Latar Belakang Permasalahan

Salah satu penyebab terjadinya infertilitas yang berasal dari wanita adalah terjadinya kasus anovulasi dan oligomenorhea. Untuk menangani kasus tersebut digunakan obat-obatan yang menginduksi terjadinya ovulasi (Greenblatt, 1979).

Obat yang sering digunakan untuk menginduksi ovulasi adalah klomifen sitrat karena bersifat antiestrogen. Klomifen sitrat efektif untuk menginduksi ovulasi karena dapat bertindak sebagai inhibitor kompetitif reseptor estrogen pada jaringan hipotalamus, hipofisis dan ovarium (Adashi, 1984). Ikatan antara klomifen sitrat dan reseptor estrogen pada organ tersebut menyebabkan terjadinya hambatan umpan balik negatif dari ovarium menuju hipofisis dan hipotalamus. Akibat hambatan tersebut hipotalamus tetap mensekresikan gonadotropin releasing hormon (GnRH) dan hipofisis juga tetap mensekresikan gonadotropin. Kadar gonadotropin yang tinggi di dalam darah menginduksi pertumbuhan folikel dan pada akhirnya menginduksi terjadinya ovulasi (Katzung, 1998).

Klomifen sitrat digunakan sebagai obat untuk menginduksi ovulasi karena efektif dan harganya yang relatif murah. Sejak tahun 1961 klomifen sitrat telah digunakan sebagai bahan untuk menginduksi ovulasi. Di samping beberapa keuntungan penggunaan klomifen sitrat sebagai bahan induksi ovulasi, ada beberapa pengaruh negatif yang ditimbulkannya. Keuntungan penggunaan klomifen sitrat adalah efektif untuk menginduksi ovulasi dan juga meningkatkan laju fertilisasi, tetapi kelemahan klomifen sitrat sebagai bahan induksi ovulasi adalah laju kehamilannya rendah dan tingginya angka kejadian aborsi spontan.

Laju ovulasi pasca terapi klomifen sitrat dapat mencapai 70%, tetapi laju kehamilan hanya mencapai 25-30% (Schmidt, et al., 1985)

Penelitian dengan menggunakan hewan coba juga menunjukkan bahwa perlakuan dengan klomifen sitrat sebelum ovulasi menyebabkan kegagalan implantasi. Dilaporkan juga bahwa induk mencit yang bunting disuntik klomifen sitrat pada hari keempat menyebabkan kelainan daerah kepala pada fetus yang dilahirkan (Dziadek, 1993). Pengaruh-pengaruh negatif yang terjadi pasca penggunaan klomifen sitrat diduga disebabkan sifat embriotoksik klomifen sitrat.

Embrio yang merupakan hasil konsepsi dalam masa perkembangannya sangat tergantung kepada lingkungan di dalam saluran reproduksi wanita. Dalam keadaan normal, saluran reproduksi wanita dan cairan yang ada di dalamnya adalah medium yang paling ideal untuk perkembangan embrio (Gordon, 1994). Penggunaan klomifen sitrat untuk menginduksi terjadinya ovulasi akan berpengaruh pada embrio yang dihasilkan.

Penambahan klomifen sitrat pada medium pertumbuhan embrio mencit secara *in vitro* menyebabkan terjadinya degenerasi embrio. Selain itu klomifen sitrat juga menghambat pembelahan sel-sel embrio. Pengaruh klomifen sitrat pada pembelahan sel embrio ini bahkan masih terjadi setelah 72 jam penambahan pada medium pertumbuhannya.

Untuk membuktikan sifat embriotoksik klomifen sitrat ini, dilakukan penelitian pengaruh klomifen sitrat pada embrio preimplantasi secara *in vivo*. Pada penelitian ini digunakan hewan coba berupa mencit yang disuntik klomifen sitrat sebelum masa ovulasi.

## 1.2. Rumusan Masalah

Penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan sebagai berikut.

1. Apakah pemberian klomifen sitrat pada induk mencit sebelum ovulasi dapat menyebabkan peningkatan jumlah korpus luteum ?
2. Apakah pemberian klomifen sitrat pada induk mencit sebelum ovulasi dapat menyebabkan peningkatan jumlah embrio yang dihasilkan ?
3. Apakah pemberian klomifen sitrat pada induk mencit sebelum ovulasi dapat menyebabkan penurunan persentase embrio yang mencapai tahap blastokis?

## 1.3. Tujuan Penelitian

### 1.3.1. Tujuan umum

Untuk mengetahui perkembangan embrio mencit preimplantasi akibat pemberian klomifen sitrat pada induknya.

### 1.3.2. Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui pengaruh klomifen sitrat terhadap penambahan jumlah korpus luteumnya.
2. Untuk mengetahui pengaruh klomifen sitrat terhadap jumlah embrio yang dihasilkan
3. Untuk mengetahui penurunan persentase embrio yang berhasil mencapai tahap blastokis.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk :

1. menjelaskan penyebab rendahnya laju kehamilan setelah pemberian klomifen sitrat;
2. dapat memberikan gambaran mengenai frekuensi dan waktu pemberian klomifen sitrat berkaitan dengan optimaslisasi perkembangan embrio;
3. sebagai bahan pertimbangan untuk menggunakan bahan atau metode alternatif untuk induksi ovulasi.

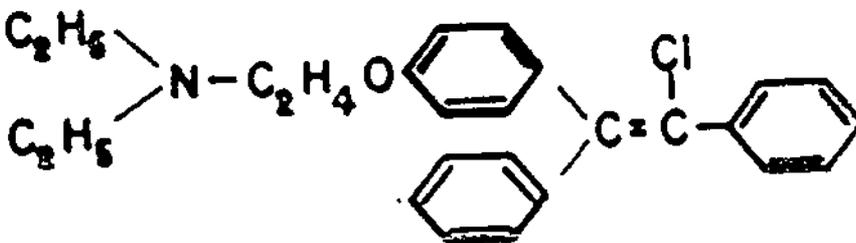
## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tinjauan Mengenai Kломifen Sitrat

##### 2.1.1. Struktur kimia

Kломifen sitrat adalah salah satu derivat triphenylethylen dengan struktur dasar stilbesterol. Secara struktural kломifen sitrat analog dengan senyawa estradiol ( $E_2$ ), sehingga dapat berikatan dengan estrogen. Perbedaan antara estradiol dan kломifen sitrat adalah bahwa kломifen sitrat tidak dapat menginduksi pembentukan reseptor estrogen. Memiliki dua bentuk isomer dalam susunan cis dan trans. Isomer dalam susunan cis sering juga disebut sebagai enclomiphene, sedangkan yang berada dalam susunan trans disebut zuclomiphene. Isomer zuclomiphene bersifat estrogenik, sedangkan isomer enclomiphene bersifat antiestrogenik. Rumus bangun kломifen sitrat dapat dilihat pada gambar 1 (Greenblatt, 1979).



Gambar 2.1. Struktur kimia kломifen sitrat

### 2.1.2. Absorpsi dan ekskresi

Klomifen sitrat diabsorpsi melalui organ sistem pencernaan makanan untuk selanjutnya diekskresikan melalui feces. Untuk mengeliminasi 83 sampai 90% klomifen sitrat yang masuk dalam tubuh diperlukan waktu sekitar 6,3 hari. Akumulasi klomifen sitrat terjadi pada hepar, kantung empedu, kelenjar adrenal, kolon dan pankreas. (Greenblatt, 1979; Katzung, 1998).

### 2.1.3. Mekanisme kerja

Klomifen sitrat dapat bersifat estrogenik maupun antiestrogenik. Hal ini sangat tergantung pada jaringan yang menjadi target kerjanya, lamanya waktu penggunaan klomifen sitrat, serta kadar estrogen endogen (Kerin et al., 1985). Bukti bahwa klomifen sitrat bersifat estrogenik adalah dapat menyebabkan maturasi mukosa vagina pada wanita yang telah mengalami menopause maupun pada wanita dengan kelainan dysgenesis gonad. Sifat antiestrogenik klomifen sitrat ditunjukkan dengan bertindak sebagai inhibitor kompetitif estrogen endogen pada jaringan hipotalamus, hipofisis dan ovarium (Greenblatt, 1979). Mekanisme kerja antiestrogenik klomifen sitrat adalah dengan cara mengikat reseptor estrogen dalam sitoplasma pada berbagai jaringan, khususnya pada jaringan-jaringan di hipotalamus, hipofisis dan ovarium (Schmidt, 1986). Ikatan reseptor klomifen sitrat ini menyebabkan mekanisme umpan balik negatif dari ovarium menuju ke hipofisis tidak berfungsi. Akibatnya hipofisis tetap mensekresikan gonadotropin. Pengukuran kadar gonadotropin pada darah tikus setelah pemberian klomifen sitrat dengan dosis 200 µg dalam 0,5 ml sesame oil menunjukkan peningkatan kadar LH sampai  $250 \pm 44$  ng/ml. (Shimizu, 1986).

## 2.2. Kломifen Sitrat Dan Ovulasi

Sejak tahun 1961 kломifen sitrat telah dikenal sebagai bahan yang dapat menginduksi ovulasi, oleh karena itu digunakan untuk terapi wanita-wanita yang mengalami anovulasi (Greenblatt, 1979). Terapi infertilitas pada wanita yang disebabkan oleh kasus anovulasi dengan dosis 150 mg pada hari kedua, ketiga dan keempat siklus menstruasinya menunjukkan hasil yang baik dengan adanya pertumbuhan folikel. Pengukuran kadar gonadotropin di dalam darah pada manusia juga menunjukkan terjadinya peningkatan yang berarti. Kadar FSH di dalam darah meningkat dari  $6,7 \pm 0,9$  mIU/ml menjadi  $10,1 \pm 0,9$  mIU/ml, sedangkan kadar LH meningkat dari  $7,5 \pm 0,9$  mIU/ml menjadi  $10,7 \pm 1,4$  mIU/ml (Kerin *et al.*, 1985).

Kломifen sitrat bukan saja dapat menginduksi ovulasi, tetapi juga dapat menginduksi ovulasi multipel. Hal ini dapat terjadi karena kломifen sitrat dapat memperpanjang masa sekresi gonadotropin akibat tidak berfungsinya mekanisme umpan balik negatif dari ovarium menuju hipofisis, sehingga terjadi penambahan jumlah folikel yang mengalami maturasi (Kerin *et al.*, 1985).

Kemampuan kломifen sitrat untuk dapat menginduksi ovulasi multipel menjadi sangat penting artinya pada saat teknologi fertilisasi *in vitro* mulai berkembang, karena pelaksanaan fertilisasi *in vitro* memerlukan oosit dalam jumlah yang banyak (Schmidt, 1985 dan Dziadek, 1993).

## 2.3. Kломifen Sitrat dan Sistem Reproduksi

Sistem organ di dalam tubuh telah diatur sedemikian rupa sehingga dapat terselenggaranya fungsi fisiologis yang harmoni. Mekanisme kerja antiestrogen kломifen sitrat sehingga menyebabkan gagalnya mekanisme umpan balik negatif dari ovarium menuju hipofisis menyebabkan gangguan sistem organ yang lain. Tamoxifen

yang memiliki struktur dasar yang sama dengan klomifen sitrat menyebabkan kerusakan jaringan tuba pada wanita yang diterapi dengan bahan tersebut (Roumen, 1986).

Kadar FSH yang tinggi di dalam darah dalam waktu yang cukup lama menyebabkan fase folikuler menjadi panjang. Hal ini menyebabkan pertumbuhan endometrium yang tidak sempurna, sehingga reseptivitas uterus terhadap implantasi embrio rendah. Selain itu klomifen sitrat juga menyebabkan gangguan pada kontraksi tuba, akibatnya transportasi ovum menuju tempat fertilisasi juga terganggu. Gangguan kontraksi tuba ini juga dapat menyebabkan gangguan implantasi embrio. (Birkenfeld et al., 1985; Dziadek, 1993).

Penggunaan klomifen sitrat dilaporkan juga menimbulkan efek samping lain yang sangat merugikan di antaranya terjadi pembesaran ovarium akibat pertumbuhan folikel, adanya korpus luteum persisten, serta munculnya kiste ovarium (Greenblatt, 1979).

Telah dibuktikan bahwa penggunaan klomifen sitrat dapat menginduksi terjadinya ovulasi yang dapat dibuktikan melalui pemeriksaan folikel maupun pengukuran kadar gonadotropin di dalam darah, namun keberhasilan induksi ovulasi tersebut tidak diikuti peningkatan laju terjadinya kehamilan. Rendahnya laju kehamilan pasca perlakuan induksi ovulasi disebabkan karena terjadinya defek fase luteal, rendahnya reseptivitas uterus dan kualitas embrio yang rendah dan tingginya resiko terjadinya aborsi spontan (Greenblatt, 1979).

Kelainan kongenital berupa eksensefali dapat muncul akibat pemberian klomifen sitrat pada induk mencit sebelum ovulasi dengan dosis 5,0 µg/g berat badan. Kelainan kongenital lain yang dapat terjadi pada fetus yang induknya terdedah klomifen sitrat pada saat hamil adalah kelainan hepar, talipes, mikrosefali,

hypospadia, langit-langit bercelah, polidaktili, sindaktili, descensus testikulorum, anensefali dan spina bifida (Greenblatt, 1979; Dziadek, 1993).

#### **2.4. Kломifen Sitrat Dan Perkembangan Embrio**

Embrio adalah masa-masa yang paling rentan terhadap pengaruh-pengaruh lingkungan di sepanjang fase kehidupan organisme. Terdedahnya embrio oleh zat-zat toksik dapat berakibat fatal (Schardein, 1985; Carlson, 1981).

Perkembangan embrio secara *in vivo* sangat bergantung pada kondisi saluran reproduksi wanita. Pada kondisi normal, lingkungan yang paling sesuai untuk perkembangan embrio adalah di dalam saluran reproduksi wanita. Perubahan-perubahan lingkungan internal akibat masuknya zat-zat asing yang dapat mengubah kefaalan saluran reproduksi berpengaruh pada perkembangan embrionya (Gordon, 1994).

Pemberian kломifen sitrat sebelum ovulasi pada mencit menyebabkan rendahnya laju implantasi embrionya, karena reseptivitas uterus terhadap embrio sangat rendah. Selanjutnya bila kломifen sitrat diberikan pada saat akan terjadi ovulasi akan mengakibatkan retardasi pertumbuhan embrio (Dziadek, 1993).

Pemberian kломifen sitrat pada medium pertumbuhan embrio mencit secara *in vitro* menyebabkan terjadinya degenerasi embrio, sehingga embrio gagal mencapai blastokist. Degenerasi embrio ini meningkat sejalan dengan penambahan konsentrasi kломifen sitrat yang diberikan, bahkan pada konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  tidak satu pun embrio yang dapat mencapai blastokist (Schmidt et al., 1985 dan Laufer et al., 1983).

Kломifen sitrat juga berpengaruh pada kecepatan pembelahan sel-sel embrio mencit preimplantasi. Pemberian kломifen sitrat konsentrasi 10  $\mu\text{g/ml}$  sudah dapat

menyebabkan hambatan pada kecepatan pembelahan sel embrio. Proses hambatan tersebut terjadi 48 dan 72 jam setelah pemberian klomifen sitrat (Schmidt et al., 1985 dan Laufer et al., 1983).

## **BAB 3**

### **KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

#### **3.1. Kerangka Konseptual**

Klomifen sitrat adalah suatu senyawa non steroida derivat triphenylethylen yang bersifat antiestrogen. Bahan ini dapat dimanfaatkan untuk menginduksi terjadinya ovulasi. Cara kerja klomifen sitrat adalah dengan mengikat reseptor estrogen di dalam sitoplasma pada sel-sel jaringan hipotalamus, hipofisis dan ovarium, sehingga menyebabkan rangsangan sekresi gonadotropin, dalam hal ini terjadi peningkatan sekresi FSH dan LH (Kerin et al., 1985).

Peningkatan kadar FSH yang sangat tinggi di dalam darah dalam waktu yang cukup lama menyebabkan fase folikuler menjadi panjang, sehingga mengakibatkan pertumbuhan endometrium yang tidak sempurna. Pertumbuhan endometrium yang tidak sempurna menyebabkan terjadinya penurunan reseptivitas uterus terhadap implantasi embrio (Dziadek, 1993).

Klomifen sitrat juga menyebabkan gangguan kontraksi tuba, sehingga menyebabkan gangguan transportasi embrio menuju tempat implantasi (Birkenfeld et al., 1985).

Klomifen sitrat menyebabkan perubahan sistem hormonal di dalam tubuh, sehingga komposisi cairan fisiologis di dalam saluran reproduksi juga mengalami perubahan komposisi. Dalam keadaan normal cairan di dalam saluran reproduksi adalah medium yang paling sesuai untuk pertumbuhan embrio. Akibat perubahan tersebut, menyebabkan cairan dalam saluran reproduksi wanita bukan lagi medium yang sesuai untuk pertumbuhan embrio. Sebagai akibatnya terjadi hambatan pertumbuhan embrio (Schmidt et al., 1985).

Penambahan klomifen sitrat pada medium pertumbuhan embrio secara *in vitro* menyebabkan terjadinya hambatan pembelahan sel-sel embrio dan bahkan terjadi degenerasi

embrio. Hambatan pembelahan sel-sel embrio tersebut masih terjadi setelah 48 sampai 72 jam penambahan klomifen sitrat pada medium pertumbuhan embrio (Schmidt et al., 1985 dan Laufer et al., 1983).

Berdasarkan pada konsep-konsep mengenai pengaruh klomifen sitrat terhadap fungsi sistem reproduksi wanita tersebut, diduga bahwa rendahnya laju kehamilan dan tingginya aborsi spontan disebabkan oleh karena terjadinya gangguan pada pertumbuhan embrionya.

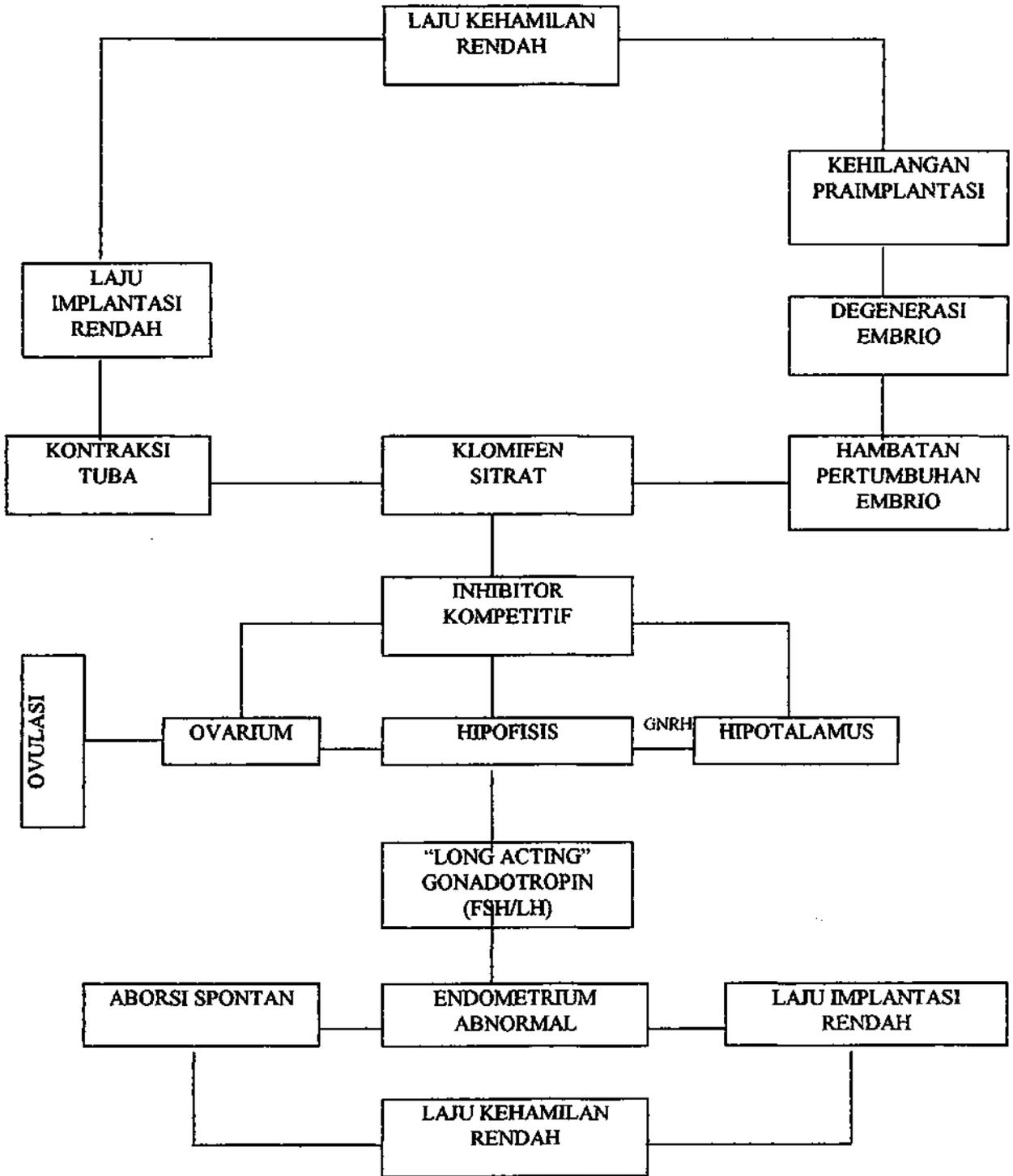
### 3.2. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konseptual tersebut, maka hipotesis yang diajukan adalah sebagai berikut.

- (1) Perlakuan induksi ovulasi dengan klomifen sitrat menyebabkan meningkatnya jumlah korpus luteum.
- (2) Perlakuan induksi ovulasi dengan klomifen sitrat menyebabkan meningkatnya jumlah embrio yang dihasilkan
- (3) Perlakuan induksi ovulasi dengan klomifen sitrat menyebabkan berkurangnya persentase embrio yang dapat mencapai tahap blastokis



KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN



Gambar 3.1. Skema Kerangka Konseptual Penelitian

## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental sesungguhnya (*true experimental*) yang dikerjakan di dalam laboratorium.

### 4.2. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan faktorial dengan jenis perlakuan yang terdiri atas :

Faktor A : Dosis klomifen sitrat yang meliputi

D0 : 0  $\mu$  g/g berat badan

D1 : 2,5  $\mu$ g/g berat badan

D2 : 5,0  $\mu$ g/g berat badan (Dziadek,1993)

Faktor B : Waktu pemberian klomifen sitrat

W1 : satu kali disuntik selanjutnya dikawinkan

W2 : dua kali disuntik selanjutnya dikawinkan

W3 : dikawinkan sehari setelah dua kali disuntik

Kombinasi perlakuan meliputi sebagai berikut :

D0W1          D0W2          D0W3

D1W1          D1W2          D1W3

D2W1          D2W2          D2W3

Pengulangan dilakukan sebanyak 5 kali.

### 4.3. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan berupa mencit betina dara sebanyak 45 ekor, berumur 8 minggu dengan berat badan berkisar antara 25-30 gram. Sampel tersebut dikelompokkan dalam 9 kelompok perlakuan secara acak dalam urutan kelompok sebagai berikut.

#### Kelompok I :

Lima ekor mencit betina dara yang disuntik akuabidestilata secara intraperitoneal selanjutnya dikawinkan pada sore harinya.

#### Kelompok II

Lima ekor mencit betina dara yang disuntik akuabidestilata dua hari berturut-turut secara intraperitoneal, selanjutnya dikawinkan.

#### Kelompok III

Lima ekor mencit betina dara yang disuntik akuabidestilata dua hari berturut-turut secara intraperitoneal selanjutnya dikawinkan pada sore hari keesokan harinya.

#### Kelompok IV

Lima ekor mencit betina dara yang disuntik klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  berat badan secara intraperitoneal, selanjutnya dikawinkan pada sore harinya.

#### Kelompok V

Lima ekor mencit betina dara yang disuntik klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  berat badan dua hari berturut-turut secara intraperitoneal, selanjutnya dikawinkan pada sore harinya.

**Kelompok VI**

Lima ekor mencit betina dara yang disuntik klomifen sitrat dosis 2,5 µg/g berat badan dua hari berturut-turut secara intraperitoneal, selanjutnya dikawinkan pada sore hari keesokan harinya.

**Kelompok VII**

Lima ekor mencit betina dara yang disuntik klomifen sitrat dosis 5,0 µg/g berat badan secara intraperitoneal, selanjutnya dikawinkan pada sore harinya.

**Kelompok VIII**

Lima ekor mencit betina dara yang disuntik klomifen sitrat dosis 5,0 µg/g berat badan dua hari berturut-turut secara intraperitoneal, selanjutnya dikawinkan pada sore harinya.

**Kelompok IX**

Lima ekor mencit betina dara yang disuntik klomifen sitrat dosis 5,0 µg/g berat badan dua hari berturut-turut secara intraperitoneal, selanjutnya dikawinkan pada sore hari keesokan harinya.

**4.4. Variabel Penelitian**

- (1) Variabel bebas meliputi dosis pemberian klomifen sitrat, waktu pemberian klomifen sitrat dan kombinasi antara dosis dan waktu pemberiannya.
- (2) Variabel kendali meliputi strain mencit yang digunakan, berat badan mencit dan pemeliharaan mencit.
- (3) Variabel terikat meliputi jumlah korpus luteum, jumlah embrio dan persentase stadium blastokis

#### 4.5. Definisi Operasional Variabel

- (1) Klomifen sitrat yang digunakan pada penelitian ini dalam bentuk murni yang diperoleh dari Sigma.
- (2) Induksi ovulasi adalah suatu upaya untuk melakukan stimulasi pada organisme agar terjadi ovulasi. Upaya yang dilakukan dengan cara memberikan zat-zat atau obat-obatan yang cara kerjanya berkaitan dengan mekanisme pengaturan hormon. Pada penelitian ini zat yang dipakai adalah klomifen sitrat. Mekanisme kerja klomifen sitrat untuk mempengaruhi sekresi gonadotropin dengan jalan bertindak sebagai inhibitor kompetitif pada reseptor estrogen di hipotalamus, hipofisis dan ovarium.
- (3) Teknologi bantu reproduksi adalah salah satu teknologi di bidang kedokteran yang berupaya untuk mengatasi masalah-masalah infertilitas yang disebabkan oleh kegagalan sistem reproduksi. Metode yang digunakan dalam upaya membantu gamet untuk melakukan fertilisasi baik secara *in vivo* maupun *in vitro*.
- (4) Mencit betina yang digunakan dalam penelitian ini adalah berasal dari strain Balb C yang diperoleh dari Pemeliharaan hewan coba Fakultas Farmasi Universitas Airlangga . Mencit yang digunakan sebagai sampel dipilih mencit yang sehat, berumur di atas 8 minggu, dara dan berat badannya berkisar antara 25-30 gram. Pemeliharaannya di dalam rumah hewan FMIPA Universitas Airlangga kemudian ditempatkan dalam sebuah kandang terbuat dari plastik yang berukuran 30x20 cm dan diberi alas sekam. Makanannya berupa pelet PAR G dengan air minum dari PDAM secara *ad libitum*. Penyinaran berupa cahaya lampu yang diberikan selama 12 jam mulai pukul 06.00-18.00.

- (5) Siklus estrus adalah siklus reproduksi mencit yang meliputi fase-fase proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Untuk menentukan masing-masing fase tersebut ditentukan berdasarkan hasil analisis hapus vagina.
- (6) Flushing adalah salah satu cara untuk memperoleh embrio preimplantasi dengan cara menyemprotkan larutan Tyrode ke dalam uterus kemudian ditampung pada gelas arloji.
- (7) Perkembangan embrio preimplantasi mencit adalah tahap perkembangan embrio mencit sebelum mengalami implantasi pada endometrium uterus. Tahap perkembangan embrio preimplantasi yang dipelajari pada penelitian ini adalah pembentukan blastokis.
- (8) Kualitas perkembangan embrio mencit adalah bentuk morfologi dan ketepatan waktu perkembangan embrio sesuai dengan perkembangan normal embrio mencit.
- (9) Stadium perkembangan embrio adalah tahap perkembangan embrio yang dapat dicapai pada saat dilakukan flushing pada umur kebuntingan tiga hari setelah induknya diperlakukan dengan klomifen sitrat.

#### **4.6. Bahan dan Alat Penelitian**

- (1) Klomifen sitrat produksi SIGMA
- (2) Akuabidestilata
- (3) Alkohol 70%
- (4) Larutan tyrode
- (5) Alat-alat pemeliharaan mencit
- (6) Siringe disposabel 1 ml. dan alat-alat gelas untuk flushing
- (7) Alat-alat bedah

(8) Timbangan analitik

(9) *Dissecting microscope*

(10) *Inverted microscope*

#### 4.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Reproduksi FMIPA Universitas Airlangga. Penelitian dilakukan mulai bulan Juli 1999 s/d bulan Mei 2000.

#### 4.8. Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yang selengkapnya dapat diikuti seperti yang tercantum di bawah ini.

##### 1. Tahapan Persiapan yang meliputi :

(a) penyediaan dan aklimatisasi hewan coba

(b) penyediaan larutan klomifen sitrat dalam dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  berat badan dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  berat badan dengan cara melarutkan klomifen sitrat di dalam akuabidestilata.

##### 2. Tahap perlakuan yang meliputi

(a) Penentuan dosis klomifen sitrat

Besarnya dosis yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Dziadek (1993), sehingga ditentukan besarnya dosis yang digunakan meliputi 2,5  $\mu\text{g/g}$  berat badan dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  berat badan.

(b) Pemberian klomifen sitrat

Klomifen sitrat disuntikan secara intraperitoneal dengan variasi penyuntikan yang meliputi, satu kali pemberian selanjutnya dikawinkan pada sore harinya, dua kali pemberian secara berurutan selanjutnya dikawinkan pada sore harinya dan dua kali pemberian secara berurutan selanjutnya dikawinkan sehari setelah suntikan kedua.

(c) Mengawinkan mencit

Untuk mengawinkan mencit dengan cara menempatkan mencit jantan dan betina dalam satu kandang pada sore hari sekitar pukul 17.00. Keesokan harinya diamati adanya sumbat vagina. Apabila ditemukan sumbat vagina, maka telah terjadi kopulasi dan dianggap sebagai umur kebuntingan nol hari (U.K. 0).

(d) Pengumpulan data

Pada umur kebuntingan tiga hari (U.K>3), mencit dibunuh dengan cara dislokasi serviks. Selanjutnya kedua ovarium diambil untuk dihitung jumlah korpus luteumnya. Kemudian dilakukan flushing dengan cara menyemprotkan larutan tyrode ke dalam uterus. Larutan tyrode yang disemprotkan tersebut ditampung dalam gelas arloji selanjutnya embrio yang ditemukan dihitung jumlahnya dan diamati stadium perkembangannya dengan menggunakan *inverted microscope*.

#### 4.9. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh berupa jumlah korpus luteum, jumlah embrio dan stadium perkembangan embrionya dianalisis dengan menggunakan ANAVA. Bila terdapat interaksi yang nyata antara faktor dosis pemberian klomifen

## BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

### 5.1. Hasil Penelitian

Pemeriksaan jumlah korpus luteum mencit setelah mendapat perlakuan induksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada berbagai dosis dan waktu kawin dengan menggunakan mikroskop bedah, sedangkan jumlah embrio yang diperoleh dari hasil flushing diamati dan dihitung dengan menggunakan *inverted microscope*. Hasil pengamatan tersebut disajikan sebagai berikut.

#### 5.1.1. Data jumlah korpus luteum

Data hasil penghitungan jumlah korpus luteum disajikan dalam lampiran 1, sedangkan rata-rata hasil penghitungannya disajikan dalam tabel 5.1., 5.2., 5.3.

Tabel 5.1. Total rata-rata jumlah korpus luteum mencit yang diinduksi ovulasi dengan dosis 0, 2,5 dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  berat badan

|                                | Dosis Klomifen Sitrat ( $\mu\text{g/g}$ berat badan) |                    |                    |
|--------------------------------|--|--------------------|--------------------|
|                                | 0  | 2,5                | 5,0                |
| Rata-rata Jumlah Korpus Luteum | 10,60 <sup>a</sup>                                   | 11,47 <sup>b</sup> | 12,67 <sup>c</sup> |
| Simpangan baku                 | 1,12   | 1,13               | 0,72               |

<sup>ab c</sup> Berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

Tabel 5.2. Total rata-rata jumlah korpus luteum yang diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat dengan berbagai jenis waktu kawin

|                                | Waktu kawin |       |       |
|--------------------------------|-------------|-------|-------|
|                                | W1          | W2    | W3    |
| Rata-rata Jumlah Korpus Luteum | 11,53       | 11,87 | 11,33 |
| Simpangan baku                 | 0,99        | 1,19  | 1,68  |

Tabel 5.3 Rata-rata jumlah korpus luteum mencit yang mendapatkan perlakuan induksi ovulasi klomifen sitrat dengan berbagai dosis dan jenis waktu kawin dan jumlah pemberian

| Kombinasi dosis dan Jenis Pemberian | Rata-rata Jumlah Korpus Luteum | Simpangan baku |
|-------------------------------------|--------------------------------|----------------|
| D0W1                                | 11,20                          | 0,84           |
| D0W2                                | 10,60                          | 1,14           |
| D0W3                                | 10,00                          | 1,22           |
| D1W1                                | 11,20                          | 1,30           |
| D1W2                                | 12,40                          | 0,55           |
| D1W3                                | 10,80                          | 0,84           |
| D2W1                                | 12,20                          | 0,45           |
| D2W2                                | 12,60                          | 0,55           |
| D2W3                                | 13,20                          | 0,84           |

Keterangan-D0 : Dosis 0 $\mu$ g/g bb

D1 : Dosis 2,5  $\mu$ g/g bb

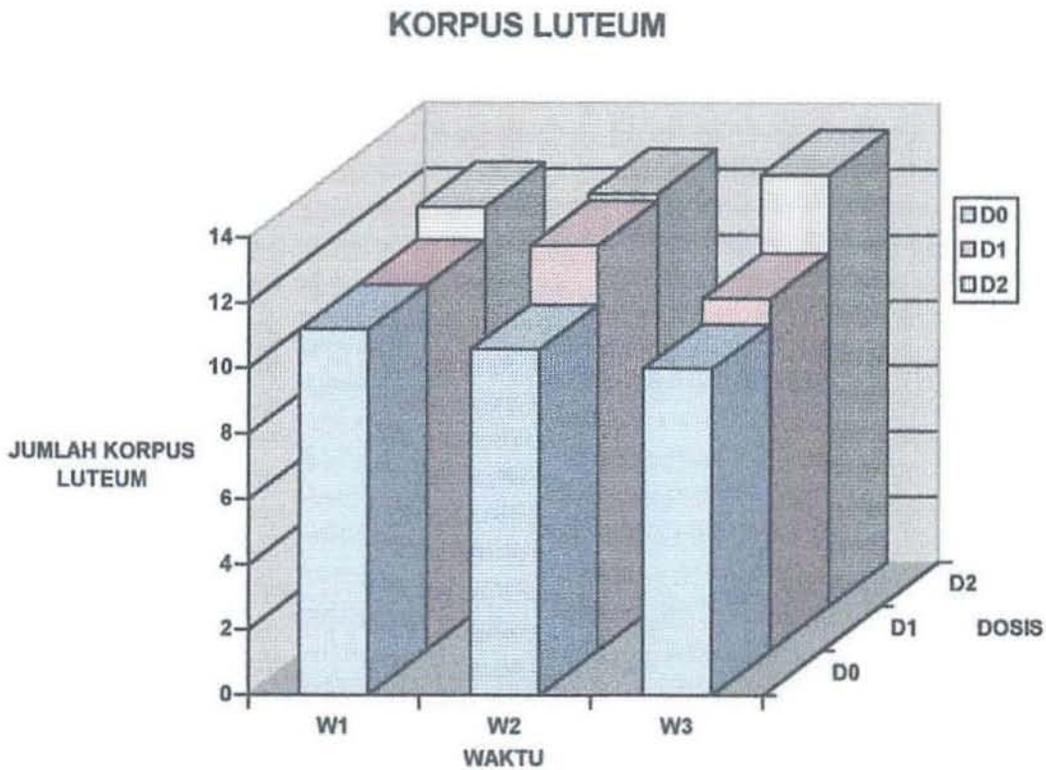
D2 : Dosis 5,0  $\mu$ g/g bb

W1 : Disuntik sekali selanjutnya dikawinkan pada sore harinya

W2 : Disuntik dua kali selanjutnya dikawinkan pada sore harinya

W3 : Disuntik dua kali selanjutnya dikawinkan sehari kemudian





Gambar 5.1. Histogram Rata-rata Jumlah Korpus luteum mencit setelah perlakuan Induksi Ovulasi dengan Klomifen Sitrat

Dosis : D0 : 0  $\mu\text{g/g}$  bb.

D1 : 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb

D2 : 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb

Waktu : W1 : Dikawinkan setelah disuntik sekali

W2 : Dikawinkan setelah disuntik dua kali

W3 : Dikawinkan sehari setelah disuntik dua kali



Jumlah oosit yang diovulasikan diketahui melalui penghitungan jumlah korpus luteum. Rata-rata jumlah korpus luteum yang terhitung pada kelompok kontrol berkisar antara  $10,0 \pm 0,55$  sampai dengan  $11,2 \pm 0,37$ . Rata-rata jumlah korpus luteum terbanyak ( $11,2 \pm 0,37$ ) pada kelompok kontrol dijumpai pada kelompok yang dikawinkan setelah sekali disuntik (W1). Rata-rata jumlah korpus luteum untuk semua waktu kawin yang terhitung pada kelompok kontrol sebesar  $10,6 \pm 0,5$ .

Rata-rata jumlah korpus luteum yang dapat dihitung pada kelompok perlakuan dosis  $2,5 \mu\text{g/g}$  berat badan berkisar antara  $10,8 \pm 0,37$  sampai dengan  $12,4 \pm 0,24$ . Rata-rata jumlah korpus luteum terbanyak ( $12,4 \pm 0,24$ ) terdapat pada kelompok yang dikawinkan setelah dua kali (W2) disuntik dengan klomifen sitrat dosis  $2,5 \mu\text{g/g}$  berat badan. Rata-rata jumlah korpus luteum untuk semua waktu kawin yang terhitung pada kelompok perlakuan dosis  $2,5 \mu\text{g/g}$  berat badan adalah  $11,5 \pm 0,50$ .

Rata-rata jumlah korpus luteum yang dapat dihitung pada kelompok perlakuan dosis  $5,0 \mu\text{g/g}$  berat badan berkisar antara  $12,2 \pm 0,20$  sampai dengan  $13,2 \pm 0,37$ . Rata-rata jumlah korpus luteum terbanyak ( $13,2 \pm 0,37$ ) terdapat pada kelompok yang dikawinkan sehari setelah disuntik klomifen sitrat dua kali secara berurutan (W3). Rata-rata jumlah korpus luteum untuk semua waktu kawin yang terhitung pada kelompok perlakuan dosis  $5,0 \mu\text{g/g}$  berat badan sebesar  $12,67 \pm 0,32$ .

Rata-rata jumlah korpus luteum yang terhitung pada kelompok waktu kawin sekali setelah disuntik (W1) untuk semua dosis adalah  $11,53 \pm 0,44$ , sedangkan untuk kelompok waktu kawin dua kali setelah disuntik (W2) sebanyak  $11,87 \pm 0,53$  dan untuk kelompok waktu kawin sehari setelah dua kali disuntik klomifen sitrat dengan dosis  $5,0 \mu\text{g/g}$  berat badan adalah sebesar  $11,33 \pm 0,75$ . Rata-rata jumlah korpus luteum yang dapat dihitung setelah pemberian klomifen sitrat sebanyak  $12,07$ ,

sedangkan rata-rata jumlah korpus luteum yang terhitung pada kelompok kontrol sebanyak 10,6.

### 5.1.2. Data jumlah embrio

Embrio yang diperoleh dari hasil flushing ditampung dalam gelas arloji, kemudian diamati dengan *inverted microscope* dan dihitung jumlahnya. Hasil pengamatan dan perhitungannya disajikan sebagai berikut.

Tabel 5.4. Total rata-rata jumlah embrio mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada dosis 0, 2,5 dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  berat badan

|                         | Dosis Klomifen Sitrat ( $\mu\text{g/g}$ berat badan) |                    |                    |
|-------------------------|--|--------------------|--------------------|
|                         | 0  | 2,5                | 5,0                |
| Rata-rata Jumlah Embrio | 10,40 <sup>a</sup>                                   | 10,93 <sup>a</sup> | 12,13 <sup>b</sup> |
| Simpangan baku          | 1,24   | 0,88               | 0,99               |

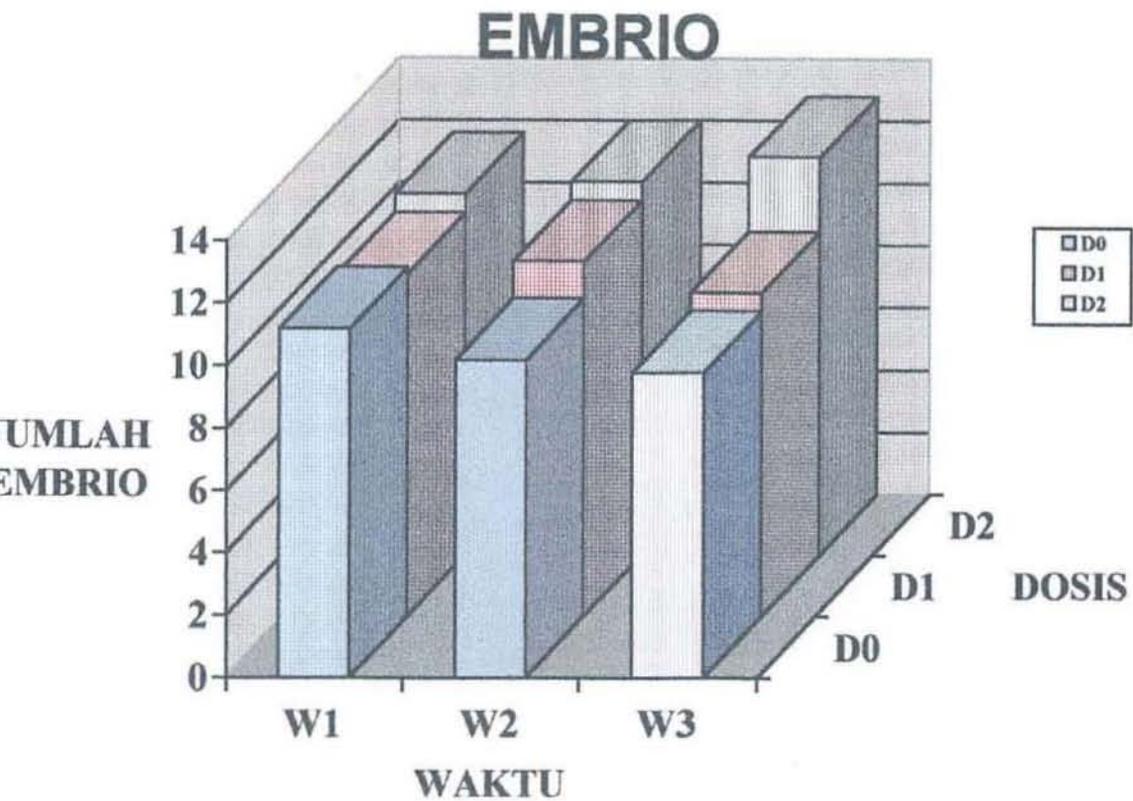
<sup>a,b</sup>Berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

Tabel 5.5. Total rata-rata jumlah embrio mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada berbagai jenis jumlah pemberian dan waktu kawin setelah diberi perlakuan

|                         | Waktu kawin |       |       |
|-------------------------|-------------|-------|-------|
|                         | W1          | W2    | W3    |
| Rata-rata Jumlah Embrio | 11,27       | 11,20 | 11,00 |
| Simpangan baku          | 0,96        | 1,15  | 1,65  |

Tabel 5.6. Rata-rata jumlah embrio mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan kломifen sitrat pada kombinasi dosis dan jenis waktu pemberian

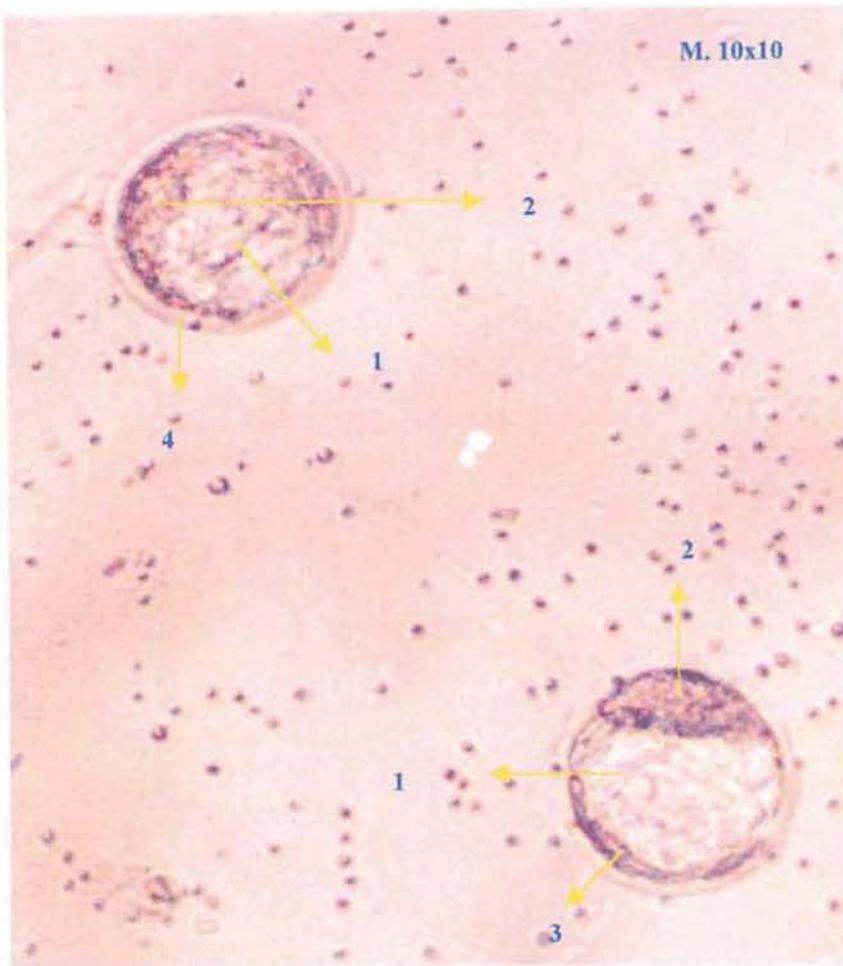
| Kombinasi dosis dan Jenis Pemberian | Rata-rata Jumlah Embrio | Simpangan baku |
|-------------------------------------|-------------------------|----------------|
| D0W1                                | 11,20                   | 0,84           |
| D0W2                                | 10,20                   | 1,10           |
| D0W3                                | 9,80                    | 1,48           |
| D1W1                                | 11,00                   | 1,00           |
| D1W2                                | 11,40                   | 0,89           |
| D1W3                                | 10,40                   | 0,55           |
| D2W1                                | 11,60                   | 1,14           |
| D2W2                                | 12,00                   | 0,70           |
| D2W3                                | 12,8                    | 0,84           |



Gambar 5.2. Histogram rata-rata Jumlah Embrio mencit yang induknya diinduksivovulasi dengan klomifen sitrat

|         |    |  |
|---------|----|--|
| Dosis : | D0 | : 0 $\mu\text{g/g}$ bb.                                      |
|         | D1 | : 2,5 $\mu\text{g/g}$ bb                                     |
|         | D2 | : 5,0 $\mu\text{g/g}$ bb                                     |
| Waktu : | W1 | : Disuntik sekali kemudian dikawinkan                        |
|         | W2 | : Disuntik dua kali kemudian dikawinkan pada sore harinya    |
|         | W3 | : Disuntik dua kali berurutan dan dikawinkan sehari kemudian |





Gambar 5.3. Embrio mencit umur tiga hari kebuntingan yang induknya diinduksi ovulasi dengan kломifen sitrat  
1. blastocoel; 2. ICM; 3. Trofoblas; 4. Zona pellucida

Jumlah embrio menggambarkan jumlah ovum yang berhasil difertilisasi. Hasil penghitungan jumlah embrio setelah dilakukan flushing menunjukkan bahwa jumlah embrio yang ditemukan pada kelompok kontrol berkisar antara  $9,8 \pm 0,66$  sampai dengan  $11,2 \pm 0,37$ . Rata-rata jumlah embrio terbesar terdapat pada kelompok waktu

01201 22

Gambar 2.2. Perbandingan jumlah telur pada kelompok yang indung  
dikontrol dan tidak dikontrol terhadap suhu  
di antara kelompok 1 (K1), 2 (K2), 3 (K3) dan 4 (K4) pada periode

Jumlah embrio yang dihasilkan pada kelompok yang dikontrol. Hasil  
pengamatan jumlah embrio setelah dilakukan tes menunjukkan bahwa jumlah  
embrio yang ditemukan pada kelompok kontrol berkisar antara  $9,8 \pm 0,66$  sampai  
dengan  $11,3 \pm 0,77$ . Rata-rata jumlah embrio terdapat terdapat pada kelompok yang

kawin setelah disuntik sekali (W1). Rata-rata jumlah embrio untuk semua waktu kawin pada kelompok kontrol adalah sebesar  $10,4 \pm 0,56$ .

Rata-rata jumlah embrio yang dapat dihitung pada kelompok perlakuan dosis  $2,5 \mu\text{g/g}$  berat badan berkisar antara  $10,4 \pm 0,024$  sampai dengan  $11,4 \pm 0,40$ . Rata-rata jumlah embrio terbanyak ( $11,4 \pm 0,40$ ) terdapat pada kelompok yang dikawinkan setelah dua kali (W2) disuntik dengan klomifen sitrat dosis  $2,5 \mu\text{g/g}$  berat badan. Rata-rata jumlah embrio untuk semua waktu yang terhitung pada kelompok perlakuan dosis  $2,5 \mu\text{g/g}$  berat badan adalah  $10,9 \pm 0,20$ .

Rata-rata jumlah embrio yang dapat dihitung pada kelompok perlakuan dosis  $5,0 \mu\text{g/g}$  berat badan berkisar antara  $11,6 \pm 0,51$  sampai dengan  $12,8 \pm 0,37$ . Rata-rata jumlah embrio terbanyak ( $12,82 \pm 0,37$ ) terdapat pada kelompok yang dikawinkan sehari setelah disuntik klomifen sitrat dua kali secara berurutan (W3). Rata-rata jumlah embrio untuk semua waktu kawin yang terhitung pada kelompok perlakuan dosis  $5,0 \mu\text{g/g}$  berat badan sebesar  $12,13 \pm 0,32$ .

Rata-rata jumlah embrio yang terhitung pada kelompok waktu kawin sekali setelah disuntik (W1) untuk semua dosis adalah  $11,3 \pm 0,43$ , sedangkan untuk kelompok waktu kawin dua kali setelah disuntik (W2) sebanyak  $11,2 \pm 0,51$  dan untuk kelompok waktu kawin sehari setelah dua kali disuntik klomifen sitrat secara berurutan dengan dosis  $5,0 \mu\text{g/g}$  (W3) berat badan adalah sebesar  $11,0 \pm 0,74$ . Rata-rata jumlah embrio yang dapat dihitung setelah pemberian klomifen sitrat sebanyak  $11,53$ , sedangkan rata-rata jumlah korpus luteum yang terhitung pada kelompok kontrol sebanyak  $10,40$ .

### 5.1.3. Data persentase blastokis

Setelah embrio yang diperoleh dari flushing dihitung total jumlah embrio, selanjutnya ditentukan stadium perkembangannya dengan jalan mengamati morfologi embrio dan disesuaikan dengan atlas embrio mencit (Kaufman, 1979). Hasil penghitungannya disajikan sebagai berikut.

Tabel 5.7.. Total rata-rata persentase blastokis setelah induksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada dosis 0, 2,5 dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  berat badan

|                                | Dosis Klomifen Sitrat ( $\mu\text{g/g}$ berat badan) |                    |                    |
|--------------------------------|--|--------------------|--------------------|
|                                | 0  | 2,5                | 5,0                |
| Rata-rata Persentase Blastokis | 96,51  | 75,70 <sup>a</sup> | 84,71 <sup>b</sup> |
| Simpangan baku                 | 0,36   | 0,80               | 0,49               |

<sup>a,b</sup> Berbeda nyata ( $p < 0,05$ )

Tabel 5.8 Rata-rata persentase blastokis mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada berbagai jenis waktu kawin dan jumlah pemberian.

|                                | Jenis Pemberian |       |       |
|--------------------------------|-----------------|-------|-------|
|                                | W1              | W2    | W3    |
| Rata-rata Persentase Blastokis | 81,57           | 86,87 | 88,49 |
| Simpangan baku                 | 0,98            | 0,72  | 0,67  |

Tabel 5.9. Rata-rata jumlah embrio mencit yang induknya diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada kombinasi dosis dan jenis waktu kawin dan jumlah pemberian

| Kombinasi dosis dan Jenis Pemberian | Persentase Blastokis<br>(Mean $\pm$ SE) |
|-------------------------------------|---|
| D0W1                                | 96,52 $\pm$ 2,13                        |
| D0W2                                | 94,66 $\pm$ 3,44                        |
| D0W3                                | 98,34 $\pm$ 1,66                        |
| D1W1                                | 67,06 $\pm$ 5,17                        |
| D1W2                                | 77,50 $\pm$ 5,45                        |
| D1W3                                | 82,54 $\pm$ 3,81                        |
| D2W1                                | 81,12 $\pm$ 3,19                        |
| D2W2                                | 88,44 $\pm$ 1,85                        |
| D2W3                                | 84,58 $\pm$ 4,12                        |

Berdasarkan hasil uji tersebut didapatkan bahwa nilai signifikansi hasil uji lebih besar 0,05, hal ini berarti varians data tersebut berasal dari populasi yang homogen. Hasil uji normalitas distribusi data juga menunjukkan hasil bahwa data tersebut berdistribusi normal, sehingga dapat diuji dengan menggunakan ANAVA.

Hasil uji Analisis Varians data jumlah korpus luteum disajikan dalam bentuk tabel rangkuman seperti tercantum pada Tabel 5.4.

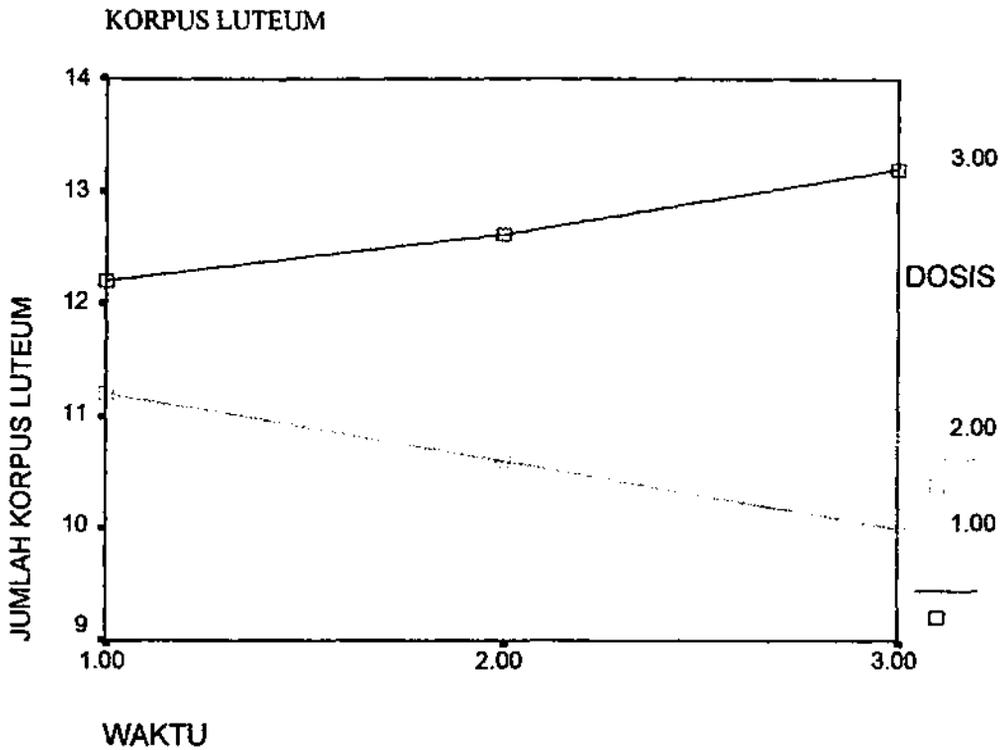
Tabel 5.13. Rangkuman Analisis Varians Untuk Data Jumlah Korpus Luteum

| <b>Tests of Between-Subjects Effects</b> |                         |    |             |          |      |
|--|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Dependent Variable: CL                   |                         |    |             |          |      |
| Source                                   | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
| Corrected Model                          | 45.378 <sup>a</sup>     | 8  | 5.672       | 6.899    | .000 |
| Intercept                                | 6032.022                | 1  | 6032.022    | 7336.243 | .000 |
| DOSIS                                    | 32.311                  | 2  | 16.156      | 19.649   | .000 |
| WAKTU                                    | 2.178                   | 2  | 1.089       | 1.324    | .279 |
| DOSIS * WAKTU                            | 10.889                  | 4  | 2.722       | 3.311    | .021 |
| Error                                    | 29.600                  | 36 | .822        |          |      |
| Total                                    | 6107.000                | 45 |             |          |      |
| Corrected Total                          | 74.978                  | 44 |             |          |      |

a. R Squared = .605 (Adjusted R Squared = .517)

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa terdapat interaksi yang nyata ( $p < 0,05$ ) antara dosis pemberian klomifen sitrat dan waktu kawin, sehingga menyebabkan perbedaan rata-rata jumlah korpus luteum mencit.

Bentuk interaksi antara faktor dosis dan waktu terhadap jumlah korpus luteum dapat diamati dari plot profil pada gambar 5.6. Adanya interaksi ditunjukkan dengan tidak sejajarnya ketiga garis tersebut.



Gambar 5.6. Plot Profil data jumlah korpus luteum mencit setelah perlakuan dengan klomifen sitrat

Oleh karena terjadi interaksi yang nyata antara faktor dosis dan waktu kawin, maka perlu dilakukan uji pengaruh sederhana masing-masing faktor. Berikut ini adalah hasil uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan terhadap variabel dosis klomifen sitrat dan waktu kawin.

Pengaruh dosis klomifen sitrat pada waktu kawin setelah disuntik satu kali (W1) seperti yang ditunjukkan pada pengujian treatment 1,4 dan 7, ternyata menunjukkan bahwa ketiganya terdapat pada kelompok yang sama, artinya tidak terdapat perbedaan jumlah korpus luteum yang nyata. Hal ini berarti bahwa jumlah

korpus luteum mencit tidak akan berbeda secara nyata bila mencit disuntik sekali dengan klomifen sitrat dosis yang diujikan kemudian dikawinkan pada sore harinya

Pengaruh dosis klomifen sitrat pada waktu kawin setelah dua kali disuntik (W2) seperti ditunjukkan pada pengujian treatment 2, 5 dan 8, ternyata menunjukkan bahwa ketiganya tidak terdapat pada kelompok yang sama. Hal ini berarti terdapat perbedaan jumlah korpus luteum yang nyata ( $p < 0,05$ ) akibat pemberian klomifen sitrat. Dengan demikian jumlah korpus luteum mencit akan berbeda secara nyata bila mencit tersebut disuntik klomifen sitrat dua kali kemudian pada sore harinya dikawinkan.

Tabel 5.14. Uji Duncan Untuk Data Jumlah Korpus Luteum

| CL                    |   |         |         |         |
|-----------------------|---|---------|---------|---------|
| Duncan <sup>a,b</sup> |   |         |         |         |
| TREATMEN              | N | Subset  |         |         |
|                       |   | 1       | 2       | 3       |
| 3.00                  | 5 | 10.0000 |         |         |
| 2.00                  | 5 | 10.6000 |         |         |
| 6.00                  | 5 | 10.8000 |         |         |
| 1.00                  | 5 | 11.2000 | 11.2000 |         |
| 4.00                  | 5 | 11.2000 | 11.2000 |         |
| 7.00                  | 5 |         | 12.2000 | 12.2000 |
| 5.00                  | 5 |         | 12.4000 | 12.4000 |
| 8.00                  | 5 |         |         | 12.6000 |
| 9.00                  | 5 |         |         | 13.2000 |
| Sig.                  |   | .068    | .062    | .119    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on Type III Sum of Squares  
 The error term is Mean Square(Error) = .822.  
 a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.  
 b. Alpha = .05.

Pengaruh dosis klomifen sitrat pada waktu kawin sehari setelah disuntik dua kali seperti ditunjukkan pada pengujian treatment 3, 6 dan 9, ternyata menunjukkan bahwa penyuntikan klomifen sitrat dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. dan dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. tidak menyebabkan perbedaan jumlah korpus luteum yang nyata, sedangkan penyuntikan klomifen sitrat dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb menyebabkan perbedaan jumlah korpus luteum yang nyata ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti bahwa jumlah korpus luteum mencit yang dikawinkan satu hari setelah disuntik dua kali akan berbeda nyata bila dosis pemberiannya sebesar 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb.

Pengaruh waktu kawin mencit pada dosis pemberian klomifen sitrat 0  $\mu\text{g/g}$  bb. seperti ditunjukkan pada hasil pengujian treatment 1, 2 dan 3. Berdasarkan hasil pengujian ternyata ketiganya berada pada kelompok yang sama, artinya tidak terdapat perbedaan jumlah korpus luteum mencit yang nyata. Hal ini berarti waktu kawin mencit tidak akan menyebabkan perbedaan jumlah korpus luteum yang nyata, bila dosis pemberian klomifen sitrat 0  $\mu\text{g/g}$  bb..

Pengaruh waktu kawin mencit pada dosis pemberian klomifen sitrat 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. seperti ditunjukkan pada hasil pengujian treatment 4, 5 dan 6. Berdasarkan hasil pengujian ternyata menunjukkan bahwa waktu kawin sehari setelah disuntik dua kali dan waktu kawin setelah disuntik satu kali tidak menyebabkan perbedaan yang nyata,. Demikian juga dengan waktu kawin setelah satu kali disuntik dan waktu kawin setelah dua kali disuntik, tetapi mempunyai pengaruh yang lebih kuat dari pada pasangan pertama. Perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) terjadi antara waktu kawin sehari setelah disuntik dua kali dan waktu kawin setelah disuntik dua kali. Hal ini berarti peningkatan jumlah korpus luteum yang nyata akan terjadi bila disuntik dengan klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. dan dikawinkan setelah dua kali pemberian.

Pengaruh waktu kawin mencit pada dosis pemberian klomifen sitrat 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. seperti ditunjukkan pada hasil pengujian treatment 7, 8 dan 9. Berdasarkan hasil pengujian ternyata bahwa waktu kawin setelah dua kali disuntik dan waktu kawin sehari setelah dua kali disuntik tidak menyebabkan perbedaan yang nyata, tetapi kedua jenis waktu kawin tersebut menyebabkan perbedaan jumlah korpus luteum yang nyata pada bila dibandingkan dengan waktu kawin setelah disuntik satu kali. Hal ini berarti bahwa mencit yang dikawinkan setelah dua kali disuntik dan sehari setelah dua kali disuntik mempunyai jumlah korpus luteum yang tidak berbeda nyata bila disuntik klomifen sitrat dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb.

### 5.2.2. Embrio

Statistik deskriptif variabel jumlah embrio seperti ditunjukkan pada tabel berikut ini.

Tabel 5.15. Statistik deskriptif Jumlah Embrio mencit Setelah Perlakuan Dengan Klomifen Sitrat pada berbagai dosis.

| Descriptive Statistics     |       |         |                |    |
|----------------------------|-------|---------|----------------|----|
| Dependent Variable: EMBRYO |       |         |                |    |
| DOSIS                      | WAKTU | Mean    | Std. Deviation | N  |
| 1,00                       | 1,00  | 11,2000 | ,8367          | 5  |
|                            | 2,00  | 10,2000 | 1,0954         | 5  |
|                            | 3,00  | 9,8000  | 1,4832         | 5  |
|                            | Total | 10,4000 | 1,2421         | 15 |
| 2,00                       | 1,00  | 11,0000 | 1,0000         | 5  |
|                            | 2,00  | 11,4000 | ,8944          | 5  |
|                            | 3,00  | 10,4000 | ,5477          | 5  |
|                            | Total | 10,9333 | ,8837          | 15 |
| 3,00                       | 1,00  | 11,6000 | 1,1402         | 5  |
|                            | 2,00  | 12,0000 | ,7071          | 5  |
|                            | 3,00  | 12,8000 | ,8367          | 5  |
|                            | Total | 12,1333 | ,9904          | 15 |
| Total                      | 1,00  | 11,2667 | ,9812          | 15 |
|                            | 2,00  | 11,2000 | 1,1464         | 15 |
|                            | 3,00  | 11,0000 | 1,6475         | 15 |
|                            | Total | 11,1556 | 1,2605         | 45 |

Sebelum dilakukan Analisis terhadap beda rata-rata jumlah embrio mencit setelah induknya diberi perlakuan klomifen sitrat pada berbagai dosis dan berbagai waktu kawin, maka dilakukan uji homogenitas varians dengan menggunakan uji Levene dan uji Kolmogorov-Smirnov untuk menguji normalitas distribusi data jumlah embrio. Hasil uji tersebut tercantum pada Tabel 5.16. dan Tabel 5.17.

Tabel 5.16. Uji Homogenitas Varians Dengan Uji Levene Untuk Data Jumlah Embrio

| <b>Levene's Test of Equality of Error Variances <sup>a</sup></b> |     |     |      |
|--|-----|-----|------|
| Dependent Variable: EMBRYO                                       |     |     |      |
| F  | df1 | df2 | Sig. |
| ,618   | 8   | 36  | ,757 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+DOSIS+WAKTU+DOSIS \* WAKTU

Tabel 5.17. Uji Normalitas Untuk Data Jumlah Embrio

| <b>One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test</b> |                |         |
|---|----------------|---------|
|   |                | EMBRYO  |
| N   |                | 45      |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup>          | Mean           | 11,1556 |
|   | Std. Deviation | 1,2605  |
| Most Extreme Differences                  | Absolute       | ,215    |
|   | Positive       | ,176    |
|   | Negative       | -,215   |
| Kolmogorov-Smirnov Z                      |                | 1,444   |
| Asymp. Sig. (2-tailed)                    |                | ,031    |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Berdasarkan hasil uji tersebut didapatkan bahwa nilai signifikansi hasil uji lebih besar 0,05, hal ini berarti varians data tersebut berasal dari populasi yang homogen dan berdasarkan hasil uji Kolmogorov-Smirnof menunjukkan bahwa data tersebut berdistribusi normal, sehingga dapat diuji dengan menggunakan ANAVA.

Hasil uji Analisis Varians data jumlah embrio disajikan dalam bentuk tabel rangkuman seperti tercantum pada Tabel 5.18.

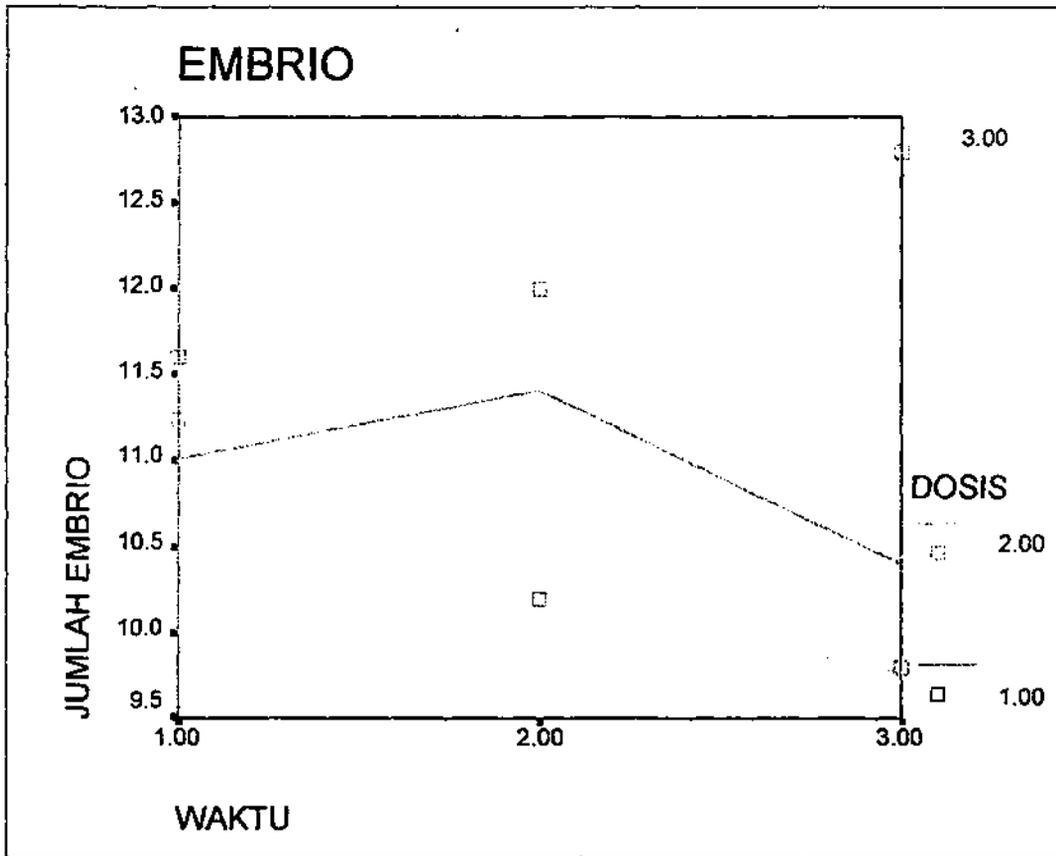
Tabel. 5.18. Rangkuman Analisis Varians Untuk Data Jumlah Embrio

| <b>Tests of Between-Subjects Effects</b> |                         |    |             |          |      |
|--|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Dependent Variable: EMBRYO               |                         |    |             |          |      |
| Source                                   | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
| Corrected Model                          | 35,111 <sup>a</sup>     | 8  | 4,389       | 4,540    | ,001 |
| Intercept                                | 5600,089                | 1  | 5600,089    | 5793,195 | ,000 |
| DOSIS                                    | 23,644                  | 2  | 11,822      | 12,230   | ,000 |
| WAKTU                                    | ,578                    | 2  | ,289        | ,299     | ,743 |
| DOSIS * WAKTU                            | 10,889                  | 4  | 2,722       | 2,816    | ,039 |
| Error                                    | 34,800                  | 36 | ,967        |          |      |
| Total                                    | 5670,000                | 45 |             |          |      |
| Corrected Total                          | 69,911                  | 44 |             |          |      |

a. R Squared = ,502 (Adjusted R Squared = ,392)

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa terdapat interaksi yang nyata ( $p < 0,05$ ) antara dosis pemberian klomifen sitrat dan waktu kawin, sehingga menyebabkan perbedaan rata-rata jumlah embrio mencit.

Bentuk interaksi antara faktor dosis dan waktu terhadap jumlah korpus luteum dapat diamati dari plot profil pada gambar 5.7. Adanya interaksi ditunjukkan dengan tidak sejajarnya ketiga garis tersebut.



**Gambar 5.7. Plot Profil Jumlah Embrio Mencit Setelah Diperlakukan Dengan Kломifen Sitrat**

Oleh karena terjadi interaksi yang nyata antara faktor dosis dan waktu kawin, maka perlu dilakukan uji pengaruh sederhana masing-masing faktor dengan menggunakan uji Duncan.. Berikut ini adalah hasil uji lanjut dengan menggunakan Duncan terhadap variabel dosis kломifen sitrat dan waktu kawin.

Pengaruh dosis pemberian kломifen sitrat pada waktu kawin setelah sekali disuntik terhadap jumlah embrio seperti ditunjukkan oleh hasil pengujian treatment 1, 4 dan 7. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ketiga dosis berada pada kelompok yang sama, artinya tidak ada perbedaan jumlah embrio yang nyata. Hal ini berarti bahwa ketiga dosis pemberian kломifen sitrat tersebut tidak akan menyebabkan perbedaan jumlah embrio yang nyata bila dikawinkan setelah disuntik satu kali.

Tabel 5.19. Uji Duncan Untuk Data Jumlah Embrio

| EMBRYO                |   |         |         |         |         |
|-----------------------|---|---------|---------|---------|---------|
| Duncan <sup>a,b</sup> |   |         |         |         |         |
| TREATMEN              | N | Subset  |         |         |         |
|                       |   | 1       | 2       | 3       | 4       |
| 3,00                  | 5 | 9,8000  |         |         |         |
| 2,00                  | 5 | 10,2000 | 10,2000 |         |         |
| 6,00                  | 5 | 10,4000 | 10,4000 |         |         |
| 4,00                  | 5 | 11,0000 | 11,0000 | 11,0000 |         |
| 1,00                  | 5 |         | 11,2000 | 11,2000 |         |
| 5,00                  | 5 |         | 11,4000 | 11,4000 |         |
| 7,00                  | 5 |         | 11,6000 | 11,6000 | 11,6000 |
| 8,00                  | 5 |         |         | 12,0000 | 12,0000 |
| 9,00                  | 5 |         |         |         | 12,8000 |
| Sig.                  |   | ,085    | ,054    | ,160    | ,075    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
Based on Type III Sum of Squares  
The error term is Mean Square(Error) = ,967.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.  
b. Alpha = ,050.

Pengaruh dosis pemberian klomifen sitrat pada waktu kawin setelah disuntik dua kali terhadap jumlah embrio seperti ditunjukkan oleh hasil pengujian treatment 2, 5 dan 8. Hasil pengujian menunjukkan bahwa klomifen sitrat dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. dan 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. tidak menyebabkan perbedaan jumlah embrio yang nyata. Pemberian klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb juga tidak menyebabkan perbedaan jumlah embrio yang nyata, tetapi memberikan pengaruh yang lebih kuat dibandingkan pasangan pertama. Hal ini berarti jumlah embrio mencit tidak akan berbeda nyata bila dikawinkan setelah dua kali disuntik dengan klomifen sitrat pada dosis 2,5 atau 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb.

Pengaruh dosis pemberian klomifen sitrat pada waktu kawin sehari setelah disuntik dua kali terhadap jumlah embrio seperti ditunjukkan oleh hasil pengujian

treatment 3, 6 dan 9. Hasil pengujian menunjukkan ketiga dosis memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) pada jumlah embrio. Jumlah embrio hasil kawin sehari setelah dua kali disuntik akan berbeda secara nyata bila diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat dosis 0, 2,5 dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb.

Pengaruh waktu kawin pada pemberian klomifen sitrat dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. seperti ditunjukkan oleh hasil pengujian treatment 1, 2 dan 3. Hasil pengujian menunjukkan bahwa waktu kawin sehari setelah disuntik klomifen sitrat dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. sebanyak dua kali dan waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb sebanyak dua kali tidak menyebabkan perbedaan jumlah embrio yang nyata. Waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. sebanyak dua kali dan waktu kawin setelah satu kali disuntik klomifen sitrat dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. juga tidak memberikan pengaruh yang nyata, sedangkan waktu kawin setelah satu kali disuntik klomifen sitrat dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. dan waktu kawin sehari setelah disuntik klomifen sitrat dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. sebanyak dua kali menyebabkan perbedaan rata-rata jumlah embrio yang nyata ( $p < 0,05$ ).

Pengaruh waktu kawin pada pemberian klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. seperti ditunjukkan oleh hasil pengujian treatment 4, 5 dan 6. Hasil pengujian menunjukkan bahwa waktu kawin sehari setelah disuntik klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. dan waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. sebanyak satu kali tidak berbeda nyata. Waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. sebanyak satu kali dan waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat dosis 2,5 sebanyak dua kali juga tidak menyebabkan perbedaan jumlah embrio yang nyata, sedangkan waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat dosis 2,5 sebanyak dua kali dan waktu kawin sehari setelah disuntik klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. menyebabkan perbedaan rata-rata jumlah embrio yang nyata.

Pengaruh waktu kawin pada pemberian klomifen sitrat dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. seperti ditunjukkan oleh hasil pengujian treatment 7, 8 dan 9. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ketiga jenis waktu kawin tidak menyebabkan perbedaan jumlah embrio yang nyata pada. Hal ini berarti jumlah embrio yang dihasilkan akan sama untuk semua jenis waktu kawin bila disuntik dengan klomifen sitrat dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb.



### 5.2.3. Persentase blastokis

Statistik deskriptif variabel persentase blastokis seperti ditunjukkan pada tabel berikut ini.

Tabel 5.20. Statistik deskriptif persentase jumlah blastokis mencit setelah perlakuan dengan klomifen sitrat pada berbagai dosis.

| Descriptive Statistics       |       |         |                |    |
|------------------------------|-------|---------|----------------|----|
| Dependent Variable: PERSBLST |       |         |                |    |
| DOSIS                        | WAKTU | Mean    | Std. Deviation | N  |
| 1.00                         | 1.00  | 96.5200 | 4.7736         | 5  |
|                              | 2.00  | 94.6600 | 7.6862         | 5  |
|                              | 3.00  | 98.3400 | 3.7119         | 5  |
|                              | Total | 96.5067 | 5.4539         | 15 |
| 2.00                         | 1.00  | 67.0600 | 11.5502        | 5  |
|                              | 2.00  | 77.5000 | 12.1895        | 5  |
|                              | 3.00  | 82.5400 | 8.5116         | 5  |
|                              | Total | 75.7000 | 12.0746        | 15 |
| 3.00                         | 1.00  | 81.1200 | 7.1426         | 5  |
|                              | 2.00  | 88.4400 | 4.1374         | 5  |
|                              | 3.00  | 84.5800 | 9.2085         | 5  |
|                              | Total | 84.7133 | 7.2988         | 15 |
| Total                        | 1.00  | 81.5667 | 14.6387        | 15 |
|                              | 2.00  | 86.8667 | 10.8689        | 15 |
|                              | 3.00  | 88.4867 | 10.0806        | 15 |
|                              | Total | 85.6400 | 12.1258        | 45 |

Sebelum dilakukan Analisis terhadap beda rata-rata persentase blastokis mencit setelah diberi perlakuan klomifen sitrat pada berbagai dosis dan berbagai

jumlah pemberian, serta waktu kawin, maka dilakukan uji homogenitas varians dengan menggunakan uji Levene dan uji Kolmogorov-Smirnov untuk menguji normalitas distribusi data jumlah korpus luteum. Hasil uji tersebut tercantum pada Tabel 5.21. dan Tabel 5.22.

Tabel 5.21. Uji Homogenitas Varians Dengan Uji Levene Untuk data Persentase Blastokis

| <b>Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup></b> |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| Dependent Variable: PERSBLST                                    |     |     |      |
| F   | df1 | df2 | Sig. |
| 1.009   | 8   | 36  | .447 |

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+DOSIS+WAKTU+DOSIS \* WAKTU

Tabel 5.22. Uji Normalitas Untuk Data Persentase Blastokis

| <b>One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test</b> |                |  | PERSBLST |
|---|----------------|--|----------|
| N   |                |  | 45       |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup>          | Mean           |  | 85.6400  |
|   | Std. Deviation |  | 12.1258  |
| Most Extreme Differences                  | Absolute       |  | .152     |
|   | Positive       |  | .118     |
|   | Negative       |  | -.152    |
| Kolmogorov-Smirnov Z                      |                |  | 1.016    |
| Asymp. Sig. (2-tailed)                    |                |  | .253     |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Berdasarkan hasil uji tersebut didapatkan bahwa nilai signifikansi hasil uji lebih besar 0,05, hal ini berarti varians data tersebut berasal dari populasi yang

homogen dan berdasarkan hasil uji Kolmogorov-Smirnof menunjukkan bahwa data tersebut berdistribusi normal, sehingga dapat diuji dengan menggunakan ANAVA.

Hasil uji Analisis Varians data jumlah embrio disajikan dalam bentuk tabel rangkuman seperti tercantum pada Tabel 5.23.

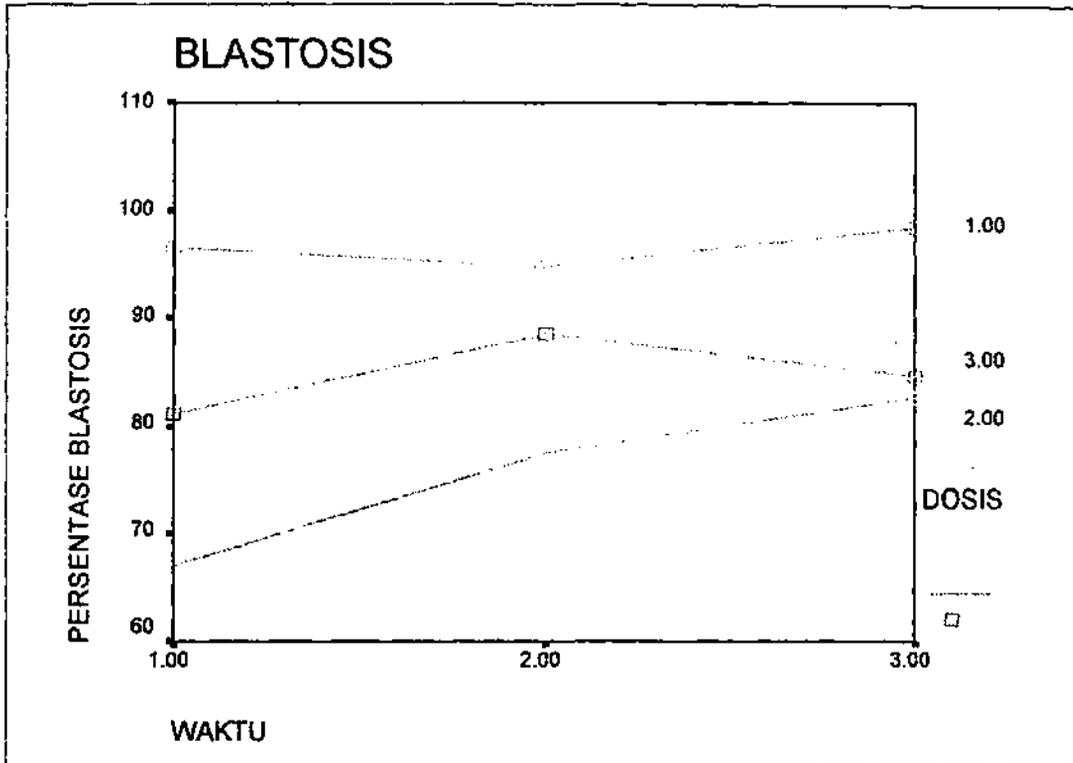
Tabel. 5.23. Rangkuman Analisis Varians Untuk Data Persentase Blastokis

| <b>Tests of Between-Subjects Effects</b> |                         |    |             |          |      |
|--|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Dependent Variable: PERSBLST             |                         |    |             |          |      |
| Source                                   | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
| Corrected Model                          | 4057.524 <sup>a</sup>   | 8  | 507.191     | 7.570    | .000 |
| Intercept                                | 330039.4                | 1  | 330039.4    | 4925.831 | .000 |
| DOSIS                                    | 3266.201                | 2  | 1633.101    | 24.374   | .000 |
| WAKTU                                    | 393.004                 | 2  | 196.502     | 2.933    | .066 |
| DOSIS * WAKTU                            | 398.319                 | 4  | 99.580      | 1.486    | .227 |
| Error                                    | 2412.064                | 36 | 67.002      |          |      |
| Total                                    | 336509.0                | 45 |             |          |      |
| Corrected Total                          | 6469.588                | 44 |             |          |      |

a. R Squared = .627 (Adjusted R Squared = .544)

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa interaksi antara dosis klomifen sitrat dan jumlah pemberian, serta waktu kawin setelah pemberian tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase blastokis mencit.

Berikut ini ditampilkan grafik persentase blastokis yang disebabkan oleh faktor dosis pemberian klomifen sitrat dan jumlah pemberian, serta waktu kawin setelah pemberian perlakuan.



**Gambar 5.8. Plot Profil Persentase Blastokis**

Oleh karena tidak terdapat interaksi yang nyata, maka perlu diuji pengaruh utama masing-masing faktor. Berdasarkan Tabel 5.23 ternyata hanya pengaruh utama faktor dosis yang menunjukkan perbedaan persentase blastokis yang nyata ( $p < 0,05$ ), sedangkan faktor waktu tidak menyebabkan perbedaan persentase blastokis yang nyata. Untuk itu perlu dilakukan uji lanjutan untuk pengaruh utama faktor dosis. Berikut ini adalah hasil uji lanjutan dengan menggunakan uji Duncan.

Hasil uji lanjutan pada faktor dosis menunjukkan terdapat perbedaan persentase blastokis yang bermakna di antara dosis  $0 \mu\text{g/g bb}$  dan  $2,5 \mu\text{g/g bb}$ ,  $0$  dan  $5 \mu\text{g/g bb}$  serta di antara  $2,5$  dan  $5,0 \mu\text{g/g bb}$ .

Tabel 5.24. Hasil uji Duncan faktor dosis

| <b>PERSBLST</b>       |    |         |         |         |
|-----------------------|----|---------|---------|---------|
| Duncan <sup>a,b</sup> |    |         |         |         |
| DOSIS                 | N  | Subset  |         |         |
|                       |    | 1       | 2       | 3       |
| 2,00                  | 15 | 75,7000 |         |         |
| 3,00                  | 15 |         | 84,7133 |         |
| 1,00                  | 15 |         |         | 96,5067 |
| Sig.                  |    | 1,000   | 1,000   | 1,000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
Based on Type III Sum of Squares  
The error term is Mean Square(Error) = 67,002.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.  
b. Alpha = ,05.

Berikut ini adalah hasil uji lanjutan untuk faktor waktu kawin mencit terhadap rata-rata persentase blastokis.

Tabel 5.25. Hasil uji Duncan faktor waktu kawin

| <b>PERSBLST</b>       |    |         |         |
|-----------------------|----|---------|---------|
| Duncan <sup>a,b</sup> |    |         |         |
| WAKTU                 | N  | Subset  |         |
|                       |    | 1       | 2       |
| 1,00                  | 15 | 81,5667 |         |
| 2,00                  | 15 | 86,8667 | 86,8667 |
| 3,00                  | 15 |         | 88,4867 |
| Sig.                  |    | ,085    | ,591    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
Based on Type III Sum of Squares  
The error term is Mean Square(Error) = 67,002.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.  
b. Alpha = ,05.

Hasil uji lanjutan menunjukkan bahwa antara waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat satu kali (W1) dan waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat dua kali (W2) dan antara waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat dua kali (W2) dan waktu kawin setelah sehari disuntik klomifen sitrat dua kali (W3) tidak menyebabkan perbedaan persentase blastokis yang nyata pada  $p < 0,05$ ., tetapi antara waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat satu kali (W1) dan waktu kawin sehari setelah disuntik klomifen sitrat dua kali (W3) menyebabkan perbedaan persentase blastokis yang nyata.

## **BAB 6 PEMBAHASAN**

Sejak tahun 1961 klomifen sitrat telah berhasil digunakan untuk terapi kasus-kasus oligomenorhea maupun amenorhea. (Greenblatt, 1979). Namun keberhasilan klomifen sitrat untuk menginduksi ovulasi tidak disertai dengan peningkatan laju kehamilan, bahkan disertai dengan terjadinya peningkatan aborsi spontan. Beberapa orang peneliti menyatakan bahwa rendahnya laju kehamilan disebabkan oleh rendahnya kualitas embrio (Schmidt et al., 1985 dan Laufer et al., 1983). Klomifen sitrat dapat menghambat pembelahan sel embrio, sehingga bila embrio terdedah oleh klomifen sitrat akan mengalami keterlambatan perkembangan.

Pada penelitian ini ingin diketahui pengaruh klomifen sitrat yang diberikan secara *in vivo* terhadap aktifitas ovarium, keberhasilan fertilisasi sampai kepada perkembangan embrio preimplantasinya. Aktifitas ovarium dilihat dari jumlah korpus luteum, keberhasilan fertilisasi dilihat dari jumlah embrio dan perkembangan embrio diamati dari persentase blastula dari embrio yang diperoleh dari hasil flushing uterus. Berikut ini pembahasan masing-masing variabel.

### **6.1. Korpus Luteum**

Hasil analisis varian terhadap jumlah korpus luteum menyatakan bahwa terdapat interaksi yang nyata antara faktor dosis dan waktu kawin terhadap perbedaan rata-rata jumlah korpus luteum. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah korpus luteum pada mencit yang diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat dipengaruhi oleh dosis pemberian dan waktu kawin mencit.

Pengujian pengaruh sederhana faktor dosis pada waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat dua kali (W2) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah korpus luteum yang bermakna pada setiap peningkatan dosis yang diberikan. Hal ini berarti bahwa setiap peningkatan dosis pemberian klomifen sitrat menyebabkan peningkatan jumlah korpus luteum.

Pemberian klomifen sitrat pada waktu kawin setelah disuntik klomifen sitrat satu kali (W1) tidak memberikan pengaruh yang nyata pada semua tingkat dosis yang diujikan. Hal ini mungkin disebabkan jumlah pemberian klomifen sitrat yang kurang dan tenggang waktu antara pemberian dan waktu kawinnya yang kurang panjang, sehingga pengaruh pemberian klomifen sitrat belum menunjukkan pengaruh yang nyata. Bila dilihat pada pengaruh sederhana faktor waktu kawin pada dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. mendukung hal ini karena pada pemberian dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. dan dikawinkan setelah sekali pemberian menghasilkan jumlah korpus luteum yang paling sedikit dibandingkan dengan dosis yang lain. Menurut Adashi (1984) klomifen sitrat merupakan inhibitor kompetitif inhibitor pada reseptor estrogen ditingkat jaringan hipotalamus, hipofisis dan ovarium, sehingga memberikan efek hambatan pada mekanisme umpan balik negatif dari ovarium menuju ke hipofisis dan hipotalamus. Untuk dapat terjadi peristiwa tersebut memerlukan waktu yang lama, sehingga induksi ovulasi dengan klomifen sitrat pada waktu kawin setelah disuntik sekali tidak efektif untuk menekan mekanisme umpan balik negatif.

Pemberian klomifen sitrat pada waktu kawin sehari setelah dua kali disuntik klomifen sitrat, ternyata pemberian klomifen sitrat dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. menyebabkan jumlah korpus luteum yang paling banyak karena waktu yang diperlukan untuk terjadinya hambatan pada mekanisme umpan balik negatif dapat terpenuhi. Sekalipun dosis

pemberian klomifen sitrat tinggi ( $5,0 \mu\text{g/g}$  bb) tetapi kalau tenggang waktu antara pemberian dan waktu kawin kurang panjang, maka tidak akan memberikan respon yang maksimal.

Menurut Katzung (1998) klomifen sitrat mempunyai waktu paruh yang panjang, hal inilah yang menyebabkan klomifen sitrat dapat memberikan efek persistif pada waktu kawin sehari setelah disuntik dua kali dengan klomifen sitrat (W3).

Berdasarkan hal tersebut, maka untuk memperoleh jumlah korpus luteum yang banyak, maka dosis pemberian klomifen sitrat yang digunakan adalah  $5,0 \mu\text{g/g}$  bb., kemudian mencit dikawinkan setelah disuntik dua kali berturut-turut.

## 6.2. Embrio

Hasil analisis varian terhadap jumlah embrio menyatakan bahwa terdapat interaksi yang nyata antara faktor dosis dan waktu kawin terhadap perbedaan rata-rata jumlah embrio. Hal ini menunjukkan bahwa embrio hasil fertilisasi tergantung pada pengaruh dosis klomifen sitrat yang diberikan dan waktu kawin induknya.

Hasil pengujian pengaruh sederhana faktor dosis pada waktu kawin sehari setelah disuntik dua kali dengan klomifen sitrat (W3) menyebabkan perbedaan jumlah embrio yang nyata pada setiap tingkat dosis yang diujikan dan peningkatan jumlah embrio sejalan dengan peningkatan dosisnya. Hal ini sesuai dengan hasil pengujian pengaruh sederhana faktor dosis pada waktu kawin sehari setelah disuntik dua kali dengan klomifen sitrat (W3) terhadap jumlah korpus luteum.

Pengaruh sederhana faktor dosis terhadap waktu kawin setelah satu kali disuntik dengan klomifen sitrat (W1) tidak menunjukkan perbedaan rata-rata jumlah embrio yang

nyata. Artinya mencit yang dikawinkan setelah sekali disuntik dengan klomifen sitrat, dengan ketiga macam dosis yang diujikan tersebut, tidak akan menyebabkan perbedaan yang nyata pada rata-rata jumlah embrionya. Mungkin tenggang waktu antara pemberian klomifen sitrat dan waktu kawinnya kurang panjang untuk dapat menghambat mekanisme umpan balik negatif.

Pengaruh sederhana faktor dosis terhadap waktu kawin setelah dua kali disuntik dengan klomifen sitrat (W2) menunjukkan kecenderungan peningkatan dosis sejalan dengan pertambahan dosis. Perbedaan rata-rata jumlah embrio yang nyata terdapat antara kelompok pemberian dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb.. Hal ini berarti bahwa bila klomifen sitrat diberikan dua kali kemudian dikawinkan perlu dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. untuk menimbulkan respon positif.

Pengaruh sederhana dosis pemberian klomifen sitrat pada waktu kawin sehari setelah disuntik klomifen sitrat sebanyak dua kali (W3) memberikan respon yang positif karena setiap peningkatan dosis menyebabkan perbedaan jumlah embrio yang berbeda nyata. Hal ini mungkin disebabkan tenggang waktu antara pemberian klomifen sitrat dan waktu kawin yang relatif panjang, sehingga telah terjadi ikatan antara reseptor estrogen dan klomifen sitrat yang berakibat terhambatnya mekanisme umpan balik negatif dari ovarium menuju hipofisis dan hipotalamus.

Hasil pengujian pengaruh sederhana waktu kawin terhadap dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. menunjukkan bahwa semua jenis waktu kawin memberikan pengaruh yang sama pada jumlah embrio. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian klomifen sitrat pada dosis yang tinggi tidak perlu mempertimbangkan waktu kawinnya untuk memperoleh jumlah embrio yang banyak. Selain itu juga menggambarkan bahwa kualitas oosit yang diovulasikan dan

selanjutnya difertilisasi tidak dipengaruhi oleh waktu kawinnya. Jadi untuk memperoleh jumlah embrio yang banyak dengan menggunakan bahan induksi ovulasi klomifen sitrat, maka dosis klomifen sitrat yang paling baik digunakan adalah 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb., kemudian mencit dikawinkan sehari setelah disuntik dua kali berturut-turut.

### 6.3. Blastokis

Hasil analisis varian terhadap rata-rata persentase blastula menyatakan bahwa tidak terdapat interaksi yang nyata antara faktor dosis dan waktu kawin terhadap perbedaan rata-rata persentase blastula, tetapi pengaruh utama faktor dosis pemberian klomifen sitrat menyebabkan perbedaan persentase blastula yang nyata pada tingkat kepercayaan 95%. Hal ini berarti perbedaan rata-rata persentase blastula hanya disebabkan oleh pengaruh faktor dosis pemberian klomifen sitrat. Hasil uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan pada faktor dosis menunjukkan ada perbedaan rata-rata persentase blastula yang nyata antara kelompok dosis 0  $\mu\text{g/g}$  bb. dan kelompok 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb maupun 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. Demikian juga antara kelompok dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. dan 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. Hal ini berarti embriotoksisitas klomifen sitrat semakin meningkat sejalan dengan peningkatan dosis.

Penggunaan klomifen sitrat sebagai bahan induksi ovulasi ternyata memberikan pengaruh yang nyata pada penurunan persentase blastula. Penurunan persentase blastula ini disebabkan karena terjadi hambatan perkembangan embrio. Secara normal embrio telah mencapai tahap blastula pada umur kebuntingan tiga hari, adanya bahan-bahan embriotoksik dapat menyebabkan hambatan perkembangan embrio. Schmidt (1985) dan

Laufer (1983) menyatakan bahwa klomifen sitrat dapat menghambat pembelahan sel embrio secara *in vitro*. Efek embriotoksitas klomifen sitrat tersebut masih muncul walaupun setelah tiga hari penambahan dalam medium perkembangannya. Penurunan persentase blastula pada penelitian ini juga disebabkan karena pengaruh pemberian klomifen sitrat, tetapi pemberian klomifen sitrat secara *in vivo*. Walaupun pemberian klomifen sitrat sebelum ovulasi, ternyata masih dapat memberikan pengaruh pada perkembangan embrio. Hal ini disebabkan oleh waktu paruh klomifen sitrat yang relatif lama (Katzung, 1998). Pada penelitian ini dijumpai embrio pada tahap perkembangan morula, delapan sel dan embrio mati pada umur kebuntingan tiga hari. Hambatan perkembangan inilah yang menyebabkan rendahnya laju kehamilan pada wanita yang diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat.

Bila dilakukan perhitungan rasio jumlah korpus luteum terhadap jumlah blastokis yang ditemukan diperoleh hasil bahwa pada kelompok kontrol mencapai 0,9, kelompok yang disuntik dengan klomifen sitrat dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb mencapai 0,7 dan kelompok yang disuntik klomifen sitrat dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. mencapai 0,8 hal ini menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah oosit yang diovulasikan hingga mencapai tahap blastula. Hal ini mungkin diakibatkan sampel yang digunakan untuk penelitian memiliki siklus estrus yang normal. Penggunaan klomifen sitrat akan lebih bermanfaat bila diberikan pada keadaan siklus estrus yang tidak normal atau anovulasi. Penggunaan klomifen sitrat pada keadaan siklus estrus yang normal mungkin akan mengakibatkan efek-efek samping yang justru merugikan. Penurunan persentase blastokis yang ditemukan pada kelompok yang disuntik dengan klomifen sitrat pada dosis 2,5  $\mu\text{g/g}$  bb. lebih rendah dari kelompok yang disuntik dengan klomifen sitrat dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb, mungkin diakibatkan oleh perbedaan

siklus antara masing-masing sampel pada saat disuntik klomifen sitrat atau mungkin diakibatkan oleh penggunaan klomifen sitrat untuk induksi ovulasi pada mencit dengan siklus estrus normal.

## **BAB 7**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **7.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian mengenai perkembangan embrio mencit setelah perlakuan induksi ovulasi dengan klomifen sitrat yang diberikan dalam beberapa dosis dan dikombinasi dengan waktu kawin setelah pemberian perlakuan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Mencit yang diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. kemudian dikawinkan sehari setelah disuntik berturut-turut menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah korpus luteum.
2. Mencit yang diinduksi ovulasi dengan klomifen sitrat dosis 5,0  $\mu\text{g/g}$  bb. kemudian dikawinkan sehari setelah disuntik dua kali berturut-turut menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah embrio.
3. Persentase embrio mencit yang mencapai tahap blastokis menurun sejalan dengan peningkatan dosis pemberian klomifen sitrat.

#### **7.2. Saran**

Penggunaan klomifen sitrat akan lebih bermanfaat bila digunakan untuk induksi ovulasi dengan indikasi siklus menstruasi tidak normal atau anovulasi, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian dengan hewan coba yang mengalami gangguan siklus menstruasi atau mengalami kegagalan ovulasi. Selain itu perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh klomifen sitrat pada perkembangan oosit dan viabilitas embrio hasil fertilisasi oosit yang diovulasikan karena pengaruh klomifen sitrat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adashi Y. Elli. 1984. Clomiphene Citrate: Mechanism(s) and Site(s) of Action a Hypotesis Revisited. *Fertility and Sterility* 42;3:331-344.
- Agarwal K. Sanjay, Richard P. Buyalos. Clomiphene Citrate With Intrauterine Insemination: Is It Effective Therapy in Women Above The Age of 35 Years?. *Fertility and Sterility* 65(4):759-761.
- Arie Aydin, William Byrd, Karen Bradshaw, William H. Kutteh, Paul Marshburn, Bruce R. Carr. 1994. Evaluation of Clomiphene Citrate and Human Chorionic Gonadotropin Treatment: a Prospective, Randomize, Crossover Study During Intrauterine Insemination Cycles. *Fertility And Sterility* 61(2):314-318
- Austin C.R. and R.V. Shorts. 1985. *Embryonic and Fetal Development*. Cambridge University Press.
- Birkenfeld A., Mootz U. and Beier H.M. 1985. The Effect of Clomiphene Citrate on Blastocyst Development and Implantation in The Rabbit. *Cell Tissue Res.* 241(3):495-503.
- Brass M., J.W. Lens, M.H. Piederet, P.M. Rijnders, M. Verveld and G.H. Zeilmaker. 1996. IVF Lab; *Laboratory Aspect of In Vitro Fertilization*, N.V. Organon..
- Cumming A.M., Pereault S.D. and Harris S.T.. Validation of Protocols for Assesng Early Pregnancy Failure in The Rat: Clomiphene Citrate. *Fundam-Appl-Toxicol*: Apr.:16(3):506-16.
- Dziadek Marie. 1993. Preovulatory Administration of Clomiphene Citrate to Mice Cause Fetal Growth Retardation and Neural Tube Deffect (Exencephaly) by an Indirect Maternal Effect. *Teratology* 47:263-273. .
- Erenus Mithat, Christo Zouves, Pathma, Rajamahendran, Sussane Leung, Mergo Fluker, Victor Gomel. 1991. The Effect of Embryo Quality on Subsequent pregnancy Rates After in Vitro Fertilization. *Fertility abd Sterility*. 56(4):707-710.
- Gasperesz Vincent. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. CV. Armico Bandung.
- Gast J. Michael. 1995. Editor's Formulation : The Fronyiers of Ovulation Induction. *Am. J. Obstet Gynaecol* 172(2):707-710.
- Gill L. John. 1978. *Design And Analysis of Experiment in The Animal and Medical Sciences*. Vol. 1. The Iowa State University Press.

- Gordon Ian. 1994. *Laboratory Production of Cattle Embryos*. Cambridge University Press
- Greenblatt M., Ellen, James S. Meriano, Robert F. Casper. 1995. Type of Stimulation Protocols Affect Oocyte Maturity, Fertilization Rate, and Cleavage Rate After Intracytoplasmic Sperm Injection. *Fertility and Sterility* 64(3): 557-563.
- Hill A. George, Freeman Mellanie, Maria Christina Bastias, B. Jane Rogers, Carl M. Herbert, Kevin G. Osteen, Anne Colston Wentz. 1989. The Influence of Oocyte Maturity and Embryo Quality on Pregnancy Rate in a Program for In Vitro Fertilization-Embryo Transfer. *Fertility and Sterility*. 52(5): 801-803.
- Isacs D. John, Jr., Stephen R. Lincoln, Bryan D. Cowan. 1997. Wxtended Clomiphene Citrate (CC) and Prednisone for The Treatment of Chorionic Anovulation Resistant to CC Alone. *Fertility and Sterility* 67(4):641-643.
- Katzung G. Bertram . 1998. *Basic & Clinical Pharmacology* 7<sup>th</sup> Ed. Prentice Hall, Upper Saddle River. New Jersey.
- Kaufman H. Mathew. 1992. *The Atlas of Maouse Development*. Academic Press Harcourt Brace Jovanovich, Publishers London.
- Kerin F. John, James H. Liu , George Phillipou and S.S.C. Yen. 1985. Evidence for a Hypothalamic Site of Action of Clomiphene Citrate in Women. *Journal of Clinical Endocrinologyand Metabolism*. 61(2):265-8.
- Laufer N. Pratt B.M. Dechenery A.H. , Naftolin F., Merino M. and Markert C.L. 1983. The In Vivo and In Vitro Effects of Clomiphene Citrate on Ovulation, Fertilization and Development of Cultured Mouse Oocytes. *Am. J. Obstet Gynaecol*. Nov. 15;147(6):633-9.
- Massai Maria Rebeca, Dominique de Ziegler, Valerie Lesobre, Christine Bergeron, Rene Frydman and Phillipe Bouchard. 1993. Clomiphene Citrate Affect Cervical Mucus and Endometrial Morphology Independently of The Changes in Plasma Hormone Levels Induced by Multiple Follicular Recruitment. *Fertility and Sterility*. 59(6):1179-1186.
- de Moura Marcos Dias. Rui Alberto Ferriani, Marcos Felipe Silva de Sa. 1992. Effects of Clomiphene Citrate on Pitutary Luteinizing Hormone and Follicle Stimulating Hormone Release in Women Befeore and After Treatment With Ethinyl Estradiol. *Fertility and Sterility* 58(3):504-507.
- Natarjan K. Puthugramam and Robert B. Greenblatt. 1979. *Induction of Ovulation*. Lea& Febiger Philadelphia.
- Pache D. Thierry, Frank H. de Jong, Wim C. Hop and Bart C. J.M. Fauser. 1993. Association Between Ovarian Changes Assesed by Transvaginal Sonography and

Clinical Endocrine Sign of The Polycystic Ovary Syndrome. *Fertility and Sterility* 59(3): 544-549.

Roumen J.M.E. Frans, Wim H. Doesburg and Rune Roland. 1984. Treatment of Infertile Women With A Deficient Post Coital Test With Two Antiestrogen: Clomiphene and Tamoxifen. *Fertility and Sterility* 41(2):273-243.

Rugh R. 1986. *The Mouse: Its Reproductyion and Development*. Burgess Publishing Company. Mineapolis.

Suginami Hiroshi, Hiroyuki Kitagawa, Norifumi Nakahashi, Kohji Yano and Keiichi Matsubara. 1993. A Clomiphene Citrate And Tamoxifen Citrate Combination Therapy a Novel Therapy for Ovulation Induction. *Fertility and Sterility* 59(5):976-979.

Taylor P. 1986. *Practical Teratology*. Academic Press London.

Thompson A. Lisa, Christopher L.R. Barrat, Simon J. Thornton, Anthony E. Bolton, Ian D. Cooke. 1993. The Effects of Clomiphene Citrate and Cyclofenil on Cervical Mucus Volume and Receptivity Over The Perioovulatory Period. *Fertility and Sterility* 59(1):125-129.

Schardein J.L., 1985. *Chemicaly Induced Birth Defect*. Marcel Dekker. Inc. New York.

Schmidt G.E. Sites C., Mansour R. , Friedman C.I. and Kim M.H., 1985. Embryo Toxicity of Clomiphene Citrate on Mouse Embryos Fertilised In Vitro and In Vivo. *Am. J. Obstet Gynaecol.* 154(4):727-736.

Schulling G.A.H. Moes and T.tR. Koiter. 1986. Effect of Clomiphene Citrate on The In Vitro Release of LH and FSH by Pituitary Gland of The Long Term Ovariectomized Rat Pretreated with LRH or with LRH and Oestradiol Benzoate. *Acta Endocrinologica* (Copenh) 113:35-41.

Shimizu Ikuya, Naoki Terakawa, Toshihiro Aono, Osamu Tanizawa and Keishi Matsumoto. 1986. Clomiphene Citrate Induces Pituitary GnRH Receptors in Ovariectomized Rats: Its Possible Role In Induction Ovulation. *Acta Endocrinologica* 111:179-184.

Sudjana. 1984. *Metode Statistik* Ed. 3. Tarsito Bandung.

Taguchi Ozamu and Nishizuka Yasuaki. 1985. Reproductive Tract Abnormalities in Female Mice Treated With Tamoxifen. *Am.J. Obstet Gynaecol* 34(1):56-66.

Venn A., Lumley J. 1984. Clomiphene Citrate and Pregnancy Outcome. *Aust. Obstet. Gynaecol.* 34(1):56-66.

Yamamura Hideki, Inamoto Masahiro. and Fukui Kayoko. 1984. Delay in Embryonic Development, Uterine Epithelial Changes and Implantation Due to Maternal Treatment During Preimplantation Period. *Cong. Anom.* 24:339-352. .

## Lampiran 1 Data Hasil Pengamatan

| NO  | Individu | DOSIS<br>( $\mu\text{g/g}$ .bb) | WAKTU | JUMLAH           |        |          | PERSENTASE |
|-----|----------|---------------------------------|-------|------------------|--------|----------|------------|
|     |          |                                 |       | KORPUS<br>LUTEUM | EMBRIO | BLASTULA | BLASTULA   |
| 1.  | 1        | 0                               | 1     | 10               | 10     | 10       | 100        |
| 2.  | 2        | 0                               | 1     | 12               | 12     | 11       | 92         |
| 3.  | 3        | 0                               | 1     | 11               | 11     | 10       | 91         |
| 4.  | 4        | 0                               | 1     | 12               | 12     | 12       | 100        |
| 5.  | 5        | 0                               | 1     | 11               | 11     | 11       | 100        |
| 6.  | 1        | 0                               | 2     | 9                | 9      | 9        | 100        |
| 7.  | 2        | 0                               | 2     | 11               | 10     | 10       | 100        |
| 8.  | 3        | 0                               | 2     | 10               | 10     | 9        | 90         |
| 9.  | 4        | 0                               | 2     | 12               | 12     | 10       | 83         |
| 10. | 5        | 0                               | 2     | 11               | 10     | 10       | 100        |
| 11. | 1        | 0                               | 3     | 10               | 10     | 10       | 100        |
| 12. | 2        | 0                               | 3     | 12               | 12     | 11       | 92         |
| 13. | 3        | 0                               | 3     | 9                | 9      | 9        | 100        |
| 14. | 4        | 0                               | 3     | 10               | 10     | 10       | 100        |
| 15. | 5        | 0                               | 3     | 9                | 8      | 8        | 100        |
| 16. | 1        | 2,5                             | 1     | 10               | 10     | 5        | 50         |
| 17. | 2        | 2,5                             | 1     | 10               | 10     | 8        | 80         |
| 18. | 3        | 2,5                             | 1     | 11               | 11     | 7        | 64         |
| 19. | 4        | 2,5                             | 1     | 13               | 12     | 9        | 75         |
| 20. | 5        | 2,5                             | 1     | 12               | 12     | 8        | 67         |
| 21. | 1        | 2,5                             | 2     | 13               | 11     | 10       | 91         |
| 22. | 2        | 2,5                             | 2     | 12               | 12     | 10       | 83         |
| 23. | 3        | 2,5                             | 2     | 12               | 12     | 7        | 58         |
| 24. | 4        | 2,5                             | 2     | 13               | 12     | 9        | 75         |
| 25. | 5        | 2,5                             | 2     | 12               | 10     | 8        | 80         |
| 26. | 1        | 2,5                             | 3     | 10               | 10     | 9        | 90         |
| 27. | 2        | 2,5                             | 3     | 12               | 10     | 7        | 70         |
| 28. | 3        | 2,5                             | 3     | 11               | 11     | 9        | 82         |
| 29. | 4        | 2,5                             | 3     | 11               | 11     | 10       | 91         |
| 30. | 5        | 2,5                             | 3     | 10               | 10     | 8        | 80         |
| 31. | 1        | 5,0                             | 1     | 12               | 12     | 10       | 83         |
| 32. | 2        | 5,0                             | 1     | 12               | 12     | 9        | 75         |
| 33. | 3        | 5,0                             | 1     | 12               | 10     | 9        | 90         |
| 34. | 4        | 5,0                             | 1     | 12               | 11     | 8        | 73         |
| 35. | 5        | 5,0                             | 1     | 13               | 13     | 11       | 85         |
| 36. | 1        | 5,0                             | 2     | 13               | 12     | 10       | 83         |
| 37. | 2        | 5,0                             | 2     | 13               | 13     | 11       | 85         |
| 38. | 3        | 5,0                             | 2     | 12               | 12     | 11       | 92         |
| 39. | 4        | 5,0                             | 2     | 13               | 11     | 10       | 91         |
| 40. | 5        | 5,0                             | 2     | 12               | 12     | 11       | 92         |
| 41. | 1        | 5,0                             | 3     | 13               | 13     | 11       | 85         |
| 42. | 2        | 5,0                             | 3     | 14               | 12     | 11       | 92         |
| 43. | 3        | 5,0                             | 3     | 13               | 13     | 9        | 69         |
| 44. | 4        | 5,0                             | 3     | 14               | 14     | 12       | 86         |
| 45. | 5        | 5,0                             | 3     | 12               | 12     | 11       | 92         |

**LAMPIRAN 2**

**ANALISIS STATISTIK UNTUK DATA**

**JUMLAH KORPUS LUTEUM**

# ariate Analysis of Variance

## veen-Subjects Factors

|     |      | N  |
|-----|------|----|
| SIS | 1.00 | 15 |
|     | 2.00 | 15 |
|     | 3.00 | 15 |
| KTU | 1.00 | 15 |
|     | 2.00 | 15 |
|     | 3.00 | 15 |

## Descriptive Statistics

ndent Variable: CL

| SIS   | WAKTU | Mean    | Std. Deviation | N  |
|-------|-------|---------|----------------|----|
| 1     | 1.00  | 11.2000 | .8367          | 5  |
|       | 2.00  | 10.6000 | 1.1402         | 5  |
|       | 3.00  | 10.0000 | 1.2247         | 5  |
|       | Total | 10.6000 | 1.1212         | 15 |
| 2     | 1.00  | 11.2000 | 1.3038         | 5  |
|       | 2.00  | 12.4000 | .5477          | 5  |
|       | 3.00  | 10.8000 | .8367          | 5  |
|       | Total | 11.4667 | 1.1255         | 15 |
| 3     | 1.00  | 12.2000 | .4472          | 5  |
|       | 2.00  | 12.6000 | .5477          | 5  |
|       | 3.00  | 13.2000 | .8367          | 5  |
|       | Total | 12.6667 | .7237          | 15 |
| Total | 1.00  | 11.5333 | .9904          | 15 |
|       | 2.00  | 11.8667 | 1.1872         | 15 |
|       | 3.00  | 11.3333 | 1.6762         | 15 |
|       | Total | 11.5778 | 1.3054         | 45 |

## Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

ndent Variable: CL

| F     | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1.086 | 8   | 36  | .395 |

the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

Design: Intercept+DOSIS+WAKTU+DOSIS \* WAKTU

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: CL

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 45.378 <sup>a</sup>     | 8  | 5.672       | 6.899    | .000 |
| Intercept       | 6032.022                | 1  | 6032.022    | 7336.243 | .000 |
| DOSIS           | 32.311                  | 2  | 16.156      | 19.649   | .000 |
| WAKTU           | 2.178                   | 2  | 1.089       | 1.324    | .279 |
| DOSIS * WAKTU   | 10.889                  | 4  | 2.722       | 3.311    | .021 |
| Error           | 29.600                  | 36 | .822        |          |      |
| Total           | 6107.000                | 45 |             |          |      |
| Corrected Total | 74.978                  | 44 |             |          |      |

a. R Squared = .605 (Adjusted R Squared = .517)

**Estimated Marginal Means**

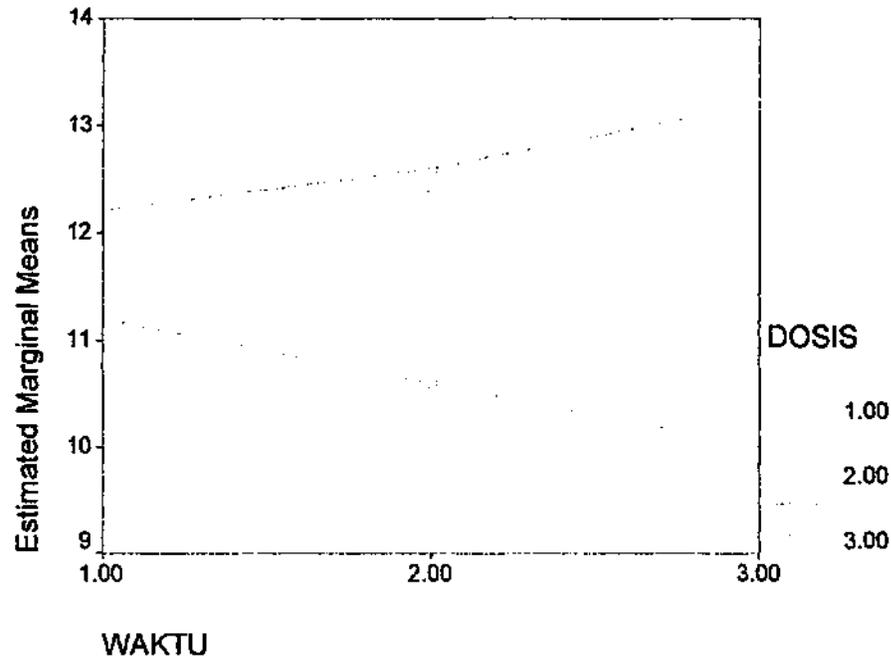
Grand Mean

Dependent Variable: CL

| Mean   | Std. Error | 95% Confidence Interval |             |
|--------|------------|-------------------------|-------------|
|        |            | Lower Bound             | Upper Bound |
| 11.578 | .135       | 11.304                  | 11.852      |

**Profile Plots**

**Estimated Marginal Means of CL**



## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

|                                  |                | CL      |
|----------------------------------|----------------|---------|
|                                  |                | 45      |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | 11.5778 |
|                                  | Std. Deviation | 1.3054  |
| Most Extreme Differences         | Absolute       | .227    |
|                                  | Positive       | .131    |
|                                  | Negative       | -.227   |
| Kolmogorov-Smirnov Z             |                | 1.522   |
| Asymp. Sig. (2-tailed)           |                | .020    |

Test distribution is Normal.

Calculated from data.

# Appropriate Analysis of Variance

## Between-Subjects Factors

|           | N |
|-----------|---|
| TMEN 1.00 | 5 |
| 2.00      | 5 |
| 3.00      | 5 |
| 4.00      | 5 |
| 5.00      | 5 |
| 6.00      | 5 |
| 7.00      | 5 |
| 8.00      | 5 |
| 9.00      | 5 |

## Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: CL

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|-------|------|
| Corrected Model | 45.378 <sup>a</sup>     | 8  | 5.672       | 6.899 | .000 |
| Corrected Total | 6032.022                | 44 |             |       |      |
| TMEN            | 45.378                  | 8  | 5.672       | 6.899 | .000 |
| Error           | 29.600                  | 36 | .822        |       |      |
| Total           | 6107.000                | 45 |             |       |      |
| Corrected Total | 74.978                  | 44 |             |       |      |

R Squared = .605 (Adjusted R Squared = .517)

## Post Hoc Tests

### TMEN

## Homogeneous Subsets

CL

4,b

| GEMEN | N | Subset  |         |         |
|-------|---|---------|---------|---------|
|       |   | 1       | 2       | 3       |
|       | 5 | 10.0000 |         |         |
|       | 5 | 10.6000 |         |         |
|       | 5 | 10.8000 |         |         |
|       | 5 | 11.2000 | 11.2000 |         |
|       | 5 | 11.2000 | 11.2000 |         |
|       | 5 |         | 12.2000 | 12.2000 |
|       | 5 |         | 12.4000 | 12.4000 |
|       | 5 |         |         | 12.6000 |
|       | 5 |         |         | 13.2000 |
|       |   | .068    | .062    | .119    |

or groups in homogeneous subsets are displayed.

n Type III Sum of Squares

r term is Mean Square(Error) = .822.

es Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ha = .05.

**LAMPIRAN 3**  
**ANALISIS STATISTIK UNTUK DATA**  
**JUMLAH EMBRIO**

# ariate Analysis of Variance

## ween-Subjects Factors

|       |      | N  |
|-------|------|----|
| SIS   | 1.00 | 15 |
|       | 2.00 | 15 |
|       | 3.00 | 15 |
| WAKTU | 1.00 | 15 |
|       | 2.00 | 15 |
|       | 3.00 | 15 |

## Descriptive Statistics

endent Variable: EMBRIO

| SIS   | WAKTU | Mean    | Std. Deviation | N  |
|-------|-------|---------|----------------|----|
| 1.00  | 1.00  | 11.2000 | .8367          | 5  |
|       | 2.00  | 10.2000 | 1.0954         | 5  |
|       | 3.00  | 9.8000  | 1.4832         | 5  |
|       | Total | 10.4000 | 1.2421         | 15 |
| 2.00  | 1.00  | 11.0000 | 1.0000         | 5  |
|       | 2.00  | 11.4000 | .8944          | 5  |
|       | 3.00  | 10.4000 | .5477          | 5  |
|       | Total | 10.9333 | .8837          | 15 |
| 3.00  | 1.00  | 11.6000 | 1.1402         | 5  |
|       | 2.00  | 12.0000 | .7071          | 5  |
|       | 3.00  | 12.8000 | .8367          | 5  |
|       | Total | 12.1333 | .9904          | 15 |
| Total | 1.00  | 11.2667 | .9612          | 15 |
|       | 2.00  | 11.2000 | 1.1464         | 15 |
|       | 3.00  | 11.0000 | 1.6475         | 15 |
|       | Total | 11.1556 | 1.2605         | 45 |

## Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

endent Variable: EMBRIO

| F    | df1 | df2 | Sig. |
|------|-----|-----|------|
| .618 | 8   | 36  | .757 |

the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

Design: Intercept+DOSIS+WAKTU+DOSIS \* WAKTU

**Tests of Between-Subjects Effects**

endent Variable: EMBRIO

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 35.111 <sup>a</sup>     | 8  | 4.389       | 4.540    | .001 |
| Corrected Total | 5600.089                | 45 |             |          |      |
| Intercept       | 5600.089                | 1  | 5600.089    | 5793.195 | .000 |
| DOSIS           | 23.644                  | 2  | 11.822      | 12.230   | .000 |
| WAKTU           | .578                    | 2  | .289        | .299     | .743 |
| DOSIS * WAKTU   | 10.889                  | 4  | 2.722       | 2.816    | .039 |
| Error           | 34.800                  | 36 | .967        |          |      |
| Total           | 5670.000                | 45 |             |          |      |
| Corrected Total | 69.911                  | 44 |             |          |      |

R Squared = .502 (Adjusted R Squared = .392)

**Estimated Marginal Means**

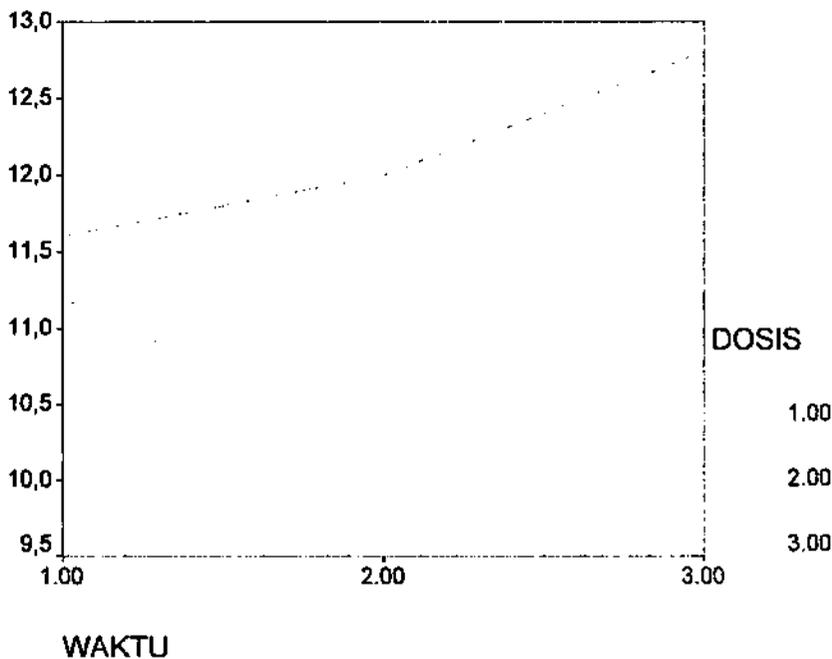
**Grand Mean**

endent Variable: EMBRIO

| Mean  | Std. Error | 95% Confidence Interval |             |
|-------|------------|-------------------------|-------------|
|       |            | Lower Bound             | Upper Bound |
| 11.56 | .147       | 10.858                  | 11.453      |

**Plots**

**Estimated Marginal Means of EMBRIO**



## Tests

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

|                                       |                | EMBRIO  |
|---------------------------------------|----------------|---------|
|                                       |                | 45      |
| Statistical Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | 11.1556 |
|                                       | Std. Deviation | 1.2605  |
| Extreme Differences                   | Absolute       | .215    |
|                                       | Positive       | .176    |
|                                       | Negative       | -.215   |
| Kolmogorov-Smirnov Z                  |                | 1.444   |
| p. Sig. (2-tailed)                    |                | .031    |

Test distribution is Normal.

a. Calculated from data.

# iate Analysis of Variance

## ween-Subjects Factors

|           | N |
|-----------|---|
| TMEN 1.00 | 5 |
| 2.00      | 5 |
| 3.00      | 5 |
| 4.00      | 5 |
| 5.00      | 5 |
| 6.00      | 5 |
| 7.00      | 5 |
| 8.00      | 5 |
| 9.00      | 5 |

## Tests of Between-Subjects Effects

endent Variable: EMBRIO

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 35.111 <sup>a</sup>     | 8  | 4.389       | 4.540    | .001 |
| Corrected Total | 5600.089                | 44 |             |          |      |
| EMBRIO          | 5600.089                | 1  | 5600.089    | 5793.195 | .000 |
| TMEN            | 35.111                  | 8  | 4.389       | 4.540    | .001 |
| Error           | 34.800                  | 36 | .967        |          |      |
| Total           | 5670.000                | 45 |             |          |      |
| Corrected Total | 69.911                  | 44 |             |          |      |

Squared = .502 (Adjusted R Squared = .392)

## Hoc Tests

TMEN

## ogeneous Subsets

## EMBRIO

a,b

| KATEGORI | N | Subset  |         |         |         |
|----------|---|---------|---------|---------|---------|
|          |   | 1       | 2       | 3       | 4       |
|          | 5 | 9.8000  |         |         |         |
|          | 5 | 10.2000 | 10.2000 |         |         |
|          | 5 | 10.4000 | 10.4000 |         |         |
|          | 5 | 11.0000 | 11.0000 | 11.0000 |         |
|          | 5 |         | 11.2000 | 11.2000 |         |
|          | 5 |         | 11.4000 | 11.4000 |         |
|          | 5 |         | 11.6000 | 11.6000 | 11.6000 |
|          | 5 |         |         | 12.0000 | 12.0000 |
|          | 5 |         |         |         | 12.8000 |
|          |   | .085    | .054    | .160    | .075    |

for groups in homogeneous subsets are displayed.

on Type III Sum of Squares

or term is Mean Square(Error) = .967.

ses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

lpha = .05.

**LAMPIRAN 4**  
**ANALISIS STATISTIK UNTUK DATA**  
**PERSENTASE BLASTULA**



# ivariate Analysis of Variance

## Between-Subjects Factors

|    |      | N  |
|----|------|----|
| S  | 1.00 | 15 |
|    | 2.00 | 15 |
|    | 3.00 | 15 |
| TU | 1.00 | 15 |
|    | 2.00 | 15 |
|    | 3.00 | 15 |

## Descriptive Statistics

Dependent Variable: PERSBLST

| S      | WAKTU | Mean    | Std. Deviation | N  |
|--------|-------|---------|----------------|----|
| S      | 1.00  | 96.5200 | 4.7736         | 5  |
|        | 2.00  | 94.6600 | 7.6862         | 5  |
|        | 3.00  | 98.3400 | 3.7119         | 5  |
|        | Total | 96.5067 | 5.4539         | 15 |
| TU     | 1.00  | 67.0600 | 11.5502        | 5  |
|        | 2.00  | 77.5000 | 12.1895        | 5  |
|        | 3.00  | 82.5400 | 8.5116         | 5  |
|        | Total | 75.7000 | 12.0746        | 15 |
| S * TU | 1.00  | 81.1200 | 7.1426         | 5  |
|        | 2.00  | 88.4400 | 4.1374         | 5  |
|        | 3.00  | 84.5800 | 9.2085         | 5  |
|        | Total | 84.7133 | 7.2988         | 15 |
| Total  | 1.00  | 81.5667 | 14.6387        | 15 |
|        | 2.00  | 86.8667 | 10.8689        | 15 |
|        | 3.00  | 88.4867 | 10.0806        | 15 |
|        | Total | 85.6400 | 12.1258        | 45 |

## Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: PERSBLST

| F     | df1 | df2 | Sig. |
|-------|-----|-----|------|
| 1.009 | 8   | 36  | .447 |

a. The null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

Design: Intercept+DOSIS+WAKTU+DOSIS \* WAKTU

**Tests of Between-Subjects Effects**

dent Variable: PERSBLST

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model | 4057.524 <sup>a</sup>   | 8  | 507.191     | 7.570  | .000 |
| Corrected Total | 330039.43               | 45 |             |        |      |
| Concept         | 3266.201                | 1  | 3266.201    | 49.531 | .000 |
| S               | 393.004                 | 2  | 196.502     | 2.933  | .066 |
| TU              | 398.319                 | 2  | 199.159     | 2.987  | .066 |
| S * WAKTU       | 2412.064                | 4  | 603.016     | 9.045  | .000 |
| Corrected Total | 336509.02               | 44 |             |        |      |
| Corrected Total | 6469.588                | 44 |             |        |      |

Squared = .627 (Adjusted R Squared = .544)

**Estimated Marginal Means**

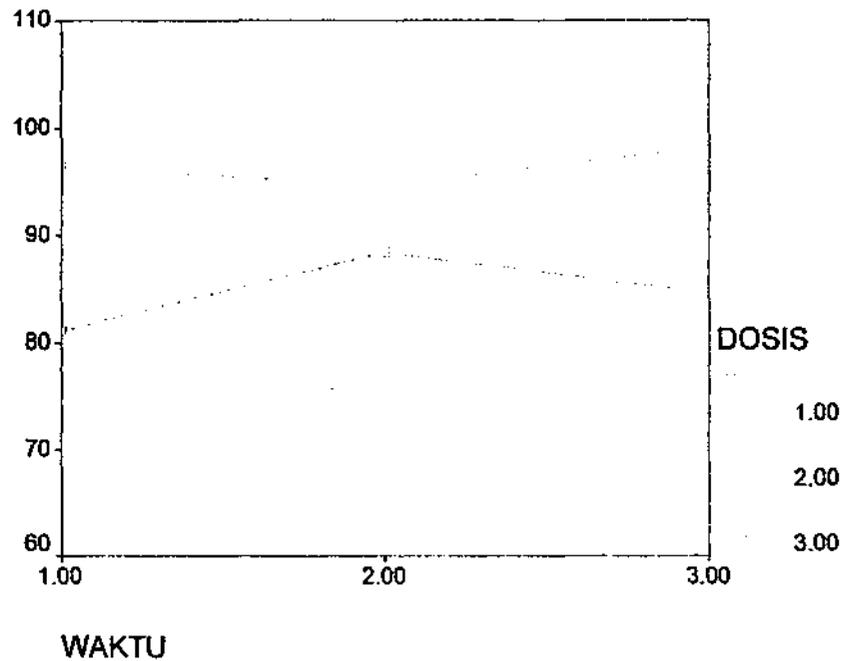
**Grand Mean**

dent Variable: PERSBLST

| Mean   | Std. Error | 95% Confidence Interval |             |
|--------|------------|-------------------------|-------------|
|        |            | Lower Bound             | Upper Bound |
| 85.640 | 1.220      | 83.165                  | 88.115      |

**Plots**

**Estimated Marginal Means of PERSBLST**



# Tests

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

|                              |                | PERSBLS<br>T |
|------------------------------|----------------|--------------|
|                              |                | 45           |
| al Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | 85.6400      |
|                              | Std. Deviation | 12.1258      |
| Extreme<br>ences             | Absolute       | .152         |
|                              | Positive       | .118         |
|                              | Negative       | -.152        |
| ogorov-Smirnov Z             |                | 1.016        |
| p. Sig. (2-tailed)           |                | .253         |

est distribution is Normal.

alculated from data.

# Analysis of Variance

## Between-Subjects Factors

|           | N |
|-----------|---|
| TMEN 1.00 | 5 |
| 2.00      | 5 |
| 3.00      | 5 |
| 4.00      | 5 |
| 5.00      | 5 |
| 6.00      | 5 |
| 7.00      | 5 |
| 8.00      | 5 |
| 9.00      | 5 |

## Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PERSBLST

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|-------|------|
| Corrected Model | 4057.524 <sup>a</sup>   | 8  | 507.191     | 7.570 | .000 |
| Corrected Total | 330039.43               | 44 |             |       |      |
| TMEN            | 4057.524                | 8  | 507.190     | 7.570 | .000 |
| Error           | 2412.064                | 36 | 67.002      |       |      |
| Total           | 336509.02               | 45 |             |       |      |
| Corrected Total | 6469.588                | 44 |             |       |      |

R Squared = .627 (Adjusted R Squared = .544)

## Post Hoc Tests

### TMEN

## Homogeneous Subsets

**PERSBLST**

n<sub>a,b</sub>

| KATEGORI | N | Subset  |         |         |         |
|----------|---|---------|---------|---------|---------|
|          |   | 1       | 2       | 3       | 4       |
|          | 5 | 67.0800 |         |         |         |
|          | 5 | 77.5000 | 77.5000 |         |         |
|          | 5 |         | 81.1200 |         |         |
|          | 5 |         | 82.5400 |         |         |
|          | 5 |         | 84.5800 | 84.5800 |         |
|          | 5 |         | 88.4400 | 88.4400 | 88.4400 |
|          | 5 |         |         | 94.6600 | 94.6600 |
|          | 5 |         |         |         | 96.5200 |
|          | 5 |         |         |         | 98.3400 |
|          |   | .051    | .065    | .073    | .088    |

for groups in homogeneous subsets are displayed.

on Type III Sum of Squares

or term is Mean Square(Error) = 67.002.

ses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

lpha = .05.