

**PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Allium sativum*,
Curcuma mangga, DAN *Acorus callamus* TERHADAP PROLIFERASI
EPITEL VAGINA DAN LAMA FASE ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

**Oleh:
FITRIA NURUL AZIZAH
NIM. 16620130**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

HALAMAN PERSETUJUAN
PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN *Acorus callamus*
TERHADAP PROLIFERASI EPITEL VAGINA DAN LAMA FASE
ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*)

SKRIPSI

Oleh:
FITRIA NURUL AZIZAH
NIM. 16620130

Telah Diperiksa Dan Disetujui Untuk Diuji
Tanggal :21 Juni 2021

Pembimbing I



Dr.drh. Hj. Bayyinatul M, M.Si
NIP. 19710919200003 2 001

Pembimbing II



Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP.19860512201903 1 002



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

Dr. Endang Srdi Savitri, M. P.
NIP. 19701018200312 2 002



Dipindai dengan CamScanner

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN *Acorus callamus* TERHADAP PROLIFERASI EPITEL VAGINA DAN LAMA FASE ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*)

SKRIPSI

Oleh:
FITRIA NURUL AZIZAH
NIM. 16620130

Telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima
sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal: 21 Juni 2021

Ketua Penguji	Dr. Kiptiyah, M.Si NIP. 19731005 200212 2 003	
Anggota Penguji 1	Kholifah Holil, M.Si NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji 2	Prof.Dr.drh. Bayyinatul M, M.Si NIP. 19710919200003 2 001	
Anggota Penguji 3	Mujahiddin Ahmad, M.Sc NIP. 19860512 201903 1 002	

Mengesahkan,
Kepala Program Studi Biologi
Dr. Maulana Malik Ibrahim Malang

Dr. Erika Sani Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan nama Allah SWT yang maha pengasih dan maha penyayang, skripsi ini penulis persembahkan kepada :

1. Keluarga besarku terutama kepada ayahanda suparno dan ibunda Siti Munawaroh, terimakasih atas limpahan doa, pengorbanan, kasih sayang, serta dukungan tiada henti.
2. Adikku tercinta Mutiara Lutfiatul Hanifah , terimakasih atas segala dukungan.

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Fitria Nurul Azizah
NIM : 16620130
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium Sativum*, *Curcuma Mangga*, Dan *Acorus Callamus* Terhadap Proliferasi Epitel Vagina Dan Lama Fase Estrus Mencit (*Mus Musculus*)

menyatakan dengan sesungguhnya jika karya ilmiah ini benar-benar ialah hasil karya ilmiah saya sendiri, bukan tulisan orang lain, ataupun pengambilalihan informasi, kecuali bila dalam pengutipan substansi dicantumkan sumbernya serta belum sempat diajukan pada institusi manapun. Saya bertanggung jawab penuh atas keabsahan serta kebenaran isinya sesuai dengan dengan perilaku ilmiah yang wajib di junjung besar. Demikian pernyataan saya buat, tanpa paksaan serta tekanan dari pihak manapun dan bersedia menemukan sanksi akademik bilapernyataan yang saya buat tidak benar dikemudian hari.

Malang, 25 Mei 2021

Masa berlaku pernyataan



Fitria Nurul Azizah

NIM. 16620130

v



Dipindai dengan CamScanner

v

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat , tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan.

**PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Allium sativum*,
Curcuma mangga, DAN *Acorus callamus* TERHADAP PROLIFERASI
EPITEL VAGINA DAN LAMA FASE ESTRUS MENCIT (*Mus musculus*)**

Azizah, Fitria Nurul., Muctharomah Bayyinatul., Ahmad Mujahidin

ABSTRAK

Vagina adalah organ reproduksi betina yang berbentuk memanjang seperti tabung dari vestibulum hingga serviks. Struktur histologi vagina dipengaruhi hormon seks antara lain estrogen, kurangnya hormon estrogen dalam tubuh dapat berpengaruh terhadap proliferasi epitel vagina dan fase estrus. Fitoestrogen merupakan senyawa dari tumbuhan dimana struktur kimianya sama dengan hormone seks estrogen. Tumbuhan yang memiliki kandungan fitoestrogen antara lain bawang putih, temu mangga dan jeringau. Pada riset ini ketiga tumbuhan tersebut dikemas dalam bentuk nanopartikel untuk mempercepat penyerapan pada membran. Jenis penelitian ini adalah eksperimental menggunakan RAL dengan 6 kali ulangan. Hewan coba yang digunakan merupakan mencit betina (*Mus musculus*) sebanyak 35 ekor. Perlakuan terdiri dari kontrol positif, kontrol negatif, 2 perlakuan nanopartikel kombinasi ekstrak dosis 25 mg/ kg bb serta 50 mg/ kg bb, serta perlakuan jamu dosis 75 mg/ kg bb. Informasi hasil riset antara lain proliferasi (ketebalan serta maturasi sel) epitel vagina serta lama fase estrus. Analisis data menggunakan ANOVA (α 5%) jika ditemukan perbedaan yang signifikan maka di lanjut dengan uji Duncan. Hasilnya menunjukkan pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau memberikan pengaruh terhadap lama fase estrus, tetapi tidak berpengaruh terhadap proliferasi epitel vagina. Peningkatan lama fase estrus diperoleh kelompok perlakuan nanopartikel kombinasi dosis 25 mg/BB. Begitu juga untuk nilai indeks maturasi dan ketebalan epitel vagina menunjukkan bahwa efek fitoestrogen tinggi diperoleh kelompok perlakuan nanopartikel kombinasi dosis 25mg/BB, sehingga dosis ini merupakan dosis yang optimal digunakan sebagai suplemen fitoestrogen.

Kata kunci : Nanopartikel, fitoestrogen, estrus, proliferasi epitel vagina, bawang putih, temu mangga, jeringau, mencit betina

**THE EFFECT OF NANOPARTICLE COMBINATION EXTRACT OF
Allium sativum, *Curcuma mango*, and *Acorus calamus* ON THE
PROLIFERATION OF VAGINAL EPITHELIUM AND THE LONGING
OF THE ESTRUS MINE PHASE (*Mus musculus*).**

Azizah, Fitria Nurul., Muchtharomah Bayyinatul., Ahmad Mujahidin

ABSTRACT

The vagina is a female reproductive organ that is elongated like a tube from the vestibule to the cervix. The histological structure of the vagina is influenced by sex hormones, including estrogen, the lack of estrogen in the body can affect the proliferation of vaginal epithelium and the estrus phase. Phytoestrogens are compounds from plants whose chemical structure is the same as the sex hormone estrogen. Plants that contain phytoestrogens include garlic, temu mangga, and jeringau. In this research, the three plants were packaged in the form of nanoparticles to accelerate absorption on the membrane. This type of research is experimental using RAL with 6 replications. The experimental animals used were 35 female mice (*Mus musculus*). The treatments consisted of positive control, a negative control, 2 nanoparticle treatments with a combination of extract at a dose of 25 mg/kg BW and 50 mg/kg BW, and herbal treatment at a dose of 75 mg/kg BW. Information from research results includes the proliferation (thickness and cell maturation) of the vaginal epithelium and the duration of the estrus phase. Data analysis using ANOVA (α 5%) if a significant difference is found, it is continued with Duncan's test. The results showed that the administration of nanoparticles combined with extracts of garlic, mango, and jeringau affected the duration of the estrus phase, but did not affect the proliferation of vaginal epithelium. The increase in the duration of the estrus phase was obtained by the combination nanoparticle treatment group at a dose of 25 mg/BB. Likewise, for the value of the maturation index and thickness of the vaginal epithelium, it shows that the high phytoestrogen effect was obtained by the combination nanoparticle treatment group at a dose of 25 mg/BW, so this dose is the optimal dose used as a phytoestrogen supplement.

Key words: Nanoparticles, phytoestrogens, estrus, vaginal epithelial proliferation, garlic, mango ginger, jeringau, female mice.

تأثير تركيبة الجسيمات النانوية مستخلصات أليوم ساتيفوم (*Allium Sativum*) ، و
كركممانجو (*Curcuma Mangga*) ، و أكوروس كالاموس (*Acorus Callamus*) على
تكاثر البطانة المهبلية و طور منجم الشعاع الطويل (*Mus Musculus*)

عزيزة، فيتريا نور ، بينة المحترمة الماجستير ، مجاهدين أحمد

مستخلص البحث

المهبل هو عضو تناسلي أنثوي ممدود مثل الأنبوب الممتد من الدهليز إلى عنق الرحم. يتأثر التركيب النسيجي للمهبل بالهرمونات الجنسية ، بما في ذلك هرمون الاستروجين ، ويمكن أن يؤثر نقص هرمون الاستروجين في الجسم على تكاثر الظهارة المهبلية و طور الشبق. فيتويستروغنز هي مركبات من نباتات لها تركيب كيميائي مماثل لهرمون الاستروجين الجنسي. تشمل النباتات التي تحتوي على فيتويستروغنز الثوم والزنجبيل والجيرنغاو. في هذا البحث ، تم تعبئة النباتات الثلاثة على شكل جزيئات نانوية لتسريع الامتصاص على الغشاء. هذا النوع من البحث تجريبي باستخدام RAL مع 6 مكررات. كانت الحيوانات التجريبية المستخدمة 35 أنثى فأر (*Mus musculus*). وتألفت المعالجات من ضبط إيجابي ، وضبط سلبي ، وعلاجين جسيمات نانوية بمزيج من المستخلص بجرعة 25 ملغم / كغم من وزن الجسم و 50 ملغم / كغم من وزن الجسم ، ومعالجة بالأعشاب بجرعة 75 ملغم / كغم من وزن الجسم. تتضمن المعلومات المستقاة من البحث تكاثر (سماكة ونضج الخلايا) للظهارة المهبلية ومدة طور الشبق. تحليل البيانات باستخدام (ANOVA α 5%) إذا تم العثور على فرق كبير ، فإنه يستمر مع اختبار Duncan. أظهرت النتائج أن تناول الجسيمات النانوية مع مستخلصات الثوم والمانجو والجيرنجاو كان له تأثير على مدة طور الشبق ، ولكنه لم يؤثر على تكاثر الظهارة المهبلية. تم الحصول على الزيادة في مدة طور الشبق من خلال مجموعة معالجة الجسيمات النانوية بجرعة 25 مجم / وزن الجسم. وبالمثل ، بالنسبة لقيمة مؤشر النضج وسمك الظهارة المهبلية ، فإنه يُظهر أن تأثير الاستروجين النباتي العالي تم الحصول عليه من خلال مجموعة معالجة الجسيمات النانوية المركبة بجرعة 25 مجم / وزن الجسم ، لذا فإن هذه الجرعة هي الجرعة المثلى المستخدمة كعلاج. مكمل فيتويستروجين

الكلمات المفتاحية: جزيئات نانوية ، فيتويستروغنز ، شبق ، تكاثر طلائي مهبلية ، ثوم ، مانجو زنجبيل ، جيرنغاو ، أنثى فئران

KATA PENGANTAR

Tiada kata lain selain mengucapkan puji syukur atas terselesainya skripsi ini dengan judul “Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium Sativum*, *Curcuma Mangga*, Dan *Acorus Callamus* Terhadap Proliferasi Epitel Vagina Dan Lama Fase Estrus Mencit (*Mus Musculus*)”. Diharapkan skripsi ini bisa bermanfaat untuk penulis baik dari segi keilmuan ataupun pengalaman yang sangat bermanfaat untuk penulis. Penyusunan skripsi ini tidak akan selesai tanpa dorongan serta kerjasama dari pihak lain. Oleh sebab itu kesempatan ini penulis mau mengucapkan terimakasih sebesar- besarnya kepada seluruh pihak yang sudah mendukung serta menolong terwujudnya skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.,
2. Ibu Dr.Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua program StudiBiologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang,
3. Ibu Prof.Dr.drh.Bayyinatul Muctaromah, M.Si sebagai dosen pembimbing yang dengan sabar memberi dorongan semangat serta bimbingan dengan penuh keikhlasan,
4. Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc sebagai dosen pembimbing agama dengan sabar memberikan bimbingan dengan penuh keikhlasan.
5. Orang tua tercinta Bapak Suparno, Ibu Siti Munawaroh dan adik Mutiara Lutfiatul Hanifah yang telah banyak memberikan perhatian, kasih sayang, nasihat, doa dan dukungan baik materi maupun moril yang tak mungkin terbalaskan.

Sebagai akhir kata.Penulis berharap semoga hasil pemikiran yang tertuang dalam skripsi dapat bermanfaat sebagai yang diharapkan.

Malang, 25 Mei 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
مستخلص البحث	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Hipotesis	9
1.4 Tujuan	9
1.5 Manfaat	9
1.6 Batasan Masalah	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Integrasi sains dan islam	11
2.2 Deskripsi Tumbuhan Jeringau (<i>Acorus calamus</i>)	14
2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Jeringau	14
2.2.2 Kandungan Tanaman Jeringau (<i>Acorus calamus</i>)	15
2.3 Deskripsi Tanaman Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i>)	16
2.3.1 Klasifikasi Tumbuhan Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i>)	17
2.3.2 Kandungan Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i>)	17
2.4 Deskripsi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>)	18

2.4.1 Klasifikasi Tumbuhan Bawang putih (<i>Allium sativum</i>).....	18
2.4.2 Kandungan dan Manfaat Bawang putih (<i>Allium sativum</i>).....	19
2.5 Nanoteknologi.....	20
2.6 Gambaran Umum Hewan Coba	22
2.6.1 Klasifikasi Mencit (<i>Mus musculus</i>)	22
2.6.2 Deskripsi Mencit Putih (<i>Mus musculus</i>)	22
2.6.3 Anatomi Vagina Mencit.....	23
2.6.4 Histologi epitel vagina	24
2.7 Siklus Estrus.....	25
2.8 Mekanisme Kerja Estrogen terhadap Proliferasi Epitel Vagina	30
2.9 Indeks Maturasi (IM) Vagina.....	32
BAB III METODE PENELITIAN	35
3.1 Rancangan Penelitian.....	35
3.2 Populasi dan Sampel Penelitian	35
3.3 Variabel Penelitian	35
3.3.1 Variabel Bebas	35
3.3.2 Variabel Terikat.....	36
3.3.3 Variabel Kontrol.....	36
3.4 Waktu dan Tempat Penelitian	36
3.5 Alat dan Bahan	36
3.5.1 Alat Penelitian	36
3.5.2 Bahan	36
3.6 Kegiatan Penelitian.....	37
3.6.1 Persiapan Hewan coba	37
3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel	37
3.6.3 Preparasi Sampel Tumbuhan.....	38
3.6.4 Ekstraksi Simplisia dengan Metode Maserasi.....	38
3.6.5 Pembuatan Nanopartikel	38
3.6.6 Penyerentakan Siklus Estrus	39
3.6.7 Pemeriksaan Siklus Estrus Melalui Apusan Vagina.....	39
3.6.8 Penentuan Dosis Jamu Subur Kandungan	40
3.6.9 Pemberian Perlakuan	40

3.6.10 Pembuatan Preparat Histologi	40
3.6.11 Teknik Pengambilan Data	42
3.7 Analisis Data	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1 Pengaruh Nanopartikel ekstrak Kombinasi <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> , dan <i>Acorus calamus</i> terhadap lama fase estrus Mencit (<i>Mus musculus</i>)	44
4.2 Pengaruh Nanopartikel ekstrak Kombinasi <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> , dan <i>Acorus calamus</i> terhadap indeks maturasi vagina mencit (<i>Mus musculus</i>)	50
4.3 Pengaruh Nanopartikel Ekstrak Kombinasi <i>Allium Sativum</i> , <i>Curcuma Mangga</i> , Dan <i>Acorus Calamus</i> Terhadap Tebal Epitel Vagina Mencit (<i>Mus Musculus</i>).....	54
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN	68

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Gambar Sel Epitel Vagina Selama Siklus Estrus(Dikjayati, 2018).	26
Tabel 2.2 Indeks maturasi vagina	33
Tabel 4.1 Data Hasil Rata-rata Lama Fase Estrus Mencit yang Dipengaruhi Beberapa Perlakuan	45
Tabel 4.2 Pengaruh pemberian beberapa perlakuan terhadap fase estrus mencit. .	46
Tabel 4.3 Data Hasil Rata-rata indeks maturasi Mencit yang Dipengaruhi Beberapa Perlakuan.....	51
Tabel 4.4 Distribusi Sel Epitel Vagina Setelah Pemberian Perlakuan	52
Tabel 4.5 Data Hasil Rata-rata tebal epitel vagina Mencit yang Dipengaruhi Beberapa Perlakuan	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman jeringau (<i>Acorus calamus</i>)	15
Gambar 2.2 Morfologi Temu mangga (<i>Curcuma mangga</i>)	17
Gambar 2.3 Morfologi Bawang putih (<i>Allium sativum</i>)	19
Gambar 2.4 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	23
Gambar 2.5(A) Saluran reproduksi tikus. (B) Saluran reproduksi tikus ex vivo (Rendi <i>et al.</i> , 2012).	24
Gambar 2.6 Histologi epitel vagina, SB= stratum basalis, SI= stratum intermediet, SS= stratum superficial LP= lamina propia(Kallak, 2015).	25
Gambar 2.7 Gambaran sel epitel vagina selama siklus estrus.....	26
Gambar 2.8 Perubahan epitel vagina mencit selama siklus estrus. (A) proestrus, (B) estrus, (C) Metestrus, (D) Diestrus. (Pewarnaan HE; perbesaran 400x) (Suryanto, 2015).	27
Gambar 2.9 Jenis sel epitel vagina, keterangan : A. sel parabasal, B. sel intermediet, C. sel superfisial, D. sel kornifikasi (Bowen, 1998).....	34
Gambar 4.1 Grafik rata-rata lama fase estrus mencit pada setiap kelompok yang sudah diberi perlakuan.....	44
Gambar 4.2 Hasil pemeriksaan setiap fase siklus estrus.....	46
Gambar 4.3 Grafik nilai rata-rata indeks maturasi vagina mencit.....	50
Gambar 4.4 Grafik rata-rata tebal epitel vagina mencit setelah diberi perlakuan ..	55
Gambar 4.5 Histologi Vagina Mencit Yang sudah Diberi Perlakuan.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian	68
Lampiran 2. Data Hasil Analisis statistik dan Perlakuan Fase Estrus	69
Lampiran 3. Analisa statistic data indeks maturasi epitel vagina.....	72
Lampiran 4. Analisis statistik data tebal epitel vagina mencit setelah pemberian perlakuan.	74
Lampiran 5. Perhitungan dosis	76
Lampiran 6. Dokumentasi Peneliti	78

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Reproduksi ialah kesanggupan makhluk hidup dalam memperbanyak diri yang bertujuan untuk melestarikan spesiesnya supaya tidak punah melalui proses perkawinan (Andriyani *et al.*, 2015). Kesehatan reproduksi memiliki peran penting dalam kehidupan, khususnya pada kaum wanita. Hal ini dikarenakan organ reproduksi wanita sangat sensitive terhadap penyakit, yang dapat menyebabkan gangguan reproduksi. Terdapat beberapa hal yang menyebabkan terganggunya kesehatan reproduksi antara lain infeksi organ reproduksi (indung telur, saluran indung telur, vagina, mulut rahim), gangguan hormone, infertilitas (Nugroho & B.I, 2014).

Infertilitas merupakan penurunan kemampuan makhluk hidup untuk memperoleh keturunan atau ketidaksanggupan membawa kehamilan kepada kelahiran hidup (Novrika, 2018). Seseorang dapat dikatakan dalam keadaan infertilitas apabila telah melakukan hubungan seksual selama setahun secara teratur tanpa kontrasepsi sebanyak 2-3 kali dalam seminggu namun tetap gagal dalam memperoleh keturunan (Alhassan *et al.*, 2014). Infertilitas biasanya banyak dialami oleh kaum wanita, menurut (Hadibroto, 2013) presentase infertilitas yang dialami wanita yaitu sebanyak 12,5% di bandingkan dengan pria yaitu 10,1%.

Permasalahan infertilitas pada wanita biasa diawali dengan ketidakteraturan pada siklus reproduksi. Siklus reproduksi yang terganggu bisa dihubungkan dengan kenaikan resiko berbermacam penyakit, salah satunya adalah infertilitas. Gambaran perubahan produksi hormone dapat ditandai dengan perubahan panjang dan gangguan keteraturan siklus reproduksi, pendeknya masa folikuler

mengakibatkan siklus reproduksi jadi lebih pendek (*polimenore*) berhubungan dengan penyusutan keguguran serta kesuburan, sebaliknya siklus reproduksi yang panjang (*oligomenore*) berhubungan dengan peristiwa infertilitas, anovulasi serta keguguran (Rakhmawati & Dieny, 2013).

Setiap individu betina dewasa memiliki siklus seksual yang meliputi pergantian siklik pada organ-organ reproduksi tertentu seperti uterus, ovarium dan vagina di bawah pengendalian hormone reproduksi hal tersebut biasa disebut dengan siklus reproduksi, siklus reproduksi terdiri dari siklus menstruasi, siklus ovarium, dan siklus estrus. Siklus estrus ini terjadi pada hewan rodentia (tikus atau mencit), perbedaan siklus estrus dengan siklus menstruasi yaitu, tidak berlangsung pendarahan dan terdapat perubahan perilaku pada tiap tahapan siklus estrus. Dalam perihal ini, sistem hormonal berperan penting terhadap siklus-siklus tersebut, hormone yang dirilis dari hipofisa anterior yaitu GnRH (*gonadotropin releasing hormone*) dan hormon ovarial (FSH dan estrogen) merupakan hormone-hormon yang mempengaruhi siklus estrus. Perubahan FSH serta estrogen dalam darah menimbulkan fisiologis tubuh hewan berubah, yang menampakkan perubahan fisik seperti vulva yang membengkak, berwarna merah dan perubahan komposisi pada sel mucus vagina (Nurfitriani & Setiawan, 2015).

Meningkatnya kadar estrogen dalam tubuh dapat mempengaruhi pembelahan dan proses penandukan (kornifikasi) epitel vagina. Metode pengukuran yang digunakan terhadap respon estrogen adalah indeks maturasi (IM) yaitu teknik menghitung sel epitel vagina dengan tujuan untuk mengetahui presentase sel yang matur, sel yang dihitung antara lain (PB) sel parbasal, (I) sel intermediet, dan (S) sel suprficial dalam skala PB:I:S (Amran, 2010). Kandungan estrogen yang tinggi

ditandai oleh banyaknya sel superficial, sedangkan rendahnya estrogen ditandai dengan banyaknya sel parbasal, hal ini di perjelas oleh (Amran, 2010) yang menyatakan bahwa defisiensi estrogen menyebabkan terhentinya pertumbuhan sebagian sel epitel vagina, yang pertama menurunnya sel superficial, disusul sel intermediet sehingga permukaan epitel vagina hanya terdiri atas sel parbasal.

Proliferasi epitel vagina dapat diketahui melalui pengamatan histologi epitel vagina. Hal ini dikarenakan estrogen berperan dalam aktifitas pembelahan sel epitel sehingga menyebabkan proliferasi sel epitel dan mempengaruhi ketebalan epitel vagina. Diferensiasi sel dapat terhubung langsung dengan reseptor estrogen α (RE- α) pada sel epitel. Pergantian susunan epitel vagina, seperti sel parbasal berganti menjadi sel superficial merupakan tanda dari sel yang terdiferensiasi sehingga berpengaruh terhadap ketebalan epitel vagina (Yuwono et al., 2018).

Kadar estrogen yang tinggi terhadap rodentia seperti mencit dapat mempengaruhi siklus estrus, sedangkan penurunan hormonal pada rodentia akan mempengaruhi siklus estrus. Siklus estrus tersebut dapat ditentukan dengan pengamatan sel epitel dinding vagina dengan metode pembuatan apusan vagina adapun fase-fase dalam siklus estrus adalah proestrus, estrus, matestrus dan diestrus (Narulita *et al.*, 2017). Fase estrus adalah fase dimana hewan betina siap untuk berkopulasi, lama fase ini kurang lebih 12 jam. Pada fase ini pengaruh hormon estrogen tinggi serta asupan darah ke vagina meningkat sehingga terjadi kornifikasi dengan cepat pada epitel vagina dan lendir disekresikan (Akbar, 2010). Peningkatan pertumbuhan dan pematangan folikel ovarium dapat ditandai dengan lama fase estrus, karena fase estrus tidak akan terjadi sebelum matangnya folikel di dalam ovarium (Assa'idah, 2018). Panjang fase estrus pada hewan

rodentia mempunyai peran penting dalam reproduksi karena berhubungan dengan fertilitas dan panjangnya masa kawin.

Pertumbuhan dan perkembangan folikel akan terganggu apabila hormone dalam tubuh bermasalah. Status reproduksi pada hewan sangat ditentukan oleh perkembangan folikel, sehingga hal tersebut sangat berpengaruh terhadap kematangan folikel dan proses ovulasi. Dalam sistem reproduksi, hormon reproduksi memegang peranan yang sangat penting. Keberhasilan reproduksi tergantung pada keseimbangan hormon reproduksi. Hormon reproduksi utama pada hewan betina adalah hormon estrogen. Kurangnya hormon estrogen dalam tubuh dapat menyebabkan gangguan reproduksi dan kesehatan (Safrida, 2008).

Fitoestrogen adalah senyawa mirip estrogen yang ditemukan dalam tanaman. Fitoestrogen bekerja sebagai estrogen yang bisa berpengaruh terhadap pemecahan dan produks hormon estrogen dalam tubuh. Aktivitas estrogen yang berlebihan dapat dihambat oleh fitoestrogen yang berperan dalam menstabilkan fungsi hormonal, sedangkan apabila kadar estrogen rendah maka akan disubtitusikan (Pradyptasari *et al.*, 2013). Fitoestrogen memiliki kemiripan struktur dengan estrogen 17β estradiol, yang dapat meningkatkan aktivitas hormon estrogen (Yuwono *et al.*, 2018).

Beberapa tumbuhan yang di dalamnya mengandung fitoestrogen yaitu jeringau (*Acorus calamus*), temu mangga (*Curcuma mangga*), dan bawang putih (*Allium sativum*) (Lilian U *et al.*, 2006). Ketiga tumbuhan tersebut terdapat di dalam obat herbal asal Madura yaitu “jamu subur kandungan jokotole”, yang mana komposisi bahannya terdiri dari 36% bawang putih, 36% temu mangga dan 28% jeringau. Aktivitas antioksidan, antimikroba, dan kandungan fitokimia dari ketiga

tanaman tersebut dianggap memiliki pengaruh penting dalam memperbaiki fertilitas wanita (Assa'idah, 2018). Tanaman jeringau (*Acorus callamus*) banyak mengandung senyawa fitokimia, antara lain minyak atsiri yang bisa dimanfaatkan sebagai obat dari berbagai jenis penyakit pada manusia dan hewan. Kandungan utama dari jeringau adalah minyak atsiri tersusun dari α -asarone 82% dan β -asarone bermanfaat sebagai anti-inflamasi, antioksidan dan antibakteri (Mughtaromah *et al.*, 2017), bagian tanaman yang sering digunakan adalah akar dan rhizome.

Temu mangga mengandung senyawa antioksidan, termasuk chalcones, flavonoid, flavon . senyawa curcumin dalam temu mangga banyak digunakan sebagai anti mikroba dan imunodulator besar kandungan kurkumin 6,2%. Sedangkan pada bawang putih terkandung senyawa aktif seperti alkaloid, tanin, flavonoid dan triterpenoid dimana jenis senyawa tersebut memiliki aktifitas antioksidan (Mughtaromah *et al.*, 2017). Berdasarkan paparan keterangan mengenai kandungan senyawa kimia dari ketiga tanaman tersebut ditemukan senyawa zat aktif seperti flavonoid, steroid, antioksidan, minyak atsiri, saponin, tannin, maka diduga tanaman tersebut mengandung fitoestrogen. Dengan adanya dugaan bahwa ketiga tanaman ini mengandung fitoestrogen alami peneliti mengharapkan senyawa dalam kandungan tersebut dapat mencegah gejala infertilitas. Fitoestrogen dapat berperan sebagai pengganti estrogen endogen apabila kadarnya menurun, hal ini dikarenakan fioestrogen mampu berikatan dengan estrogen reseptor (RE) yang terdapat dipermukaan vagina yang nantinya menyebabkan proliferasi epitel (Lilian *et al.*, 2006).

WHO juga merekomendasikan pemakaian obat herbal kepada masyarakat

sebagai penangkal dan penyembuhan penyakit yang bersifat kronis dan penyakit degeneratif (Agustina *et al.*, 2016).80% penduduk dunia saat ini cenderung menggunakan tumbuhan sebagai bahan pengobatan terhadap gangguan reproduksi (Akour *et al.*, 2016).Selain itu, tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional dinilai lebih aman mudah didapat dan relatif murah (Sekhri & Ruchika, 2013).

Berbagai macam tumbuhan yang Allah SWT ciptakan di alam semesta ini bertujuan untuk mencukupi kepentingan hidup manusia, bukan untuk sumber minuman dan makanan saja, tetapi juga digunakan untuk objek penyembuhan dari penjelasan tersebut Allah Ta'ala berfirman dalam Q.S As-Syu'ara (26):7:

أَوْ لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya: Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?

Bersumber pada tafsir jalalin, kata *karim*(yang baik) kata tersebut untuk memberikan sifat sebagai makna yang baik, yang dimaksud dalam hal ini kata tumbuhan (*zauj*)(Mahalli & Assuyuti, 2000). Jadi maksud kata tersebut yaitu, tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat dan berguna untuk manusia, termasuk bermanfaat untuk pengobatan dalam mengatasi masalah infertilitas.

Kendala yang dihadapi dalam mengkonsumsi obat herbal adalah dosis yang besar (Junhua *et al.*, 2015). Hal ini dikarenakan ekstrak tumbuhan memiliki kelarutan yang rendah dalam saluran pencernaan sehingga penyerapan dalam plasma darah rendah (Ming *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian (Assa'idah,2018) penggunaan ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau pada tikus betina yang efektif adalah dosis 75 mg/BB, hal ini menunjukkan bahwa sediaan ekstrak

yg digunakan masih cenderung tinggi. Salah satu solusi alternatif dari persoalan tersebut ialah dengan membuat sediaan bawang putih, jeringau dan temu mangga dalam bentuk nanopartikel dan disalut menggunakan teknologi nano (Devi *et al.*, 2015). Penyalutan dengan teknologi nano memudahkan ekstrak terserap dalam plasma darah dan lebih efektif dalam mencapai target sel (Barragan *et al.*, 2016)

Nanopartikel merupakan teknologi kombinasi dari berbagai bidang ilmu fisika, kimia dan biologi yang mempelajari wujud pada skala nanometer (10 nm – 1000 nm). Nanoteknologi bisa menciptakan suatu sediaan obat herbal pada rasio molekuler serta atom yang menimbulkan perubahan sifat secara biologi, kimia dan aktivitas katalitik (Hanutami & Budiman, 2017). Selain itu teknologi nano dapat memodifikasi karakteristik permukaan dan ukuran partikel sehingga obat herbal dapat ditargetkan untuk suatu organ seperti otak, paru-paru, ginjal dan saluran pencernaan dengan selektivitas dan efektivitas dan keamanan yang tinggi selain itu pelepasan senyawa aktif dapat dikontrol sehingga meminimalisir efek samping (Hanutami,2017). Dengan adanya teknologi nano bioavailabilitas dan absorpsi bahan aktif dapat meningkat karena adanya peningkatan luas permukaan partikel dan kelarutan, selain itu dalam ukuran nano partikel memiliki waktu tinggal yang lebih lama karena dijerap oleh mukosa usus (Ramadon & Mun'im, 2016).

Metode pertama yang digunakan adalah melakukan ekstraksi terhadap ketiga tumbuhan tersebut kemudian dikombinasikan dengan dosis yang telah ditentukan, setelah mendapatkan hasil kombinasi ekstraksi dilanjutkan dengan pembuatan nanopartikel menggunakan metode gelas ionic, yang mana prinsip kerjanya yaitu menyambung silang antar polielektrolit dengan pasangan ion multivalennya. Proses tersebut akan diikuti kompleksasi polielektrolit dengan

polielektrolit yang berlawanan. Terbentuknya ikatan sambung silang akan memperkuat kekuatan mekanis dari partikel yang dihasilkan (Desai & Park, 2005).

Metode gelasi ionik berdasarkan pencampuran polimer bersifat polikation dengan polianion. Polimer polikation yang umum dipakai ialah kitosan sedangkan yang umum digunakan untuk polimer polianion adalah tripolifosfat (TPP), zat yang berguna sebagai pengikat silang yang baik. Penambahan TPP yang memiliki rapat muatan negatif tinggi akan meningkatkan kekuatan mekanik gel kitosan (Sreekumar *et al.*, 2018). Dengan begitu penggunaan nanopartikel kombinasi jeringau, temu mangga dan bawang putih diharapkan memperoleh hasil yang lebih efektif dan tepat sasaran.

Melalui penelitian ini diharapkan terkuaknya informasi tentang pengaruh nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus callamus* yang secara ilmiah berpotensi sebagai fitoestrogen dan antioksidan. Penelitian sebelumnya telah dilakukan secara *in vivo* untuk mengetahui pengaruh ekstrak kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau terhadap fase estrus dan proliferasi tikus betina (*Rattus norvegicus*). Penelitian terdahulu ini menjadi salah satu acuan penulis dalam melakukan penelitian sehingga penulis dapat memperkaya teori yang digunakan dalam mengkaji penelitian yang dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah diatas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah kombinasi ekstrak nanopartikel ekstrak bawang putih, temu mangga, dan jeringau berpengaruh terhadap proliferasi epitel vagina mencit?

2. Apakah kombinasi ekstrak nanopartikel ekstrak bawang putih, temu mangga, dan jeringau berpengaruh terhadap lama fase estrus mencit?

1.3 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu :

1. Kombinasi nanopartikel ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau dapat berpengaruh terhadap proliferasi epitel vagina mencit.
2. Kombinasi nanopartikel ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau dapat berpengaruh terhadap lama fase estrus mencit.

1.4 Tujuan

Adapun tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui apakah kombinasi ekstrak nanopartikel bawang putih, temu mangga dan jeringau berpengaruh terhadap proliferasi epitel vagina mencit.
2. Mengetahui apakah kombinasi ekstrak nanopartikel bawang putih, temu mangga dan jeringau berpengaruh terhadap lama fase estrus mencit.

1.5 Manfaat

Manfaat dilakukannya penelitian ini antara lain :

1. Memberikan informasi ilmiah tentang potensi nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau terhadap proliferasi epitel vagina mencit serta lama fase estrus.
2. Memberikan pengetahuan dan informasi tentang obat herbal yaitu jeringau, temu mangga dan bawang putih yang termodifikasi dengan teknologi nanopartikel dan berpotensi sebagai penyembuhan gangguan reproduksi khususnya infertilitas.

3. Sebagai landasan untuk penelitian selanjutnya

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian kali ini adalah :

1. Sampel tumbuhan yang dipakai mengacu pada komposisi bahan jamu subur kandungan “jokotole” yaitu 28% jeringau, 36% temu mangga dan 36% bawang putih yang didapatkan dari Balai Materia Medika Batu.
2. Ekstraksi menggunakan pelarut ethanol 70% dilakukan dengan metode maserasi
3. Hewan coba yang digunakan adalah mencit betina fertil galur Balb-C, umur 8 minggu, berat 25-50 gram.
4. Penyeragaman siklus estrus menggunakan hormon PMSG dan hCG yang diberikan sesudah aklimatisasi.
5. Parameter yang diamati adalah proliferasi epitel vagina mencit yang meliputi pengukuran tebal epitel vagina dan indeks maturasi sel epitel vagina serta lama fase estrus.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Integrasi sains dan islam

Berbagai macam tumbuhan diciptakan Allah SWT dengan berbagai manfaat didalamnya untuk dimanfaatkan sebaik mungkin, begitu juga Allah SWT menciptakan manusia sebagai khilafah di alam semesta untuk diperintahkan menjaga dan memanfaatkan segala apa yang telah diciptakanNya dengan sebaik-baiknya (Mahran & Abdul, 2006).

Salah satu besarnya kekuasaan Allah SWT dalam menunjukkan kebesarannya adalah pada tumbuhan, setiap tumbuhan memiliki karakter yang berbeda-beda sesuai dengan lingkungan dan kondisinya. Perbedaan karakter setiap tumbuhan menghasilkan kegunaan atau manfaat dari tumbuhan tersebut berbeda. Salah satu tumbuhan yang pergunakan manfaatnya adalah bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*), dan jeringau (*Acorus calamus*) ketiga tanaman tersebut dimanfaatkan sebagai obat dalam masalah fertilitas. Uraian tersebut sesuai dengan kalam Allah surat Asy-Syu'ara ayat 7:

أَوْ لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya : Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?

Terdapat kata *zauj* dalam ayat ini yang memiliki makna pasangan, maksudnya adalah tumbuh-tumbuhan yang tumbuh pada sela-sela tanah yang di bumi mereka termasuk dalam pasangan. Artinya tumbuhan bertahan hidup secara berpasangan untuk mendukung kelangsungan hidupnya. Kata *karim* dipakai untuk menunjukkan segala hal yang disifatinya baik, maka kata *zauj karim* mengartikan tanaman yang baik (Al-Qarni, 2008).

Arti dari tumbuhan yang baik yaitu dapat berguna dan bermanfaat untuk seluruh makhluk hidup, termasuk dalam segi pengobatan. Seperti halnya tanaman bawang putih (*Allium sativum*), jeringau (*Acorus calamus*) dan temu mangga (*Curcuma mangga*), ketiga tanaman tersebut mempunyai kandungan yang bermanfaat untuk alternative pengobatan fertilitas yang mana komposisi tersebut merujuk pada jamu produksi Madura yaitu jamu subur kandungan jokotole. Allah SWT berfirman dalam surat Luqman ayat 20 :

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ سَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ وَأَسْبَغَ عَلَيْكُمْ نِعْمَهُ ظَاهِرَةً وَبَاطِنَةً وَمِنَ النَّاسِ مَن يُجَادِلُ فِي اللَّهِ بِغَيْرِ عِلْمٍ وَلَا هُدًى وَلَا كِتَابٍ مُّنبِتٍ ۖ

Artinya : Tidakkah kamu perhatikan Sesungguhnya Allah Telah menundukkan untuk (kepentingan)mu apa yang di langit dan apa yang di bumi dan menyempurnakan untukmu nikmat-Nya lahir dan batin. dan di antara manusia ada yang membantah tentang (keesaan) Allah tanpa ilmu pengetahuan atau petunjuk dan tanpa Kitab yang memberi penerangan.

Berdasarkan tafsir Jalalin makna dari kata menundukkan adalah menyediakan atau menciptakan, jadi penjelasan dari ayat tersebut ialah bahwasanya Allah SWT menciptakan benda-benda di langit (yaitu matahari, bulan dan bintang) dan benda-benda di bumi (dalam bentuk buah-buahan, sungai dan binatang), menyempurnakan (melapangkan) berkahnya dengan memberikan kepada kita bentuk yang baik, ilmu yang paling sempurna anggota dan lain-lain.

Tanaman bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*), dan jeringau (*Acorus calamus*), sudah dipercaya dan dimanfaatkan dalam mengatasi masalah fertilitas oleh masyarakat Madura. Pasangan suami istri yang kondisi reproduksinya baik maka akan dengan mudah dalam mendapatkan keturunan. Islam merekomendasikan ummatnya untuk memiliki keturunan yang

banyak. Adapun hadis yang menganjurkan pasangan suami istri memiliki banyak keturunan adalah seperti dibawah ini :

تَزَوَّجُوا الْوُدُودَ الْوُلُودَ إِنِّي مُكَاتِرُ الْأَنْبِيَاءِ يَوْمَ الْقِيَامَةِ

Artinya: “Nikahilah perempuan yang penyayang dan dapat mempunyai anak banyak karena sesungguhnya aku akan berbangga dengan sebab banyaknya kamu dihadapan para Nabi nanti pada hari kiamat” (Shahih Riwayat Ahmad, Ibnu Hibban dan Sa’id bin Manshur dari jalan Anas bin Malik).

Hadist diatas menerangkan bahwa islam menyarankan agar ummatnya dapat memiliki keturunan yang banyak, dengan tujuan untuk mengikuti syariat islam yang mana kedudukan ummat Rasullulah semakin banyak dihadapan ummat terdahulu dan di hari akhir.

Penelitian secara *in vivo* akan membutuhkan objek penelitian berupa hewan. Kesesuaian hewan yang digunakan sebagai objek penelitian harus dipertimbangkan baik dari sis ukuran serta jenisnya. Penggunaan hewan dalam penelitian sudah tercantum dalam Al-Qur’an surat gafir ayat 80 :

وَلَكُمْ فِيهَا مَنَافِعُ وَلِتَبَلَّغُوا عَلَيْهَا حَاجَةً فِي صُدُورِكُمْ وَعَلَيْهَا وَعَلَى الْفُلْكِ تُحْمَلُونَ^ق

Artinya: Dan (ada lagi) manfaat-manfaat yang lain pada binatang ternak itu untuk kamu[1327] dan supaya kamu mencapai suatu keperluan yang tersimpan dalam hati dengan mengendarainya. dan kamu dapat diangkat dengan mengendarai binatang-binatang itu dan dengan mengendarai bahtera.

Tujuan dari sebuah penelitian adalah untuk menjawab suatu permasalahan yang ada, dengan pemakaian hewan coba pada penelitian maka dapat membantu menjawab permasalahan dengan suatu topik terkait. Kesimpulan berdasarkan ayat dan hadist di atas adalah Allah telah memberikan karunia yang melimpah apabila manusia ingin memikirkannya. Segala sesuatu yang Allah ciptakan baik yang ada di bumi maupun di langit tidak ada yang sia-sia apabila manusia mau mengkaji dan berfikir akan kekuasaan Allah melalui ciptaan-Nya.

2.2 Deskripsi Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus*)

Acorus calamus termasuk tumbuhan dari family Acoraceae merupakan tanaman monokotil yang hidup pada lahan yang basah dengan merambat dan bercabang luas (Mamta & Jyoti, 2012). *Acorus calamus* atau jeringau termasuk tumbuhan yang aromatis, berimpang dan rimpang berwarna putih dengan kulit berwarna merah muda. Daun jeringau mampu memberikan aroma yang khas apabila daunnya dikoyak (Widyastuti *et al.*, 2019).

Daun *Acorus calamus* memiliki midvein tunggal yang menonjol dan kemudian pada kedua sisi sedikit memperlihatkan vena sekunder dan banyak terlihat vena tersier. Ini membuatnya jelas berbeda dari *Acorus americanus*. Lebar daunnya antara 0,7 dan 1,7 cm, dengan rata-rata 1 cm. Daun simpodial *Acorus calamus* agak lebih pendek dari daun vegetative, marginnya keriting atau bergelombang. Tanaman ini sangat jarang berbunga atau berbuah, tetapi ketika mereka tumbuh bunga, berbentuk silinder, panjangnya 3 sampai 8 cm, berwarna coklat kehijauan dan ditutupi banyak duri bundar (Balakumbahan *et al.*, 2010).

2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Jeringau

Menurut (Balakumbahan *et al.*, 2010), tanaman Jeringau memiliki klasifikasi yaitu :

Kingdom : Plantae

Devisi : Magnoliophyta

Kelas: Liliopsida

Ordo: Acorales

Famili: Acoraceae

Genus: *Acorus*

Spesies : *Acorus calamus*



Gambar 2.1 Tanaman jeringau (*Acorus calamus*)

2.2.2 Kandungan Tanaman Jeringau (*Acorus calamus*)

Rimpang dari *Acorus calamus* mengandung minyak aromatik yang sejak dulu sudah digunakan dalam dunia medis dan dipanen secara komersial. Tumbuhan jeringau mengandung antispasmodik, karminatif, anthelmintik, aromatik, ekspektoran, dan stimulant. Terkadang juga digunakan untuk penyakit mental, pengobatan epilepsi, disentri, sakit perut, diare kronis. Bagian yang digunakan dalam sebagian besar studi eksperimental adalah daun, akar, dan batang tanaman. Rimpang kering mengandung beberapa minyak aromatik kuning (Umamaheshwari & Rekha, 2018).

Kandungan yang dimiliki tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* Linn.) antara lain flavanoid, saponin, kalsium oksalat, protein, tanin, dan minyak atsiri yang mengandung kalamen, kalamenol, parasaron, asaron, asarilaldehid, methyleugenol, sesquiterpen, asam n-heptyl, akorin, eugenol, asam akorik. Sedangkan rimpangnya mengandung minyak atsiri berupa 1,2,4-trimetoksi-5-(1-profenil)-benzena (asarone) (Wahyuni *et al.*, 2012). (Onasis, 2001) menyatakan bahwa minyak atsiri akar jeringau tersusun dari asarone (82%), kolemenol (5%), kolamen (4%), eugenol (0,3%), metal eugenol (1%), kolameone (1%). Komponen penyusun utama minyak atsiri adalah asarone terdiri dari 8 fenol, 2 furan, 67 hidrokarbon, 35 senyawa karbonil, dan 56 alkohol. Daun tanaman ini teruji mengandung senyawa aktif sakuranin yang memiliki pengaruh anti hiperlipidemia.

Senyawa ini dapat ditemukan bagian tumbuhan jeringau, sakuranin banyak digunakan sebagai obat herbal bagi penderita diabetes. daun jeringau juga mengandung flavonoid retusin yang akan bersifat psikoaktif apabila dikombinasikan pada seduhan teh, sehingga dapat berfungsi sebagai afrodisiak (perangsang seksual), analgesic, fuguratif, antiinflamasi dan laksatif (Pakasi, 2013).

2.3 Deskripsi Tanaman Temu Mangga (*Curcuma mangga*)

Curcuma mangga adalah herba yang tumbuh di daerah tropis, dan banyak ditemui di kawasan Indonesia. *Curcuma mangga* masuk dalam keluarga Zingiberaceae, atau disebut juga sebagai keluarga ginger (jahe). Istilah “Curcuma” merupakan nama genus, dari tanaman yang tergolong jenis “Rhizomatous herbal”, yang berasal dari keluarga Zingiberaceae (Indis, 2016).

Tanaman temu mangga mempunyai batang dengan tinggi \pm 50-75 cm, batangnya semu, dan tersusun atas pelepah-pelepah daun. Daunnya berbentuk bulat, dan lonjong, panjang daunnya sama dengan tangkai daunnya. Bagian bawah dan atas daun sedikit licin, dan tidak berbulu. Pada ujung batang tumbuhan ini memiliki bunga berbentuk bulir, jenis bunganya adalah bunga majemuk. Panjang mahkota bunga sekitar 2,5cm, mahkota bunga berwarna putih dan ujungnya berwarna ungu muda. *Curcuma mangga* memiliki rimpang berbentuk bulat, kering, dan mudah dipatahkan. Kulit rimpangnya penuh oleh akar serabut. Rimpang utama yang keras, akan tampak daging buah berwarna putih kekuningan dibagian luar apabila dibelah, dan berwarna kuning di bagian tengah. Rimpang *Curcuma mangga* berbau aromatis seperti aroma mangga, sehingga masyarakat menyebut tanaman ini sebagai temu mangga (Ariviani *et al.*, 2013).

2.3.1 Klasifikasi Tumbuhan Temu Mangga (*Curcuma mangga*)

Menurut(Indis, 2016), tanaman Temu Mangga memiliki klasifikasi yaitu :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Zingiberales

Famili : Zingiberaceae

Genus : *Curcuma*

Species : *Curcuma mangga*



Gambar 2.2 Morfologi Temu mangga (*Curcuma mangga*)

2.3.2 Kandungan Temu Mangga (*Curcuma mangga*)

Curcuma mangga mengandung berbagai macam senyawa kimia, antara lain seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, kurkumin, serta prtein toksik yang berfungsi mencegah pertumbuhan sel kanker. Kurkumin merupakan senyawa utama di dalam tanaman temu mangga, tanaman memiliki kurkumin sebesar 6,2%, bidemetoksikurkumin 3,0%, dan demetoksi-kurkumin sebesar 2,3%. Kandungan lain yang terdapat di dalam temu mangga adalah minyak atsiri, komponen yang terdapat dalam minya atsiri tersebut berupa α -pinen 2,9%, β -osimen 5,1%, mirsen 78,6%, β -pinen 3,7% yang termasuk golongan monoterpen hidrokarbon, dan senyawa (Z)- β -osimen dan δ -3-karen yang memberikan aroma seperti mangga (Hariana, 2008).

Menurut (Lailiyah, 2018) di dalam temu mangga terdapat bahan aktif triterpnoid dan saponin yang dibutuhkan dalam reproduksi khususnya pada proses

fertilisasi, yang berfungsi sebagai pelindung sel granlosa. Hal ini disebabkan adanya reseptor hormone FSH-LH pada sel granlosa. Menurut (Sarjono & Mulyani, 2017) hasil dari penelitian temu mangga bermanfaat menyembuhkan bermacam penyakit seperti asma, antikanker, sinusitis, hepatitis, kolesterol, dan TBC.

2.4 Deskripsi Bawang Putih (*Allium sativum*)

Bawang putih ialah tumbuhan herba berumpun, dengan tingginya mencapai 30-75 cm. struktur morfologi tanaman ini terdiri dari akar, batang utama, batang semu, dan tangkai bunga yang pendek. Akar bawang putih terdapat di pangkal batang (*discus*). Di atasnya terbentuk batang semu yang bentuk dan fungsinya dapat berubah menjadi tempat cadangan makanan atau biasa disebut umbi (Stavelikova, 2008).

Umbi lapis bawang putih terdiri beberapa bagian yang disebut “siung”. Biasanya dalam satu umbi terdiri dari 8 sampai 20 siung. Siung ini terlapis oleh selaput tipis yang kuat, sehingga terlihat dari luar umbi seolah-olah berukuran besar. Daun bawang putih berupa helai pita memanjang keatas, total daun mencapai 7 sampai 10 helai setiap tanaman (Lailiyah, 2018).

2.4.1 Klasifikasi Tumbuhan Bawang putih (*Allium sativum*)

Menurut (Stavelikova, 2008), bawang putih (*Allium sativum*) memiliki klasifikasi yaitu:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Monocotyledone

Ordo : Liliales

Famili: Liliaceae

Genus : Allium

Spesies: *Allium sativum*



Gambar 2.3 Morfologi Bawang putih (*Allium sativum*)

2.4.2 Kandungan dan Manfaat Bawang putih (*Allium sativum*)

Bawang putih ini memiliki kandungan gizi yang lebih tinggi di bandingkan dengan bawang yang lain, bawang putih ini kaya akan protein, fosfor, kalium, kalsium, magnesium dan karbohidrat (Kumar, 2015). Selain itu tanaman ini juga mengandung zat aliin yang akan menjadi alisin, alisin ini mengandung bau sulfur atau belerang yang menjadikan bawang putih memiliki aroma yang menyengat, fungsi dari alisin ini secara fisiologis cukup banyak antara lain sebagai penurun tekanan darah dan kolesterol, antiradang, antitrombotik, dan antikanker. Manfaat dari senyawa alisin dapat menghancurkan pembekuan darah penyebab diabetes (Mardyana, 2017).

Menurut (Prasonto *et al.*, 2017) kandungan lain pada bawang putih yaitu alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid dan triterpenoid. Semua senyawa jenis tersebut memiliki aktifitas antioksidan, aktivitas antioksidan pada ketiga senyawa tersebut disebabkan karena senyawa tersebut merupakan senyawa dengan gugus –OH yang terhubung karbon cincin aromatic yang merupakan senyawa fenol.

Kandungan lain dalam bawang putih adalah fitoesterogen. Fitoesterogen dapat berperan sebagai pengganti esterogen endogen apabila kadarnya menurun

dengan cara berikatan pada reseptor estrogen. Ditemukan beberapa kandungan fitoestrogen pada bawang putih antara lain matairesinol, daidzein, genistein, glycitien, formononetin, pinoresinol, coumestrol, dan lariciresinol (Lilian U *et al.*, 2006).

Menurut (Katria, 2006), bawang putih juga bisa membantu melancarkan serta menaikkan peredaran aliran darah dalam tubuh. Meningkatnya peredaran dalam darah memungkinkan meningkatnya aliran darah disekitar kelamin sehingga menyebabkan ereksi. Pada tanaman ini terdapat senyawa yang berpotensi sebagai perangsang seksual yaitu saponin, tanin, dan alkaloid.

2.5 Nanoteknologi

Nanoteknologi ialah suatu teknologi untuk mengembangkan sediaan pada rentang ukuran 10 nm – 1000 nm. Nanoteknologi dapat menciptakan suatu sediaan pada ukuran atom dan molekuler yang nantinya menyebabkan perubahan secara kimia, biologi dan aktivitas katalitik (Hanutami & Budiman, 2017). Sedangkan menurut (Chakraborty *et al.*, 2016) Nanoteknologi adalah rekayasa dan pembuatan bahan pada tingkat atom dan molekuler. Meskipun pembatasan ukuran, nanoteknologi biasanya mengacu pada struktur yang ukurannya mencapai beberapa 100 nm. Ini adalah penggunaan dan manipulasi materi pada skala kecil. Pada ukuran ini, atom dan molekul bekerja secara berbeda, dan memberikan berbagai hasil yang mengejutkan dan menarik. Nanoteknologi dan studi sains nano telah ada selama beberapa tahun terakhir di berbagai domain produk. Ini memberikan peluang untuk pengembangan bahan, termasuk yang untuk aplikasi medis, di mana teknik konvensional dapat mencapai batasnya.

Nanopartikel dapat dihasilkan dari karbohidrat, lemak, protein atau polimer sintetik lainnya. Dalam pembuatannya obat dapat ditempelkan pada suatu matriks nanopartikel atau dienkapsulasi. Berbagai macam aplikasi biomedis sudah banyak meneliti dan mengeksplorasi sistem teknologi nanopartikel, penggunaannya ditunjukkan untuk memperbaiki indeks terapeutik (IT) dari obat yang dienkapsulasi bertujuan untuk memperbaiki profil farmakokinetik, menurunkan toksisitas, melindungi dari degradasi enzimatik atau memperoleh pelepasan zat aktif terkendali. Nanopartikel dapat memperbaiki jumlah presentase obat yang masuk dalam oral dari obat-obatan yang memiliki kelarutan rendah. Karena ukuran yang sangat kecil nanopartikel dapat membantu penghantaran suatu obat untuk melewati membran, nanopartikel memiliki kemampuan untuk memasuki daerah yang mengalami peradangan (Ramadon & Mun'im, 2016).

Nanopartikel dapat dibuat menggunakan metode gelasi ionik, yaitu metode yang sering dipakai peneliti dikarenakan proses yang simpel, tidak memerlukan pelarut organik serta pengontrolannya yang mudah. Prinsip kerja dari metode ini adalah terbentuknya interaksi elektrostatik antar gugus amina oleh kitosan yang muatannya positif dengan polianion TPP yang muatannya negative membentuk struktur intramolekuler tiga dimensi (Abdassah, 2017). Metode gelasi ionik berdasarkan pencampuran polimer yang bersifat polikation dengan polianion. Polimer polikation yang umum digunakan adalah kitosan sedangkan polimer polianion yang umum dipakai adalah tripolifosfat (TPP), zat yang bisa berfungsi sebagai pengikat silang yang baik. Penambahan TPP yang memiliki rapat muatan negatif tinggi akan meningkatkan kekuatan mekanik gel kitosan (Sreekumar *et al.*, 2018).

Polimer pada proses enkapsulasi suatu senyawa aktif harus memiliki sifat biodegradabel dan biokompatibel, karena produk yang dihasilkan akan digunakan secara *in vivo* baik melalui jalur intravena atau oral. Polimer yang digunakan sebagai penyalut secara kimia tidak boleh bereaksi dengan senyawa aktif yang dibawa. Karena alasan tersebut polimer yang dapat digunakan sebagai penyalut adalah kitosan dan alginat (Katuwavila *et al.*, 2016).

2.6 Gambaran Umum Hewan Coba

2.6.1 Klasifikasi Mencit (*Mus musculus*)

Klasifikasi dari mencit putih adalah sebagai berikut (Akbar, 2010) :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Class : Mamalia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

Subfamili : Murinae

Genus : Mus

Spesies : *Mus musculus*

2.6.2 Deskripsi Mencit Putih (*Mus musculus*)

Mencit adalah hewan mamalia hasil penjinakan dari mencit liar. Sebagai hewan percobaan mencit memiliki kelebihan antara lain, mempunyai kesamaan secara fisiologis dengan manusia, siklus hidup yang relatif singkat, dapat melahirkan anak dalam jumlah yang tidak sedikit, dan mudah dalam penanganannya (Moriwaki & Shiroishi, 1994).

Karakteristik dari mencit adalah memiliki ukuran tubuh yang kecil, berwarna putih, memiliki siklus estrus yang teratur yaitu selama 4-5 hari. Kondisi

kandang yang digunakan untuk pemeliharaan mencit harus dalam kondisi kering, bersih dan stabil. Pengaturan dan penjagaan suhu kisaran 18-19°C dan kelembapan lingkungan sekitar 30-70%. Mencit betina memiliki masa reproduksi selama 1,5 tahun, dan bisa dikawinkan pada umur 8 minggu. Waktu kekehamilan selama 19-20 hari, dengan banyak anaknya rata-rata 5-15 ekor dengan berat antara 0,5-1,5 g (Akbar, 2010).



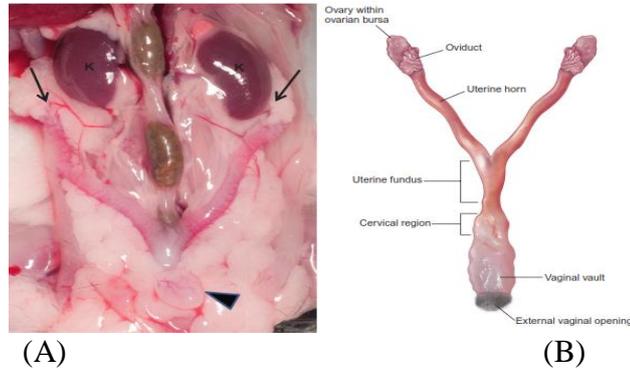
Gambar 2.4 Mencit (*Mus musculus*)

2.6.3 Anatomi Vagina Mencit

Vagina adalah saluran panjang yang terletak pada bagian ventral dari rectum dan dorsal dari uretra. Bagian vagina terdiri atas posterior (muara uterus sampai serviks) dan vestibulum (luar vagina). Kelenjar serviks uterus menghasilkan mucus yang menutupi lumen vagina sedangkan mucus tambahan dihasilkan oleh glandula vestibularis major dan glandula vestibularis minor yang membuka ke dalam vestibulum (Faradila, 2016).

Vagina (saluran kelahiran) berfungsi sebagai jalan yang dilewati oleh bayi ketika dilahirkan dan tempat penyimpanan semen saat kopulasi. Bagian atas vagina mengelilingi serviks yang menonjol, menciptakan rongga yang disebut fornix. Bagian bawah vagina terbuka ke luar pada mulut vagina, membrane tipis yang disebut selaput dapat menutup mulut vagina (Haviz, 2013).

Vagina pada rodentia (tikus atau mencit) memiliki bentuk pendek dan berotot, memanjang dari korpus uterus sampai bagian dorsal bukaan eksternal ke uretra. Vagina secara bebas terhubung ke rektum bagian dorsal dan uretra di bagian perut (Rendi *et al.*, 2012).



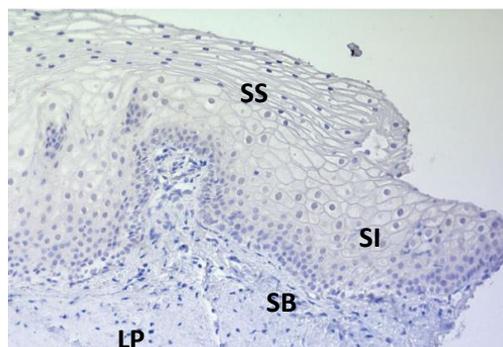
Gambar 2.5(A) Saluran reproduksi tikus. (B) Saluran reproduksi tikus ex vivo (Rendi *et al.*, 2012).

Ovarium berpasangan (panah) terletak di ujung ekor ginjal (K) yang tertanam dalam bantalan lemak ovarium. uterus yang berpasangan bertemu di fundus. Perhatikan bahwa kandung kemih (panah) ada di permukaan ventral saluran vagina. Pada gambar B menunjukkan ovarium berpasangan dan tuba falopi, rahim dupleks, kubah vagina, dan lubang vagina eksternal. Melanosis fundus uterus dapat dilihat pada galur tikus yang berpigmen (Rendi *et al.*, 2012).

2.6.4 Histologi epitel vagina

Susunan dinding vagina terdiri dari serosa, muskularis, dan mukosa. Lapisan mukosa tersusun atas sel-sel epitel squamosa. Mukosa yang mengalami perubahan, menunjukkan bermacam kondisi yang berhubungan pada fase dari siklus reproduksi hewan tersebut. Struktur histologi vagina terdiri dari epitel skuamosa berlapis-lapis yang bertumpu pada lamina propria. Epitel mengalami diferensiasi dan memiliki beberapa lapisan yang berbeda yaitu stratum basal, stratum parabasal, stratum intermediet, stratum superficial, dan stratum corneum (Anderson *et al.*, 2014). Jaringan epitel vagina dipisahkan dari stroma oleh

membrane basalis, tipe dari sel basal adalah merupakan sel yang belum matang, kurang terdiferensiasi, jarang terlihat kecuali terdapat ulserasi pada membrane basal. Bagian atas membrane basalis sel basal mengalami diferensiasi dan membentuk beberapa lapisan sel. Di atas membrane basalis terdapat 4-6 lapisan sel parabasal, sel ini berdekatan dengan sel basal, terdapat nucleus yang mengisi sebagian besar sel, memiliki bentuk sel bulat hingga oval. Lapisan setelah sel parabasal adalah sel intermediet merupakan sel yang besar memiliki inti reticulated dan mempunyai vakuola glikogen dalam sitoplasma, sel berbentuk lebih datar dan membentuk kubus. Di atas sel intermediet terdapat sel superficial merupakan sel epitel dewasa yang berdiferensiasi dengan baik, selnya memiliki ukuran yang besar, datar dan nukleusnya berukuran lebih kecil, sel ini akan banyak ditemukan pada waktu ovulasi. Sel superficial dapat disebabkan kandungan keratin. Tahapan diferensiasi sel basal dan mengelupasnya sel superficial ke lumen vagina terjadi secara stabil selama masa reproduksi (Mescher, 2010)(Carcio & Secor, 2018)



Gambar 2.6 Histologi epitel vagina, SB= stratum basalis, SI= stratum intermediet, SS= stratum superficial LP= lamina propia (Kallak, 2015).

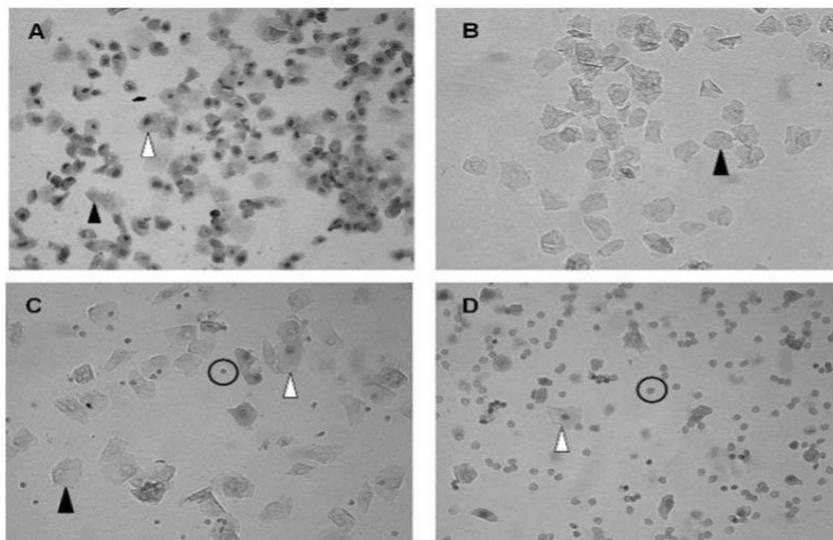
2.7 Siklus Estrus

Aspek reproduksi yang menunjukkan perubahan kandungan hormon reproduksi salah satunya adalah siklus estrus, perubahan hormon tersebut

dikendalikan oleh hormon (GnRH) gonadotrphin. Perubahn kandungan hormone reproduksi dapat merubah struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi. Terdapat 4 fase utama pada siklus estrus mencit, yaitu diestrus, matestrus, estrus dan proestrus. Keempat fase tersebut akan mudah diamati dengan membuat apusan vagina untuk mengetahui perubahan sel penyusun lapisan epitel vagina (Narulita *et al.*, 2017).

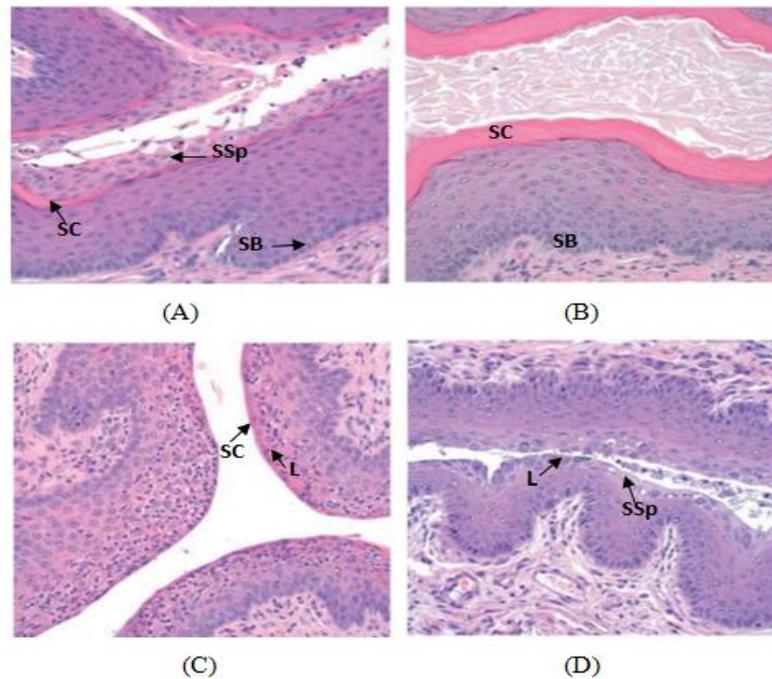
Tabel 2.1 Gambar Sel Epitel Vagina Selama Siklus Estrus (Dikjayati, 2018).

No	Fase	Sel epitel	Bentuk sel	Leukosit
1	Proestrus	Sel intermediet	Bulat, terdapat inti, berbentuk oval	Tidak ada
2	Estrus	Sel superficial	Polygonal, pipih, sitoplasma luas	Tidak ada
3	Matestrus	Sel parabasal	Bulat, berinti	Ada
4	Diestrus	Sel parabasal	Sel kecil, berinti	Ada



Gambar 2.7 Gambaran sel epitel vagina selama siklus estrus

Keterangan A= Proestrus, B= Estrus, C= Metestrus, D= Diestrus ▲= epitel kornifikasi, △= epitel berinti, O= leukosit (x100).



Gambar 2.8 Perubahan epitel vagina menciit selama siklus estrus. (A) proestrus, (B) estrus, (C) Metestrus, (D) Diestrus. (Pewarnaan HE; perbesaran 400x) (Suryanto, 2015).

Morfologi mukosa vagina, terutama jumlah lapisan dan diferensiasi, perubahan selama siklus estrus. Secara histologi, empat tahap dari siklus estrus mudah ditentukan. (A) selama proestrus, terdapat mukosa sekitar 10-13 sel tebal dan lapisan luar noda ringan dengan eosin, sedangkan lapisan granulosa menunjukkan peningkatan kornifikasi. Mitosis sering ditemukan, tetapi hanya sedikit leukosit yang tampak. (B) dalam siklus estrus, terdapat mukosa 12 sel tebal. Lapisan berinti dangkal hilang, dan lapisan cornified dangkal, mitosis menurun dan leukosit tidak ada. (C) dalam metestrus, lapisan kornifikasi akan terkelupas, dan leukosit mulai muncul dibawah epitel. (D) Selama diestrus, terdapat mukosal 4-7 sel tebal, epitel permukaan yang mucified, dan lendir leukosit, dan desquamated sel yang ada (Suryanto, 2015).

Tingkat diferensiasi sel epitel vagina dapat dipelajari menggunakan metode apusan, dalam metode tersebut dapat menunjukkan perubahan ovarium secara fungsional. Siklus estrus terbagi jadi empat fase yaitu (Akbar, 2010):

a. Fase proestrus

proestrus ialah fase persiapan, fase ini biasanya pendek dapat berlangsung selama 12 jam. Pada fase ini FSH mempengaruhi folikel ovarium untuk berkembang menjadi folikel degraaf. Sebelum estrus folikel akan mengalami perkembangan yang cepat selama 2-3, saat itulah sistem reproduksi akan mempersiapkan pelepasan ovum yang menyebabkan estrogen tersekresi dalam darah makin tinggi sehingga menyebabkan tingkah laku birahi pada hewan betina dan perubahan-perubahan fisiologis. Perubahan fisiologis tersebut termasuk, meningkatnya pertumbuhan endometrium, pertumbuhan folikel, uterus dan serviks serta keratinisasi epitel vagina dan peningkatan vaskularisasi pada beberapa spesies. Fase proestrus pada apusan vagina ditandai dengan terdapat lendir yang banyak, sel darah putih berkurang, dan jumlah sel epitel berinti digantikan dengan sel epitel bertanduk.

b. Fase estrus

periode estrus yaitu periode yang ditandai dengan diterimanya jantan oleh betina untuk berkopulasi, fase ini ditandai dengan perubahan ovum kearah yang lebih matang serta pematangan dan pembesaran folikel de graaf, biasanya fase ini terjadi selama 12 jam. kadar estrogen yang tinggi pada fase ini menimbulkan aktivitas hewan menjadi tinggi. Biasanya pada fase ini terjadi ovulasi dan terjadi menjelang berakhirnya siklus estrus. Fase ini ditandai dengan hilangnya epitel berinti dan leukosit, yang ada hanya epitel kornifikasi. Hormone-hormon yang

mempengaruhi fase adalah estrus yaitu hormone-hormon hipotalamus-hipofisa (FSH-LH-GnRH), serta hormone-hormone ovarial (estradiol dan progesteron) dan hormone uterus (prostaglandin). Pada fase estrus hipofisa anterior mensekresikan LH sehingga menimbulkan ovulasi dan pembentukan (CL) corpus luteum.

c. Fase Metestrus

Metestrus merupakan fase pertumbuhan korpus luteum lebih cepat dari sel granulosa folikel yang sudah pecah. Pada fase ini hormone progesterone memiliki pengaruh besar, terhadap penghambatan sekresi FSH oleh adenohipofisa akhirnya menghentikan penyusunan folikel deGraaf lainnya dan mencegah estrus terjadi. Uterus selama metestrus akan mempersiapkan cadangan makanan untuk embrio. Fase akhir metestrus berlangsung selama 21 jam, fase ini uterus akan menjadi sedikit lunak karena terjadi pengendoran otot uterus, ciri yang tampak fase ini yaitu leukosit dan epitel berinti terlihat lagi serta jumlah epitel kornifikasi semakin sedikit sedikit.

d. Fase Diestrus

Diestrus adalah Fase terlama dalam siklus estrus berlangsung selama 48 jam. awal periode diestrus endometrium tengah memperlihatkan aktivitasnya yaitu perkembangan kelenjar endometrium yang awalnya panjang jadi berkelok-kelok sampai membentuk spiral, di tengah fase diestrus aktivitas endometrium akan menurun yang nantinya hanya ada kelenjar permukaan yang dangkal. Akhir fase ini korpus luteum menunjukkan perubahan vakuolisasi dan penurunan secara gradual. Endometrium dan kelenjar-kelenjarnya akan kembali ke bentuk semula, sehingga folikel-folikel primer dan sekunder akan berkembang dan akan kembali

pada fase proestrus. Fase ini ditandai dengan banyak epitel berinti dan leukosit yang letaknya tersebar dan homogen.

Estrogen membutuhkan waktu beberapa menit untuk menuju sel sasaran saat bersirkulasi dalam darah. Ikatan estrogen bersama protein reseptor di dalam sitoplasma sel target akan membentuk kompleks hormone reseptor, lalu berpindah ke inti. selanjutnya tahap transkripsi DNA-RNA segera dimulai pada wilayah kromosom tertentu dan menimbulkan pembelahan sel. Proses penandukan dan pembelahan epitel vagina bergantung pada tingginya kandungan estrogen dalam tubuh yang berhubungan dengan periode akhir pertumbuhan folikel. Sedangkan jika kadar estrogen rendah maka terjadi penyusutan leukosit dan lepasnya epitel, begitu juga dengan hilangnya efek estrogen maka epitel vagina kembali pada kondisi inaktif. Kadar estrogen yang tinggi di mulai pada fase proestrus, pada fase ini saluran mucosa vagina akan mengalami peningkatan (vaskularisasi) yang lebih intens akhirnya proliferasi sel epitel dimulai.

2.8 Mekanisme Kerja Estrogen terhadap Proliferasi Epitel Vagina

Pertumbuhan dan perbedaan sel epitel vagina diatur oleh hormon steroid seks estrogen (E2) dan progesteron (K+). Pada mencit, pola infiltrasi leukosit sesuai dengan kadar E2 dan K+ yang bersirkulasi dan digunakan untuk menentukan tahap siklus estrus. Pensinyalan E2 di vagina menginduksi pembentukan penghalang fisik dengan mempertahankan ketebalan epitel vagina (Li *et al.*, 2018). Estradiol 17- β (E2) berikatan pada reseptor (ER- α) menyebabkan proliferasi epitel vagina secara langsung, akhirnya bentuk estrogen reseptor berubah. Estrogen reseptor yang mengalami perubahan menimbulkan ikatan estrogen dengan estrogen reseptor aktif, yang memunculkan aktivitas

dengan *binding site* dengan bagian akseptor rantai DNA dan mengakibatkan meningkatnya ekspresi gen. Ekspresi gen hasil katalis yang meningkat oleh enzim RNAPolimerase akan mempengaruhi peningkatan mRNA juga. Peningkatan mRNA menimbulkan aktivitas proliferasi sel epitel vagina sehingga berpengaruh terhadap tebal epitel vagina dan mendorong meningkatnya tRNA sehingga sintesis materi sel akan bertambah (Li *et al.*, 2018).

Ikatan secara tidak langsung, bisa melalui pengaktifan EGF (*Epidermal Growth Factor*) oleh estrogen dengan estrogen reseptor α stroma. Teraktivasinya EGF (tirosin kinase) yang terletak pada epitel akan mengaktifkan protein kinase dalam sitoplasma sel. Teraktivasinya protein kinase merupakan sinyal untuk transkripsi dan translasi aktif sehingga sintesa protein terjadi, sintesa protein ini dibutuhkan untuk sel-sel epitel bermitosis. Pembelahan epitel akan menimbulkan sel berproliferasi dan mempengaruhi ketebalan epitel (Puspitadewi & Sunarno, 2007).

Ketebalan epitel vagina juga dipengaruhi faktor lain yaitu diferensiasi sel epitel vagina. Secara tidak langsung diferensiasi berikatan langsung dengan RE- α pada sel epitel dan RE- α pada sel stroma. Diferensiasi epitel vagina terjadi karena proliferasi epitel. Lapisan epitel vagina akan mengalami perubahan saat mengalami diferensiasi sel seperti berubahnya sel parabasal menjadi sel superficial akhirnya menimbulkan peningkatan ketebalan epitel vagina (Kusmana *et al.*, 2007).

Sel epitel pada vagina sangat rentan terhadap kadar estrogen yang menurun, karena akan menimbulkan penipisan pada epitel. Terdapat dua faktor yang mempengaruhi penipisan epitel vagina yaitu secara tidak langsung dan langsung.

Penipisan secara langsung dikarenakan estrogen berikatan dengan estrogen reseptor tidak dapat mengubah tatanan molekul estrogen reseptor yang menyebabkan tidak terjadinya interaksi dengan *site binding* pada sisi akseptor rantai DNA, hal tersebut mengakibatkan gen tidak dikatalis RNA polymerase sehingga ekspresi gen menurun. Turunnya ekspresi gen mengakibatkan mRNA dan tRNA menurun, menurunnya tRNA menyebabkan sintesis materi sel juga menurun sehingga sel epitel mengalami penipisan (Puspitadewi & Sunarno, 2007).

Ikatan antara estrogen dengan RE- α stroma secara tidak langsung akan menyebabkan penipisan pada epitel vagina. Ketika kondisi hipoestrogen faktor parakrin EGF (tirosin kinase) tidak aktif sehingga tidak bisa mengaktifkan (MAPK) *Mitogen Activated Protein Kinase* dalam sitoplasma sel yang merupakan sinyal penting dalam pengaktifasi translasi dan transkripsi. Proses translasi dan transkripsi yang tidak aktif mengakibatkan sintesa protein yang dibutuhkan untuk sel epitel bermitosis tidak terjadi, akibatnya proliferasi sel epitel terhenti dan menyebabkan penipisan pada epitel vagina. Hal tersebut tersebut akan berpengaruh terhadap suplai aliran darah ke vagina dan menyebabkan penurunan elastisitas vagina (Assa'idah, 2018).

2.9 Indeks Maturasi (IM) Vagina

Indeks Maturasi (MI) adalah teknik evaluasi sampel epitel vagina menggunakan mikroskop yang digunakan untuk mengukur kadar estrogen epitel vagina. IM dapat diperoleh dari permukaan mukosa bukal, vagina ataupun uretra. Terdapat tiga tipe sel yang di hitung pada indeks maturasi yaitu sel parabasal, sel intermediet dan sel superficial (Lindau *et al.*, 2017).

Indeks maturasi dibaca dari kiri ke kanan dan mengacu pada persen sel parabasal, sel intermediet, dan sel superfisial yang terdapat pada apusan, dengan total dan tiga nilai sama dengan 100%. Sebagai contoh, suatu MI 0/40/60 menghadirkan 0% sel parabasal, 40% sel intermediet, dan 60% sel superfisial. Suatu pergeseran ke kiri menandai adanya suatu peningkatan di dalam sel parabasal atau sel intermediet, sedangkan suatu pergeseran di sebelah kanan menandakan suatu peningkatan di dalam sel superfisial atau intermediet (Sari, 2018).

Evaluasi maturasi sel dapat dihitung dengan total sel parabasal sel intermediet, dan sel superfisial, yang mana masing-masing sel dikalikan 0 untuk parabasal, 0,5 untuk intermediet dan 1 untuk superfisial, sehingga akan diperoleh nilai sel yang matur. Apabila didapatkan sel superfisial kurang dari 30% itu artinya efek dari estrogen rendah. Pengaruh estrogen dan jumlah sel matur dapat diketahui pada tabel di bawah ini (Immanuel *et al.*, 2010):

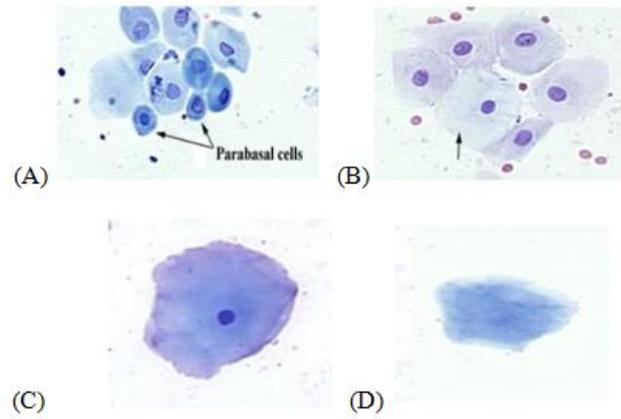
Tabel 2.2 Indeks maturasi vagina

Indeks maturasi (%)	Keterangan
0-49	Efek estrogen rendah
50-64	Efek estrogen sedang
65-100	Efek estrogen tinggi

(Immanuel *et al.*, 2010)

Sel parabasal merupakan sel yang belum dewasa dan sel paling kecil, memiliki bentukan bulat dengan inti didalamnya relatif besar. Sedangkan sel intermediet juga memiliki bentuk yang bulat namun sedikit oval dengan inti didalamnya. Untuk sel superfisial, sel tersebut memiliki bentuk polygonal dan

pipih namun tidak terdapat inti didalamnya, ukurannya juga mudah diamati saat dijadikan apusan vagian, Sel ini juga bisa disebut sel kornifikasi (Sari, 2018).



Gambar 2.9 Jenis sel epitel vagina, keterangan : A. sel parabasal, B. sel intermediet, C. sel superfisial, D. sel kornifikasi (Bowen, 1998)

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan termasuk eksperimental menggunakan (RAL) rancangan acak lengkap terdiri dari lima perlakuan dengan enam ulangan. Perlakuan menggunakan mencit kontrol positif, mencit kontrol negative, mencit normal yang diberi kombinasi nanopartikel ekstrak jeringau (*Acorus calamus*), temu mangga (*Curcuma mangga*), dan bawang putih (*Allium sativum*) dengan dosis 25 dan 50 mg/Kg BB, serta mencit normal yang diberi jamu subur kandungan “jokotole” dosis 10 mg/Kg BB.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan betina model (*Mus musculus*) yang berusia 8 minggu, dengan berat 25-50 gram. Besar sampel yang diperlukan sekitar 30 ekor mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan yang terdiri atas 6 ulangan.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian kali ini adalah :

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas menggunakan kontrol negatif (K-) (Aquadres 1 mg/kg BB), (K+) (klomifen sitrat 0,13 mg/kg BB), (K1) nanopartikel dosis 25 mg/Kg BB, (K2) nanopartikel dosis 50 mg/Kg BB, (K3) jamu subur kandungan jokotole dosis 75 mg/Kg BB.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu proliferasi epitel vagina yang meliputi pengukuran tebal epitel vagina, dan indek maturasi vagina dengan menghitung sel superficial, sel intermediet, dan sel parabasal serta lama fase estrus mencit (*Mus musculus*).

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol penelitian ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) galur Balb-C, umur 8 minggu, jenis kelamin betina, berat 25-50 gram pakan BR1.

3.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Mei-Agustus 2020. Pengamatan siklus estrus dan histologi vagina dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat Penelitian

Berikut adalah alat yang diperlukan dalam penelitian kali ini , timbangan analitik, tempat minum dan makan, kandang hewan coba, spuit 1cc, alat pengekok oral (*gavage*), alat bedah, tempat organ, rotary evaporator ika rv 10, kertas saring whattman, mikrotom leica, pipet pyrex, mikroskop cahaya, objek glass, cover glass, leica tissue processor, memmert water bath.

3.5.2 Bahan

Berikut bahan yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah ,mencit betina (*Mus musculus*) galur balb-c, simplisia bawang putih, temu mangga,

jeringau, jamu subur kandungan "jokotole madura", pmsg, hcg, NaCl merck, etanol merck 70%, pakan bri, giemsa merck, formalin 10%, paraffin merck, xylo merck, alcohol merck 70%, 80%,96%, hematoksin dan eosin (merck)

3.6 Kegiatan Penelitian

3.6.1 Persiapan Hewan coba

Siapkan tempat hewan coba untuk pemeliharaan antara lain kandang (bak plastik), tutup kandang berupa kawat ram, tempat minum dan makan, dan sekam. Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama dua minggu, diberi minum dan makan BR1 secara *ad libitum*.

3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel

Penelitian ini tersusun dari lima macam perlakuan. Banyak sampel yang digunakan adalah 30 ekor mencit. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari enam ekor mencit sebagai ulangan. Kelompok perlakuan dibagi sebagaimana berikut :

Penelitian terdiri atas 30 ekor mencit yang di kelompokkan menjadi 5 macam perlakuan dan 6 ulangan, yaitu:

1. Kontrol + (perlakuan kontrol positif/K+) mencit diberi kломifen sitrat 0,13 mg/kg BB
2. Kontrol - (perlakuan kontrol negative/ K-) Mencit diberi 1 ml aquades.
3. Kelompok 1 (perlakuan 1) Mencit diberi perlakuan kombinasi nanopartikel ekstrak dosis 25 mg/Kg BB.
4. Kelompok 2 (perlakuan 2) Mencit diberi perlakuan kombinasi nanopartikel ekstrak dosis 50 mg/Kg BB.
5. Kelompok 3 (perlakuan 3) Mencit diberi perlakuan jamu subur kandungan "jokotole" dosis 75 mg/Kg BB.

3.6.3 Preparasi Sampel Tumbuhan

Sampel yang dibutuhkan yaitu simplisia rimpang jeringau (*Acorus calamus*), temu mangga (*Curcuma mangga*), dan umbi bawang putih (*Allium sativum*), yang didapatkan dari UPT. Materia Medika Batu (MMB), simplisian tersebut dikombinasi untuk diekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Selanjutnya, ekstrak diuapkan untuk memisahkan pelarut dan laurtannya dengan menggunakan *rotary evaporator*

3.6.4 Ekstraksi Simplisia dengan Metode Maserasi

36 g simplisia *Allium sativum*, 36 g simplisia *Curcuma mangga*, dan 28 g simplisia rimpang *Acorus calamus* dicampur dan dituangkan kedalam erlenmeyer 500 ml, selanjutnya tambahkan sebanyak 300 ml etanol 70% dan rendam selama 24 jam. Kemudian gunakan kertas saring whattman untuk memisahkan ampas dan cairan yang didapat. Ampas hasil maserasi pertama dimaserasi kembali menggunakan etanol 70% dan di ulang 3 kali hingga filtrate bewarna bening. Hasil maserasi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak yang pekat (Chairunnisa *et al.*, 2019)

3.6.5 Pembuatan Nanopartikel

Disiapkan 0,5% (0,5mL) asam asetat glasial dalam 100 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan 0,5% (0,5 gram) kitosan dan dihomogenkan. Setelah itu ditambahkan larutan STPP 0,5% (0,1 gram) sebanyak 20 mL dan dihomogenizer selama 10 menit dalam kecepatan 1000 rpm. Kemudian tambahkan 0,1 gram kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Acorus calamus* dan *curcuma mangga* dihomogenizer pada kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 1 mL tween 80 dan dihomogenizer selama 60 menit pada kecepatan

4000 rpm. Campuran yang didapatkan selanjutnya disonikasi pada frekuensi 20 kHz dengan amplitude 80% selama 90 menit. Setelah itu hasil sonikasi dimasukkan dalam tes tube ukuran 15 mL untuk disentrifugasi. Pellet hasil sentrifugasi kemudian dikeringkan di dalam incubator dengan suhu 40°C. Setelah kering, pellet digerus dengan nitrogen dan disaring untuk memperoleh serbuk nanopartikel (Pakki *et al.*, 2016).

3.6.6 Penyerentakan Siklus Estrus

Larutkan PMSG 500 IU dalam aquades sebanyak 5 ml (200 IU/ml), lalu ambil 1 ml dan tambahkan 3 ml aquades (50 IU/ml). Induksikan secara intraperitoneal pada mencit sebanyak 0,05 ml (5 IU). Untuk pembuatan larutan hCG 5 IU, larutkan hCG 1500 IU dalam aquades sebanyak 5 ml (300 IU/ml), ambil 1 ml lalu encerkan dengan aquades sebanyak 5 ml (50 IU/ml). Induksikan secara intraperitoneal pada mencit sebanyak 0,05 ml (5 IU). Penyerentakan dilakukan dengan menginduksi hCG terlebih dahulu, setelah 48 jam dilanjutkan pemberian PMSG, setelah itu cek siklus estrus 17 jam setelahnya (Martin *et al.*, 2008).

3.6.7 Pemeriksaan Siklus Estrus Melalui Apusan Vagina

Pengecekan siklus estrus, pertama membuat preparat apusan vagina, pukul 06.00-07.00 WIB dan 18.00-19.00 WIB selama 15 hari. Pembuatan apusan dilakukan menggunakan pipetyang didalamnya terdapat larutan NaCl, pipet dimasukkan secara perlahan ke dalam vagina mencit dengan mengeluarkan larutan NaCl dan disedot kembali hingga beberapa kali ulangan. Hasilnya ditetaskan pada objek glass dan tunggu sampai kering. Setelah apusan kering tetesi apusan dengan larutan metanol 10% untuk difiksasi 3 menit. Setelah itu tetesi

apusan dengan giemsa selama 5 menit dan bilas dengan aquades, tunggu sampai kering. Kemudian amati apusan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10× dan 40×. Fase estrus dapat ditentukan dengan melihat perbandingan sel menanduk, sel epitel berinti, dan leukosit (Assa'idah, 2018).

3.6.8 Penentuan Dosis Jamu Subur Kandungan

Pemberian dosis merujuk pada cara minum jamu subur kandungan produksi PJ. Ribkah Maryam Jokotole. Hasil perhitungan adalah sebagai berikut :

Dosis jamu subur kandungan untuk manusia adalah 4000 mg/60 kgBB.

Dosis untuk per Kg BB = 4000 : 60

= 66,6 mg/Kg BB. Dibulatkan menjadi 75 mg/Kg BB

3.6.9 Pemberian Perlakuan

Mencit diaklimatisasi selama 2 minggu, kemudian dilakukan sinkronisasi siklus estrus menggunakan PMSG dan hCG dengan dosis 5 IU tiga hari kemudian diberi kombinasi nanopartikel ekstrak. Pemberian kombinasi nanopartikel ekstrak dapat dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung. Pemberian kombinasi nanopartikel ekstrak dilakukan setiap pukul 09.00 pagi selama 15 hari (3 kali siklus estrus). Di akhir penelitian mencit dikorbankan dan dibedah pada fase estrus.

3.6.10 Pembuatan Preparat Histologi

Metode pembuatan preparat histologi dilakukan menggunakan paraffin dan pewarnaan Hematoxylin-eosin. Terdapat beberapa tahapan dalam membuat preparat histologi antara lain, fiksasi, dehidrasi, clearing, infiltrasi, embedding, sectioning, dan staining untuk melihat perubahan struktur jaringan pada vagina(Assa'idah, 2018).

a. Tahap Fiksasi

Tahap ini vagina mencit direndam dalam larutan formalin 10% selama 1 jam lalu di ulang 2 kali dengan larutan berbeda.

b. Tahap Dehidrasi

Tahap dehidrasi, vagina direndam 1 jam dalam larutan etanol 70%, selanjutnya dipindah pada etanol 80%, rendam lagi pada etanol 95% 2 kali dan rendam selama 1 jam dalam etanol absolut kemudian ulang 2 kali pada etanol absolute yang berbeda.

c. Tahap Clearing (penjernihan)

Tahap clearing, vagina dibersihkan untuk menghilangkan kadar etanol menggunakan xylol I dilanjutkan ke xylol II selama masing-masing 1,5 jam.

d. Tahap Embedding

Tahap ini, vagina ditanam dalam *embedding cassette* untuk difiltrasi dengan paraffin cair, lalu biarkan paraffin mengeras dan masukkan dalam freezer selama 1 jam.

e. Tahap Section

Tahap ini, vagina dalam embedding cassette dikeluarkan untuk dipotong pada mikrotom dengan tebal $\pm 5\mu$. Hasil potongan diletakkan kedalam waterbath suhu 40°C, sayatan di objek glass disiamkan selama 12 jam sampai kering.

f. Tahap staining

Tahap ini, hasil potongan diberi warna dengan Hematoxyline-Eosin melalui beberapa tahap antara lain, rendam preparat dalam xylol 1 selama 10 menit, dilanjutkan preparat direndam selama 5 menit pada xylol ke 2, setelah di rendam dalam xylol preparat direndam pada etanol absolute selama 5 menit,

kemudian direndam selama 30 detik dengan etanol 96% lalu etanol 50% dengan waktu yang sama.

Preparat selanjutnya dimasukkan dalam air selama 5 menit untuk selanjutnya direndam dengan hematoksilin 1-5 menit. Bilas preparat dengan air sampai warna hematoksilin memudar. Lanjutkan rendam preparat ke dalam eosin selama 1-5 menit. Kemudian rendam preparat dalam etanol 75% selama 5 detik, lalu rendam selama 5 detik dalam etanol absolut ulangi hal tersebut pada etanol absolut berbeda sebanyak 3 kali. Rendam kembali preparat pada xylo 3 selama 5 menit, lalu pindahkan pada xylo 4 selama 5 menit, terakhir rendam pada xylo 5 selama 10 menit, ambil preparat dari xylo 5 dan tetesi entelan, terakhir preparat ditutup dengan cover glass dan didiamkan sampai kering.

3.6.11 Teknik Pengambilan Data

Data fase estrus diambil dengan cara membuat apusan vagina selama 15 hari dimulainya perlakuan, pengamatan sel meliputi, sel parabasal, sel superficial dan sel intermediet. Selain itu amati lama fase estrus, hasil yang didapatkan selanjutnya dibandingkan dengan perlakuan kelompok lain.

Setelah 15 hari perlakuan dilakukan pengambilan sampel vagina. Mencit didislokasi leher kemudian lakukan pembedahan secara vertikal dimulai dari posterior abdomen dengan membuka rongga perut serta Untuk pembuatan preparat histologi, organ vagina diambil untuk difiksasi dengan formalin 10%.

3.7 Analisis Data

Data apusan vagina selama 15 hari setelah perlakuan ditentukan persentase jumlah sel dalam fase estrus, lalu dianalisa secara deskriptif menggunakan uji ANOVA. Ketika ditemukan perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji lanjut.

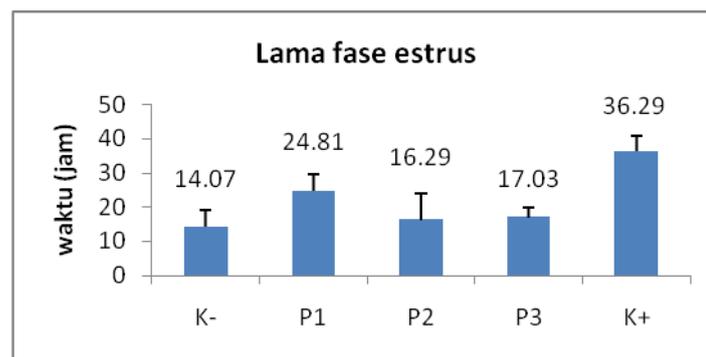
Indeks maturasi (IM) didapatkan dari jumlah sel parabasal, sel intermediet dan sel superficial kemudian dimasukkan skala PB:I:S. IM selanjutnya di evaluasi dimikroskop dengan menjumlahkan sel parabasal, intermediet, dan superficial dalam satu lapang pandang. Dalam satu preparat lakukan sampai delapan lapang pandang. Kemudian total sel parabasal dikalikan 0, intermediet dikalikan 0,5, dan superficial dikalikan 1. Ketiganya kemudian ditotal untuk didapatkan hasil sel yang matur.

Gambar histologi vagina yang sudah difoto menggunakan OptiLab lalu ketebalannya diukur dengan aplikasi Image Raster diawali dari pinggir lumen epitel vagina. lakukan sampai 8 kali lapang pandang pada setiap kelompok perlakuan. Data ketebalan epitel vagina tiap kelompok selanjutnya dianalisis dengan SPSS dengan uji normalitas, uji homogenitas, dan dilanjutkan uji ANOVA. Apabila hasilnya menunjukkan $p < 0,05$ maka dilakukan uji lanjut untuk melihat perbedaan setiap kelompok perlakuan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Nanopartikel ekstrak Kombinasi *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap lama fase estrus Mencit (*Mus musculus*)

Periode estrus yaitu periode yang ditandai dengan diterimanya jantan oleh betina untuk berkopulasi, fase ini ditandai dengan perubahan ovum kearah yang lebih matang serta pematangan dan pembesaran folikel de graaf, biasanya fase ini terjadi selama 12 jam dan persediaan darah ke vagina meningkat sehingga epitel vagina mengalami kornifikasi dengan cepat. Berikut grafik rata-rata lama fase estrus mencit pada setiap kelompok setelah diberi perlakuan (gambar 4.1).



Gambar 4.1 Grafik rata-rata lama fase estrus mencit pada setiap kelompok yang sudah diberi perlakuan.

Hasil pada kelompok K+ dengan pemberian klomifen sitrat menunjukkan estrus yang lebih panjang dibandingkan dengan kelompok lainnya. Begitu juga pada kelompok P1 dengan pemberian nanopartikel dosis 25 mg/BB mengalami perpanjangan fase estrus selama 24,81 jam, sedangkan pada kelompok P2 dengan pemberian nanopartikel dosis 50 mg/BB dan P3 dengan pemberian jamu subur kandungan dosis 70 mg/BB juga mengalami perpanjangan waktu estrus akan tetapi tidak berbeda jauh jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Data hasil rata-rata lama fase estrus kemudian diuji normalitasnya dengan uji *kolmogorov-smirnov* dan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene*. Hasil dari kedua uji tersebut memperlihatkan data rata-rata lama fase estrus mencit terdistribusi homogen dan normal dengan nilai $p = 0,6$ ($p > 0,05$). Selanjutnya data dianalisis menggunakan one way anova untuk mengetahui pengaruh yang dihasilkan terhadap lama fase estrus mencit, data hasil uji one way anova dapat dilihat pada lampiran 2 halaman 60. Hasil lama fase estrus dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Data Hasil Rata-rata Lama Fase Estrus Mencit yang Dipengaruhi Beberapa Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Lama Estrus Mencit (Jam) \pm SD
K-	14.07 \pm 4.85
P1	24.81 \pm 4.80
P2	16.29 \pm 7.58
P3	17.03 \pm 2.77
K+	36.29 \pm 4.59

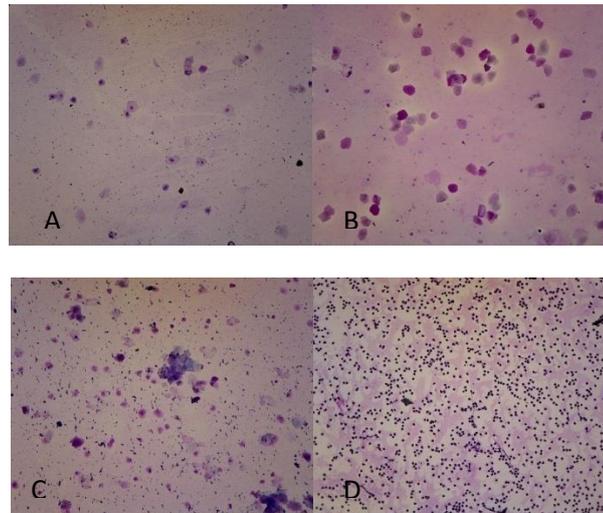
Rata-rata hasil penelitian mengenai lama fase estrus antara lain K- (14,07), P1 (24,81), P2 (16,29), P3 (17,03), dan K+ (36,29) (tabel 4.1). secara keseluruhan menurut tabel 4.1 rata-rata lama fase estrus pada setiap kelompok mengalami perpanjangan melebihi durasi kelompok (K-) yaitu 12 jam menurut Suryanto (2015), dan Akbar (2010). Berdasarkan hasil uji one way anova dapat diketahui bahwa $F_{hitung} < F_{tabel}$ 5% sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. Dengan begitu, data dapat diuji lanjut menggunakan Duncan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, dan diperoleh hasil notasi seperti tabel 4.2

Tabel 4.2 Pengaruh pemberian beberapa perlakuan terhadap fase estrus mencit menggunakan uji Duncan

Perlakuan	Lama fase estrus(jam)	Notasi
K-	14.07	a
P1	24.81	ab
P2	16.29	a
P3	17.03	a
K+	36.29	b

Keterangan : Huruf yang berbeda pada tabel notasi menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara kontrol dan perlakuan

Nilai hasil lama fase estrus didapatkan dari gambaran apusan vagina mencit yang sudah di beri perlakuan. Fase estrus diamati melalui pengamatan apusan vagina dibawah mikroskop menggunakan pewarna giemsa. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop binokuler Nikon E dan bantuan optiLab dan komputer. Gambar apusan vagina dapat dilihat di bawah ini:



Gambar 4.2 Hasil pemeriksaan setiap fase siklus estrus

Keterangan : A. Proestrus, B. estrus, C. Matestrus, D. Diestrus. perbesaran 100x Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop binokuler Nikon E dan bantuan optiLab

Gambaran sel pada setiap fase ditampilkan dalam bentuk mikroskopis seperti pada (gambar 4.1) terlihat dominasi sel-sel epitel berinti pada fase proestrus, sel memiliki inti ditengahdan berbentuk oval. sedangkan adanya sel kornifikasi (sel bertanduk) yang mendominasi muncul secara bertumpuk atau

tunggal terjadi pada saat fase estrus. Fase metestrus terlihat adanya sel epitel berini, sel kornifikasi, dan leukosit yang jumlahnya hampir sama, sedangkan pada fase diestrus terlihat banyaknya jumlah sel leukosit pada pengamatan.

Berdasarkan hasil penelitian pada kelompok P1 dan K+ menunjukkan hasil tertinggi dan berbeda nyata dengan kelompok K-, P2, dan P3. Hal ini dikarenakan kломifen sitrat yang diberikan pada kelompok K+ memiliki sifat estrogenik yang mana sifat tersebut mampu menginduksi ovulasi (Huang, 2017). Selain itu menurut (Sovino *et al.*, 2002) mekanisme kerja kломifen sitrat ini dengan mempengaruhi kadar estrogen reseptor pada hipotalamus yang mana akan menurunkan konsentrasi reseptor estrogen endogen, tidak cukupnya daya reseptor berpengaruh pada kurangnya sinyal estrogen endogen sehingga muncul respon kompensasi dimana GnRH akan meningkatkan aktivitas folikel.

Perpanjangan lama fase estrus pada kelompok P1 dan P2 dapat terjadi karena nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga, dan jeringau yang diberikan mengandung fitoestrogen yang diduga bisa berikatan dengan (ER- β) reseptor estrogen pada epitel vagina akhirnya proliferasi epitel vagina dan kornifikasi sel epitel vagina terjadi (Akiles & Simatauw, 2019). Pengaruh fitoestrogen nanopartikel ekstrak ketiga tumbuhan tersebut ditunjukkan dengan lama fase estrus yang memanjang hingga melebihi waktu kelompok kontrol (K-). (Safrida, 2008) menyatakan bahwa struktur kimia dan mekanisme kerja pada kandungan fitoestrogen hampir sama dengan estrogen endogen, apabila dosis yang diberikan sesuai dan tepat, jadi dapat dinyatakan pemberian nanopartikel kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau mampu meningkatkan kadar 17 β -estradiol dalam darah mencit.

Berdasarkan hasil penelitian pada kelompok P1 memiliki panjang fase estrus 24,81 jam lebih panjang jika dibandingkan dengan kelompok P2 yaitu 16,29 jam, Efek estrogen yang tinggi pada kelompok P1 menunjukkan kombinasi nanopartikel ekstrak 25 mg/BB mampu meningkatkan perpanjangan fase estrus pada mencit. Sehingga dosis yang efektif dalam meningkatkan efek estrogen terhadap proliferasi epitel vagina adalah dosis 25 mg/BB. Hal ini dikarenakan senyawa yang dimiliki oleh ketiga kombinasi nanopartikel ekstrak senyawa alkaloid, tripenoid, dan flavonoid yang dapat merangsang pembentukan estrogen dalam tubuh sehingga mempengaruhi pembelahan sel dan proses penadukan (kornifikasi) epitel vagina.

Terdapat dua jenis reseptor estrogen yang paling umum di jumpai yaitu reseptor α dan reseptor β (ER α & ER β), ekspresi dari ER β lebih banyak ditemukan pada daerah ovarium, kelenjar payudara, permukaan mulut rahim, paru-paru, kelenjar adrenal, dan permukaan epitel dari vagina. Fitoestrogen ini memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap ER β , adanya ikatan antara estrogen dengan ER β pada permukaan vagina menyebabkan maturasi pada epitel (Yuwono *et al.*, 2018). Hal ini sejalan dengan referensi (Akiles & Simatauw, 2019) yang menyatakan jika pemberian nanopartikel ekstrak kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau mengakibatkan folikel berkembang karena terkandung saponin yang termasuk bahan dasar dalam sintesis hormon steroid.

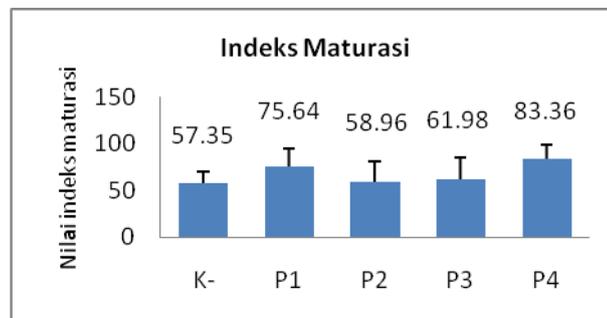
Fase estrus terjadi karena sekresi hormon estrogen yang semakin tinggi, sehingga sel epitel vagina bertransformasi menjadi sel kornifikasi. Tingginya kadar estrogen dapat meningkatkan konsentrasi *Luteinizing Hormone* (LH) sehingga ovulasi terjadi, sebelum ovulasi folikel akan membesar serta ovum

mengalami pematangan. Meningkatnya kandungan estrogen dalam waktu yang lama bisa menimbulkan mekanisme umpan balik positif terhadap LH (Sherwood, 2001). Terjadi perpanjangan waktu pada fase estrus pada kelompok P1 dan P2 jika dibandingkan dengan K-, hal ini dipengaruhi oleh tingginya konsentrasi estrogen yang berasal dari nanopartikel kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau. Pada fase estrus kandungan estrogen tinggi sesuai perkembangan folikel de Graaf, apalagi dengan pemberian nanopartikel kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau yang dapat terhubung dengan reseptor estrogen sehingga kandungan estrogen menjadi semakin tinggi dan menimbulkan estrus dipertahankan. Pemanjangan fase ini akan memberi peluang folikel matang lebih banyak dan estrogen tersekresi sehingga betina mau menerima perkawinan dari hewan jantan (Salisbury & Van Demark, 1985).

Penyusun utama nanopartikel ekstrak adalah bawang putih, temu mangga dan jeringau. Bawang putih mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, steroid, saponin, tanin. Temu mangga memiliki senyawa antioksidan seperti flavonoid, flavon, glikosida, antrakinon. Sedangkan pada jeringau terdapat senyawa fenilpropan, monoterpena dan termolabiles seskuiterpenoid yang berfungsi sebagai anti-inflamasi, antioksidan, antiseptik, antibakteri, dan antijamur. Sehingga kombinasi tersebut memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi (Mughtaromah *et al.*, 2019). Selain itu senyawa aktif dalam kombinasi ketiga tumbuhan tersebut mampu merangsang pembentukan estrogen pada mamalia karena strukturnya yang mirip dengan estrogen dan berperan sebagai fitoestrogen yang berikatan dengan reseptor estrogen dalam organ vagina khususnya pada lapisan epitel.

4.2 Pengaruh Nanopartikel ekstrak Kombinasi *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap indeks maturasi vagina mencit (*Mus musculus*)

Peningkatan hormon estrogen dalam tubuh menyebabkan proliferasi sel epitel, pembelahan sel, dan proses penandukan sel epitel pada vagina. Indeks maturasi berfungsi sebagai cara pengukuran kualitatif untuk mengetahui pengaruh hormon estrogen dengan menghitung banyak sel superfisial, sel intermediet, dan sel parabasal. Berikut grafik rata-rata indeks maturasi mencit pada setiap kelompok setelah diberi perlakuan gambar.



Gambar 4.3 Grafik nilai rata-rata indeks maturasi vagina mencit

Grafik tersebut menunjukkan nilai indeks maturasi pada kelompok K- yaitu kontrol, kelompok P1 yang diberi nanopartikel kombinasi dosis 25 mg/BB, kelompok P2 dengan pemberian nanopartikel kombinasi dosis 50 mg/BB, kelompok P3 yaitu pemberian jamu subur kandungan dan K+ yang diberi kломifen sitrat. Data hasil perhitungan sel tersebut di uji normalitasnya dengan uji *kolmogorov-smirnov* dan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene*. Hasil dari kedua uji tersebut menunjukkan bahwa data rata-rata indeks maturasi mencit terdistribusi homogen dan normal dengan nilai $p = 0,5$ ($p > 0.05$). Hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Data Hasil Rata-rata indeks maturasi Mencit yang Dipengaruhi Beberapa Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata IM \pm SD	Keterangan	Sumber
K-	57.35 \pm 12.50	Efek estrogen sedang	Immanuel, 2010
P1	75.64 \pm 19.70	Efek estrogen tinggi	Immanuel, 2010
P2	58.96 \pm 22.65	Efek estrogen sedang	Immanuel, 2010
P3	61.98 \pm 22.99	Efek estrogen sedang	Immanuel, 2010
K+	83.36 \pm 16.18	Efek estrogen tinggi	Immanuel, 2010

Rata-rata hasil penelitian terhadap indeks maturasi epitel vagina mencit ditunjukkan pada tabel 4.3 pada kelompok mencit normal (K-) memiliki rerata nilai indeks maturasi sebesar 57,35 % efek estrogen tergolong sedang , pada kelompok P1 nilai indeks maturasi 75,64% efek estrogen tinggi, kelompok P2 nilai indeks maturasi 58,96% efek estrogen tergolong sedang , yang sama dengan kelompok P3 memiliki indeks maturasi 61,98% , sedangkan pada kelompok K+ nilai indeks maturasinya sebesar 83,36% memiliki efek estrogen yang tinggi (Immanuel *et al.*, 2010). Kemudian data dianalisis menggunakan one way anova agar mengetahui pengaruh yang dihasilkan terhadap indeks maturasi vagina mencit, data hasil uji one way anova dapat dilihat pada lampiran 3 halaman 64. Hasil dari uji anova menunjukkan nilai $p = 0,10$ ($p > 0.05$) artinya H_0 diterima

maka tidak ada pengaruh yang signifikan terhadap kelompok perlakuan. Sedangkan distribusi sel epitel vagina dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Distribusi Sel Epitel Vagina Setelah Pemberian Perlakuan

Perlakuan	Rata-rat sel		
	Parabasal %	Interemediet %	Superficial %
K-	29.91	39.40	37.65
P1	14.44	19.82	65.73
P2	23.87	34.31	41.81
P3	19.57	36.86	43.55
K+	9.33	14.59	76.07

Berdasarkan hasil penelitian pada kelompok P1 dan K+ menunjukkan bahwa efek estrogen terhadap epitel vagina tinggi sedangkan pada kelompok K-, P2, dan P3 memiliki efek estrogen yang tergolong sedang. Hal ini dikarenakan kломifen sitrat yang diberikan pada kelompok K+ memiliki sifat estrogenik maupun antiestrogenik yang mana sifat tersebut mampu menginduksi ovulasi (Huang, 2017). Sedangkan tingginya efek estrogen pada kelompok P1 disebabkan karena pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga, dan jeringau mengandung fitoestrogen yang dapat berikatan dengan (ER- β) reseptor estrogen pada epitel vagina sehingga terjadi proliferasi epitel vagina (Akiles & Simatauw, 2019). Pada kelompok P2 nilai indeks maturasi lebih rendah jika dibandingkan dengan P1 yaitu 58,96%, hal ini dikarenakan dosis yang diberikan justru memberikan feedback positif pada hipotalamus sehingga GnRH tidak tersekresi dan tidak dapat merangsang pengeluaran FSH (*Follicel Stimulating Hormone*) dan tidak terjadi ovulasi hal tersebut menyebabkan menurunnya

pembelahan dan proses kornifikasi pada sel epitel vagina (Gulton & Simanjutak, 2020)

Fitoestrogen sendiri mampu berperan antagonis ataupun agonistik di dalam tubuh, hal ini dapat dipengaruhi oleh konsentrasi estrogen endogen dalam tubuh, menurut (Assa'idah, 2018) estrogen dapat berperan antagonis ataupun agonistik tergantung pada konsentrasinya sendiri atau konsentrasi estrogen lingkungan. Pada kelompok P3 dengan pemberian jamu subur kandungan "jokotole" dosis 75mg/BB memiliki indeks maturasi 61,98%, lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok P1, hal ini bisa dipengaruhi berbagai faktor antara lain adalah ukuran partikel yang dimiliki jamu subur kandungan yang berbeda dengan kombinasi nanopartikel ekstrak, seperti yang diketahui menurut (Ramadon & Mun'im, 2016) nanopartikel dapat memperbaiki jumlah presentase obat yang masuk dalam oral dari obat-obatan yang memiliki kelarutan rendah. Karena ukuran yang sangat kecil nanopartikel dapat membantu penghantaran suatu obat untuk melewati membran, karena ukurannya yang sangat kecil, nanopartikel memiliki peluang untuk meninggalkan sistem vaskuler serta memasuki tempat yang terjadi peradangan dengan waktu yang lebih singkat.

Berdasarkan tabel 4.4 presentase sel superfisial kelompok K+ lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lain yaitu 76.07%, tingginya presentase sel superfisial ini disebabkan karena tingginya efek estrogen dalam tubuh mencit. Hal ini dikarenakan klomifen sitrat memiliki sifat estrogenik maupun antiestrogenik yang mana sifat tersebut mampu menginduksi ovulasi sehingga mempengaruhi proses pembelahan dan kornifikasi epitel vagina. Presentase sel superfisial tertinggi selanjutnya adalah pada kelompok P1 dengan nilai 65.73%, hal ini

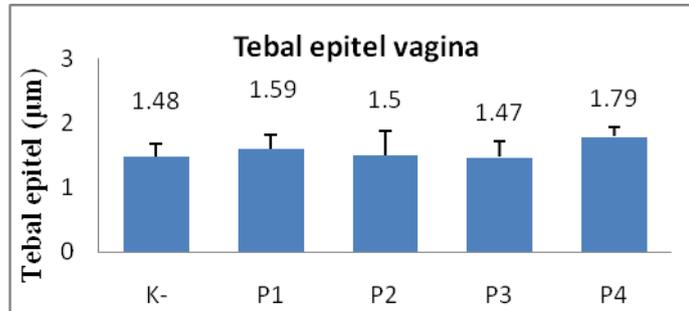
menunjukkan bahwa efek estrogen dalam tubuh mencit juga tinggi. Besarnya nilai presentase sel superficial ini sejalan dengan lamanya fase estrus yang dialami mencit. Pada fase estrus, sel epitel superficial akan lebih mendominasi jika dibandingkan pada fase mastestrus, diestrus, bahkan proestrus (Siregar *et al.*, 2016).

Nanopartikel kombinasi dari jeringau, temu mangga dan bawang putih mempunyai kandungan senyawa yang termasuk fitoestrogen sehingga dapat berperan seperti estrogen endogen karena mampu menempati reseptor estrogen tubuh yang bisa meningkatkan pengaruh estrogen, tetapi keterikatan fitoestrogen akan reseptor estrogen tidak begitu tinggi jika dibandingkan dengan estrogen endogen. Fitoestrogen memiliki mekanisme kerja dalam jaringan dengan berikatan dengan reseptor estrogen. Menurut (Assa'idah, 2018) fitoestrogen berikatan dengan reseptor merupakan rangkaian dari kerja hormonal, menimbulkan respon menguntungkan tubuh. Ketika konsentrasi estrogen rendah, maka banyak kelebihan reseptor estrogen yang tidak terikat, meskipun afinitasnya rendah, fitoestrogen mampu terhubung dengan reseptor tersebut. Apabila tubuh memperoleh fitoestrogen, maka terjadi pengikatan reseptor estrogen dengan fitoestrogen yang memberikan efek menguntungkan bagi tubuh.

4.3 Pengaruh Nanopartikel Ekstrak Kombinasi *Allium Sativum*, *Curcuma Mangga*, Dan *Acorus Calamus* Terhadap Tebal Epitel Vagina Mencit (*Mus Musculus*)

Struktur histologi vagina terdiri atas serosa, muskularis, dan mukosa. Lapisan mukosa tersusun atas sel-sel epitel squamosal. Mukosa yang mengalami perubahan akan menunjukkan berbagai kondisi secara fungsional berhubungan dengan siklus estrus hewan tersebut. Pada proses proliferasi sel, diferensiasi sel

dan maturasi sel ukosa vagina akan mengalami pembaharuan, hal ini terjadi karena pengaruh dari hormone estrogen (Kallak, 2015). Berikut grafik rata-rata tebal epitel vagina sesudah diberi perlakuan dapat dilihat pada gambar 4.4



Gambar 4.4 Grafik rata-rata tebal epitel vagina mencit setelah diberi perlakuan

Grafik tersebut menunjukkan nilai tebal epitel vagina pada kelompok K- yaitu kontrol, kelompok P1 yang diberi nanopartikel kombinasi dosis 25 mg/BB, kelompok P2 dengan pemberian nanopartikel kombinasi dosis 50 mg/BB, kelompok P3 yaitu pemberian jamu subur kandungan dan kelompok K+ yang diberi kломifen sitrat. Data hasil perhitungan sel tersebut diuji normalitasnya dengan uji *kolmogorov-smirnov* dan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene*. Hasil dari kedua uji tersebut menunjukkan bahwa data rata-rata indeks maturasi mencit terdistribusi normal dan homogen dengan nilai $p = 0,5$ ($p > 0.05$). Hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.4

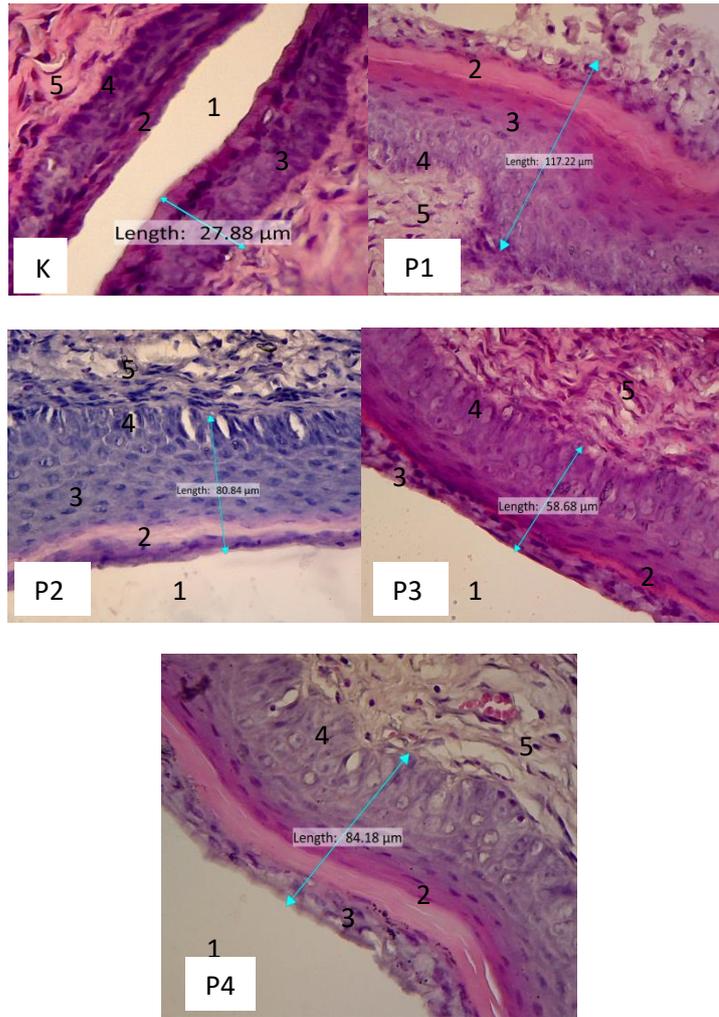
Tabel 4.5 Data Hasil Rata-rata tebal epitel vagina Mencit yang Dipengaruhi Beberapa Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata tebal epitel vagina $\mu\text{m} \pm \text{SD}$
K-	1.48 ± 0.20
P1	1.59 ± 0.22
P2	1.5 ± 0.37

P3	1.47 ± 0.24
K+	1.79 ± 0.15

Rata-rata hasil penelitian terhadap indeks maturasi epitel vagina mencit ditunjukkan pada tabel 4.4 pada kelompok mencit normal (K-) memiliki rerata nilai sebesar 1,48 μm , pada kelompok P1 nilai 1,59 μm , kelompok P2 nilai tebal epitel 1,5 μm , selanjutnya pada kelompok P3 memiliki ketebalan 1,47 μm , sedangkan pada kelompok K+ nilai ketebalan 1,79 μm . Kemudian data dianalisis menggunakan one way anova untuk mengetahui pengaruh yang dihasilkan terhadap tebal epitel vagina vagina mencit. Hasil dari uji anova menunjukkan nilai $p = 0,15$ ($p > 0.05$) artinya tidak ada perbedaan nyata terhadap kelompok perlakuan.

Nilai hasil tebal epitel vagina didapatkan dari gambar histologi vagina mencit yang sudah di beri perlakuan. Ketebalan epitel diamati melalui pengamatan histologi vagina dibawah mikroskop dengan pewarnaan HE (hemaktosilin & eosin). Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop binokuler Nikon E dan bantuan optiLab serta computer. Adapun gambar histologi vagina dapat dilihat dibawah ini:



Gambar 4.5 Histologi Vagina Mencit Setelah Perlakuan (pewarnaan HE)

Keterangan : 1. Lumen vagina, 2. Sel superficial, 3. Sel intermediet, 4. Sel parabasal, 5. Lamina propria. Perbesaran 400x

Berdasarkan gambar 4.4 nilai rata-rata tebal epitel vagina mencit normal (K-) adalah 1,48 μm , kelompok P1 yang diberi nanopartikel kombinasi dosis 25 mg/BB 1,59 μm sedangkan pada P2 dengan pemberian nanopartikel kombinasi dosis 50mg/BB senilai 1,50 μm . Dari data nilai tersebut dapat dilihat bahwasanya pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak jeringau, temu mangga dan bawang putih dapat mempengaruhi ketebalan epitel vagina. Hal ini dikarenakan kandungan hormone estrogen pada kelompok P1 dan P2 tinggi dan terjadi saat masa folikuler (Narulita et al., 2017). Pada kelompok P3 yang diberi perlakuan jamu subur kandungan “jokotole” juga mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu 1,47 μm akan tetapi tidak berbeda jauh secara statistik. Hal tersebut bisa terjadi karena partikel yang dimiliki oleh jamu subur kandungan lebih besar jika dibandingkan dengan nanopartikel kombinasi ekstrak jeringau, temu mangga dan bawang putih sehingga proses penyerapan kedalam membrane membutuhkan waktu yang lama. Menurunnya kadar estrogen pada kelompok P3 mengakibatkan kurangnya estrogen untuk merubah susunan reseptor estrogen (ER), mengakibatkan tidak adanya interaksi antar estrogen dengan reseptor estrogen pada sisi akseptor DNA. Ekspresi gen menurun dimana gen tidak dikatalisis oleh enzim RNA polymerase yang akhirnya menyebabkan penurunan mRNA. Pada sisi lain tRNA juga menurun, sintesis materi sel menjadi menurun dan menyebabkan terjadinya penipisan pada sel epitel (Ferdina et al., 2019)

Tingginya nilai tebal epitel pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan bahwa konsentrasi estrogen dalam organ tersebut tinggi, sehingga menyebabkan penebalan pada dinding vagina. Menurut (Hendri, 2013) estrogen menimbulkan proliferasi epitel vagina dan peningkatan mitosis serta proses penadukan pada sel

epitel. Pembelahan sel epitel ini menyebabkan terjadinya penebalan epitel vagina menunjukkan adanya perkembangbiakan sel epitel. Penebalan dinding vagina dipengaruhi oleh diferensiasi sel epitel vagina. Diferensiasi adalah perubahan fungsi dan kematangan unit struktural. Menurut (Assa'idah, 2018) , diferensiasi sel dapat dilihat dari perubahan sitologi epitel vagina, seperti berubahnya sel parabasal menjadi sel superfisial merupakan penyebab keratosis dinding epitel vagina.

Proliferasi epitel tidak hanya dipengaruhi oleh fitoestrogen yang terdapat dalam nanopartikel kombinasi jeringau, temu mangga dan bawang putih, akan tetapi ada peran dari senyawa-senyawa lain didalamnya, seperti adanya aktifitas antioksidan. Menurut (Muchtarmah *et al.*, 2017) Kombinasi ketiga tumbuhan ini memiliki aktivitas antioksidan, yang diperoleh dari kandungan triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid. Kandungan senyawa pada masing-masing tanaman tersebut akan menimbulkan aktivitas antioksidan yang dapat memperbaiki organ reproduksi yang rusak, sehingga meningkatkan kesuburan. Vagina memiliki fungsi yang vital sebagai pelindung, sehingga pengukuran ketebalan vagina penting untuk mengetahui pengaruhnya terhadap obat-obatan dan transfer patogen di epitel, hal ini menunjukkan pentingnya ketebalan epitel dalam fungsi pelindung vagina (Vincent *et al.*, 2013).

Hasil penelitian yang telah diselesaikan menunjukkan bahwa pada dosis P1 dosis 25 mg / BB dapat mempertebal epitel vagina. Hal ini dikarena pada dosis tersebut, senyawa dari kombinasi nanopartikel memiliki kadar fitoestrogen optimal yang dibutuhkan oleh tubuh manusia, sehingga bersifat agonis (penggerak) terhadap estrogen. Selain itu, nanopartikel kombinasi tersebut juga

memiliki aktivitas antioksidan, dan tidak akan menyebabkan kerusakan sel, karena dosis yang tepat sehingga tidak mempengaruhi proliferasi.

Menjaga kesehatan adalah hal yang sangat disarankan dalam islam, dalam hal ini nanopartikel kombinasi dari bawang putih, temu mangga, serta jeringau juga berungsi dalam menjaga kesehatan tubuh khususnya dalam kesehatan reproduksi. Sebagaimana hadist Rasulullah SAW dibawah ini:

الْمُؤْمِنُ الْقَوِيُّ خَيْرٌ وَأَحَبُّ إِلَى اللَّهِ مِنَ الْمُؤْمِنِ الضَّعِيفِ وَفِي كُلِّ أَحْرَصَ عَلَى مَا يَنْفَعُكَ وَاسْتَعِنَ بِاللَّهْوَالِ
تَعْجِزُ وَإِنْ أَصَابَكَ شَيْءٌ فَلَا تَقُلْ لَوْ أَنِّي فَعَلْتُ كَذَا وَكَذَا لَكُنْ قُلْ: قَدَّرَ اللَّهُ وَمَا شَاءَ فَعَلَ فَإِنَّ لَوْ تَفْتَحُ عَمَلِ
الشَّيْطَانِ

Artinya: “Seorang mukmin yang kuat itu lebih baik dan lebih dicintai oleh Allah dari pada mukmin yang lemah. Dan pada masing-masing terdapat kebaikan. Bersemangatlah dalam mendapatkan apa yang bermanfaat bagimu, memohonlah pertolongan kepada Allah dan janganlah lemah. Jika kamu ditimpa suatu musibah, janganlah mengatakan “andaikata aku berbuat ini dan itu” tatapi katakanlah “Allah telah takdirkan dan Dia melakukan apa yang dikehendakinya” karena ucapan “andaikata” akan membuka perbuatan syetan. (HR Muslim)

Hadist diatas menerangkan bahwa mukmin yang kuat itu lebih baik dan lebih dicintai oleh Allah dari pada seorang mukmin yang lemah, serta menunjukkan bahwa seseorang yang kuat merupakan sifat yang harus dimiliki oleh seorang mukmin, selain itu maksud lain dari hadist tersebut adalah badan yang kuat dan sehat sangat dibutuhkan dalam melakukan ketaatan kepada Allah. Sehingga kita meniatkan membuat tubuh sehat supaya dapat melaksanakan ibadah, ketaatan serta bermacam kebaikan. Oleh sebab itu manusia harus senantiasa menjaga kesehatan tubuhnya dan mencari tahu fungsi dan penggunaan bahan-bahan alam yang berpotensi sebagai obat maupun pelindung tubuh. Hal ini karena tumbuhan adalah makhluk ciptaan Allah SWT dengan banyak manfaat dan fungsi, seperti bawang putih, temu mangga dan jeringau yang menunjang

kesuburan. Semua yang ada di bumi diciptakan dan ditundukkan oleh Allah SWT, sehingga dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia seperti Khilafa di bumi. Seperti yang dikatakan Allah SWT dalam Luqman ayat 20:

أَلَمْ تَرَوْا أَنَّ اللَّهَ سَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ وَأَسْبَغَ عَلَيْكُمْ نِعَمَهُ ظَاهِرَةً وَبَاطِنَةً وَمِنَ النَّاسِ مَن يُجَادِلُ فِي اللَّهِ بِغَيْرِ عِلْمٍ وَلَا هُدًى وَلَا كِتَابٍ مُّنِيرٍ .

Artinya :*"tidakkah kamu perhatikan sesungguhnya Allah telah menundukkan untuk (kepentingan) mu apa yang di langit dan apa yang di bumi dan menyempurnakan untukmu nikmatNya lahir dan batin. Dan diantara manusia ada yang membantah tentang keesaan Allah tanpa ilmu pengetahuan atau petunjuk dan tanpa kitab yang member penerangan"*.

Berdasarkan tafsir Jalalin makna dari kata menundukkan adalah menyediakan atau menciptakan, jadi penjelasan dari ayat tersebut ialah bahwasanya Allah SWT menciptakan benda-benda di langit (yaitu matahari, bulan dan bintang) dan benda-benda di bumi (dalam bentuk buah-buahan, sungai dan binatang), menyempurnakan (melapangkan) berkahnya dengan memberikan kepada kita bentuk yang baik, ilmu yang paling sempurna anggota dan lain-lain.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau terhadap proliferasi epitel vagina dan lama fase estrus mencit maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau dosis 25 mg/BB tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap proliferasi epitel vagina mencit.
2. Nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga dan jeringau dosis 25 mg/BB memberikan pengaruh yang signifikan terhadap lama fase estrus mencit.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap keseluruhan fase dalam siklus estrus, sehingga tidak hanya mengacu pada satu fase estrus mencit. Selain itu perlu diberikan tambahan dosis perlakuan yang sama dengan dosis jamu subur kandungan jokotole, agar dapat dibandingkan dari segi ukuran partikel.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M. (2017). Nanopartikel Dengan Gelasi Ionik. *Farmaka*, 15(1), 45–52.
- Agustina, S., Immanuel, H., & Utami, M. T. (2016). The Inhibition Of Typhonium Flagelliforme Lodd. Blume Leaf Extract On Cox-2 Expression Of Widr Colon Cancer Cells. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*, 6(3), 251–255. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.12.012>
- Akbar, B. (2010). *Tumbuhan Dengan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Anti Infertilitas*. Adabia Press.
- Akiles, A. J., & Simatauw, A. . (2019). Gambaran Siklus Estrus Tikus (*Rattus Novergicus* Terpapar Asap Rokok Setelah Diterapi Ekstrak Ethanol Rumpuk Kebar (*Biophytum Petersianum*). *Rumphius Pattimura Biological Journal*, 1(1), 1–7.
- Akour, A., Kasabri, V., Afifi, F. U., & Bulatova, N. (2016). The Use Of Medicinal Herbs In Gynecological And Pregnancy-Related Disorders By Jordanian Women: A Review Of Folkloric Practice Vs. Evidence-Based Pharmacology. In *Pharmaceutical Biology*.
- Al-Qarni. (2008). *Tafsir Muyassar*. Qisthi Press.
- Alhassan, A., Ziblim, A. R., & Muntaka, S. (2014). A Survey On Depression Among Infertile Women In Ghana. *Bmc Women's Health*.
- Amran, R. (2010). Menentukan Menopause Berdasarkan Indeks Maturasi Dan Ph Vagina. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 3(43).
- Anderson, D. J., Marathe, J., & Pudney, J. (2014). The Structure Of The Human Vaginal Stratum Corneum And Its Role In Immune Defense. *American Journal Of Reproductive Immunology*, 71(6), 618–623.
- Andriyani, R., Triana, A., & Juliarti, W. (2015). *Biologi Reproduksi Dan Perkembangan*. Deepublish.
- Ariviani, S., Yani, F., & Andriani, M. (2013). Potensi Temu Mangga (*Curcuma Mangga* Val.) Sebagai Minuman Fungsional. *Jurnal Teknosains Pangan*, 2(3), 27–33.
- Assa'idah, N. M. (2018). *Pengaruh Kombinasi Ekstrak Allium Sativum, Curcuma Mangga, Dan Acorus Calamus Terhadap Lama Fase Estrus Dan Proliferasi Epitel Vagina Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Cisplatin*. Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Balakumbahan, R., Rajamani, K., & Kumanan, K. (2010). Acorus Calamus: An Overview. *Journal Of Medicinal Plants Research*, 4(25), 2740–2745. <https://doi.org/10.7439/ijbr.V2i10.174>
- Barragan, A., Zafar, B., Badri, N., Waisudin Galindo-Rodríguez, S. A. K., Fessi, D., Elaissari, H., & Abdelhamid. (2016). Plant Extracts: From Encapsulation To Application. *Expert Opinion On Drug Delivery*, 13(8), 1165–1175. <https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1182487>
- Bowen, R. (1998). *Vaginal Cytology*.
- Carcio, H. A., & Secor, R. M. (2018). *Advanced Health Assessment Of Women* (4th Ed.).
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu Dan Waktu Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana* L.) Sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/Jrma.2019.V07.I04.P07>

- Chakraborty, K., Shivakumar, A., & Ramachandran, S. (2016). Nano-Technology In Herbal Medicines: A Review. *International Journal Of Herbal Medicine*, 4(3), 21–27. <https://doi.org/10.22271/Flora.2016.V4.I3.05>
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Preparation Of Cross-Linked Chitosan Microspheres By Spray Drying: Effect Of Cross-Linking Agent On The Properties Of Spray Dried Microspheres. *Journal Of Microencapsulation*.
- Devi, S. C. S., Tarafder, A., Shishodiya, E., & Mohanasrinivasan, V. (2015). Encapsulation Of Staphylokinase And Leucasaspera Plant Extracts Using Chitosan Nanoparticles. *International Journal Of Pharmtech Research*.
- Dikjayati, F. Restu. (2018). *Struktur Sel-Sel Epitel Pada Ulas Vagina Fase Proestrus Dan Fase Estrus Serta Lama Waktu Estrus Mencit (Mus Musculus) Setelah Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (Carica Papaya)*. Universitas Lampung.
- Faradila, D. A. (2016). *Efek Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai Terhadap Struktur Histologi Vagina Mencit (Mus Musculus) Strain Swiss Webster Ovariectomi*.
- Ferdina, C. S., Ratnawati, R., & Andarini, S. (2019). Pengaruh Antosianin Terhadap Ketebalan Epitel, Indeks Apoptosis Dan Ekspresi P53 Sel Epitel Vagina Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Ovariectomi. *Jurnal Ners Dan Kebidanan (Journal Of Ners And Midwifery)*, 6(2), 126–133.
- Gulton, A., & Simanjutak, E. G. M. (2020). *Elagolix Pada Endometriosis*.
- Hadibroto, I. (2013). *Buku Saku Patofisiologi*. Egc.
- Hanutami, B., & Budiman, A. (2017). Penggunaan Teknologi Nano Pada Formulasi Obat Herbal. *Farmaka*, 15(2), 29–39.
- Hariana, A. (2008). *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya Seri 3*. Penyebar Swadaya.
- Haviz, M. (2013). Dua Sistem Tubuh; Reproduksi Dan Endokrin. In *Jurnal Sainstek* (Vol. 5, Issue 2, Pp. 153–168).
- Hendri, B. M. B. (2013). Histologi Ulas Vagina Dan Waktu Siklus Estrus Masa Subur Mencit Betina Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki. *Prosiding Semirata Fmipa Universitas Lampung*, 371–376.
- Immanuel, A. I., Wantania, J., Suparman, E., & Lintong, P. (2010). Clinical Appearance And Vaginal Cytology Of Atrophic Vaginitis In Postmenopausal Women. *Indones Journal Obstet Gynecol*.
- Indis, N. A. L. (2016). *Pengaruh Proses Pengeringan Curcuma Drying Effect Of Curcuma Mangga Toward Antioxidant Activity Test Using*.
- Junhua, Z., Onakpoya, I. J., Posadzki, P., & Eddouks, M. (2015). The Safety Of Herbal Medicine: From Prejudice To Evidence. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2015.
- Kallak, T. K. (2015). Hormonal Regulation Of Vaginal Mucosa. In *Digital Comprehensive Summaries Of Uppsala Dissertations From The Faculty Of Medicine* (Vol. 1076).
- Katria, Y. (2006). *Ekstraksi Dan Identifikasi Komponen Sulfida Pada Bwang Putih*. Universitas Negeri Malang.
- Katuwavila, N. P., Perera, A. D. L. C., Samarakoon, S. R., Soysa, P., Karunaratne, V., Amaratunga, G. A. J., & Karunaratne, D. N. (2016). Chitosan-Alginate Nanoparticle System Efficiently Delivers Doxorubicin To MCF-7 Cells. *Journal Of Nanomaterials*. <https://doi.org/10.1155/2016/3178904>
- Kumar, M. (2015). Morphological Characterization Of Garlic (*Allium Sativum*)

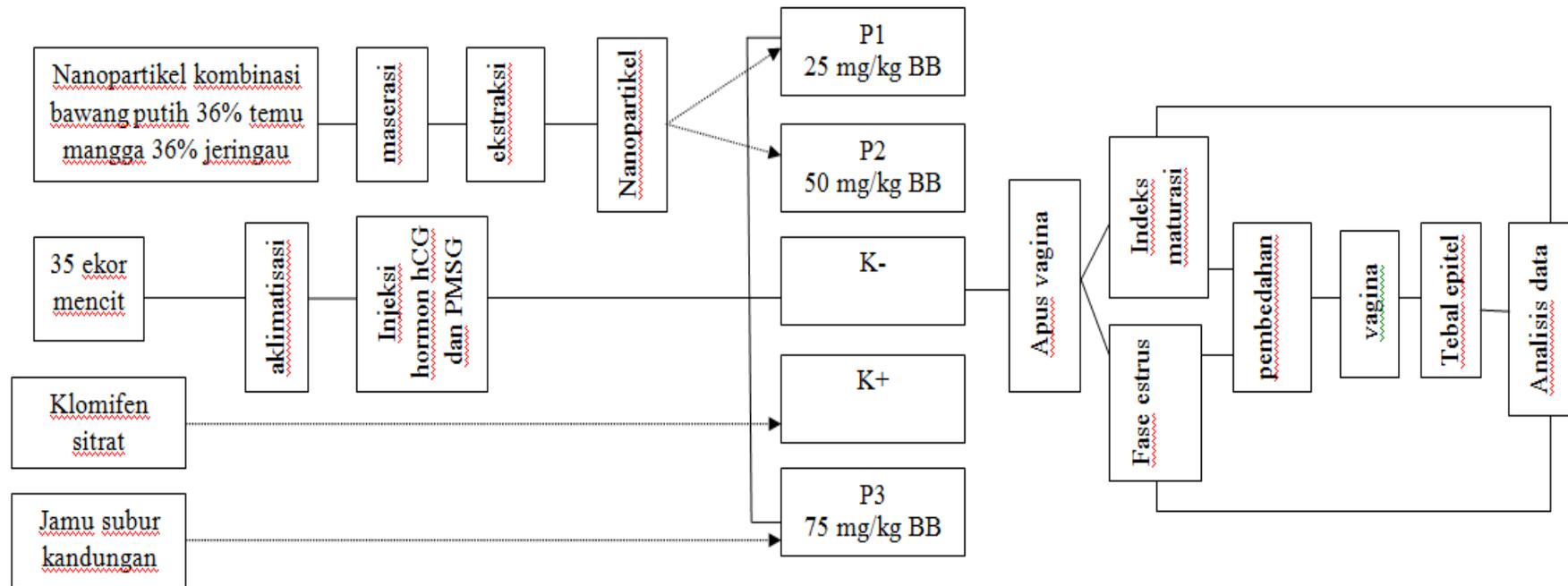
- L.) Germplasm. *Malaysian Journal Of Halal Research*, 7(5), 473–474. <https://doi.org/10.2478/Mjhr-2019-0014>
- Kusmana, D., Lestari, S., Dewi, P. R., & Ratri, R. (2007). Efek Estrogenik Ekstrak Ethanol 70% Kunyit (*Curcuma Domestica*) Terhadap Mencit (*Mus Musculus*) Betina Yang Diovariektomi. *Ui Makara Sains*, 11(2), 90–97.
- Lailiyah, A. Q. A. (2018). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum*) Temu Mangga (*Curcuma Mangga*) Dan Jeringau (*Acorus Calamus*) Terhadap Histologi Uterus Tikus (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Cisplatin. In *Journal Of Chemical Information And Modeling*. <https://doi.org/10.1017/Cbo9781107415324.004>
- Li, S., Herrera, G. G., Tam, K. K., Lizarraga, J. S., Beedle, M. T., & Winuthayanon, W. (2018). Estrogen Action In The Epithelial Cells Of The Mouse Vagina Regulates Neutrophil Infiltration And Vaginal Tissue Integrity. *Scientific Reports*, 8(1), 1–13.
- Lilian U, T., Boucher, B. A., Liu, Z., Cotterchio, M., & Kreiger, N. (2006). Phytoestrogen Content Of Foods Consumed In Canada, Including Isoflavones, Lignans, And Coumestan. *Nutrition And Cancer*. https://doi.org/10.1207/S15327914nc5402_5
- Lindau, S. T., Dude, A., Gavrilova, N., Hoffmann, J. N., Schumm, L. P., & McClintock, M. K. (2017). Prevalence And Correlates Of Vaginal Estrogenization In Postmenopausal Women In The United States. *Menopause*, 24(5), 536–545.
- Mahalli, I. J., & Assuyuti, I. J. (2000). *Tafsir Jalalain Berikut Azbabun Nuzulnya Jilid 1*. Sinar Baru.
- Mahrana, J., & Abdul, A. H. . (2006). *Al-Qur'an Bertutur Tentang Makanan & Obat-Obatan*. Mitra Pustaka.
- Mamta, S., & Jyoti, S. (2012). Phytochemical Screening Of *Acorus Calamus* And *Lantana Camara*. *International Research Journal Of Pharmacy*, 3(5), 324–326. <https://doi.org/10.3109/00016358709096356>
- Mardyana, P. (2017). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus*) Temu Mangga (*Curcuma Mangga*) Dan Bawang Putih (*Allium Sativum*) Terhadap Histologi Uterus Dan Tuba Fallopi Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). <https://doi.org/10.1016/J.Sbspro.2015.04.758>
- Martin, C., R, G., & C, C. (2008). Superovulation And In Vitro Oocyte Maturation In Three Species Of Mice (*Mus Musculus*, *Mus Spretus* And *Mus Spicilegus*). *Theriogenology*, 70(6), 1004–1013.
- Mescher, A. . (2010). *Junqueira's Basic Histology Twelfth Edition*. The Mcgraw-Hill Companies.
- Ming, Z., Liao, W., He, Y. X., He, Y., Yan, D., & Fu, C. M. (2013). Study On Intestinal Absorption And Pharmacokinetic Characterization Of Diester Diterpenoid Alkaloids In Precipitation Derived From Fuzi-Gancao Herb-Pair Decoction For Its Potential Interaction Mechanism Investigation. *Journal Of Ethnopharmacology*.
- Moriwaki, K., & Shiroishi, T. (1994). *Genetics In Wild Mice Application To Biomedical Research*.
- Muchtaromah, B., Ahmad, M., & Wahyudi, D. (2019). Pengembangan Jamu “Subur Kandungan Madura” Berbasis Nanoteknologi (Suatu Upaya Sainifikasi Jamu Traditional Indonesia). 8(5), 55.

- Muchtaromah, B., Mujahidin, A., & Didik, W. (2017). Phytochemicals, Antioxidant And Antifungal Properties Of Acorus Calamus, Curcuma Mangga, And Allium Sativum. *Kne Life Sciences*.
- Narulita, E., Prihatin, J., Anam, K., & Oktavia, F. A. R. H. (2017). Perubahan Kadar Estradiol Dan Histologi Uterus Mencit (Mus Musculus) Betina Dengan Induksi Progesteron Sintetik. *Biosfera*, 34(3), 117–122.
- Novrika, B. (2018). Hubungan Budaya Masyarakat Dengan Tingkat Kecemasan Pada Pasangan Infertil Di Rsia Annisa Jambi Tahun 2015. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. <https://doi.org/10.33087/jiubj.v18i1.444>
- Nugroho, & B.I, U. (2014). *Masalah Kesehatan Reproduksi Wanita*. Nuha Medika.
- Nurfitriani, I., & Setiawan, R. (2015). *Karakteristik Vulva Dan Sitologi Sitologi Sel Mucus Dari Vagina Fase Estrus Pada Domba Lokal*. 4(3), 1–10.
- Onasis, A. (2001). *Pemanfaatan Minyak Jeringau (Acorus Calamus) Untuk Membunuh Kecoa (Periplaneta Americana)*. Universitas Sumatra Utara.
- Pakasi, S. . (2013). *Budidaya Yang Baik Tanaman Karumenga (Acorus Calamus)*. Universitas Sam Ratulangi.
- Pakki, E., Sumarheni, S., F, A., Ismail, I., & Safirahidzni, S. (2016). Formulasi Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak (Eleutherine Americana (Aubl) Merr) Dengan Variasi Konsentrasi Kitosan-Tripolifosfat (Tpp). *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v3i4.113>
- Pradyptasari, W., Bahar, B., & Najamuddin, U. (2013). *Hubungan Konsumsi Makanan Mengandung Fitoestrogen Dengan Siklus Menstruasi Pada Siswi Kelas X Sman 21 Makassar Relation Between Consumption Of Food Containing Phytoestrogen With Menstrual Cycle Of Students On Grade X At Sman 21 Makassar Program Studi Ilmu. D*.
- Prasonto, D., Riyanti, E., & Gartika, M. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (Allium Sativum). *Odonto: Dental Journal*. <https://doi.org/10.30659/odj.4.2.122-128>
- Puspitadewi, & Sunarno. (2007). Potensi Agensia Anti Fertilitas Biji Tanaman Jarak (Jatropha Curcas) Dalam Mempengaruhi Profil Uterus Mencit (Mus Musculus) Swiss Webster. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 15(2).
- Rakhmawati, A., & Dieny, F. F. (2013). Hubungan Obesitas Dengan Kejadian Gangguan Siklus Menstruasi Pada Wanita Dewasa Muda. *Journal Of Nutrition College*, 2(1), 214–222. <https://doi.org/10.14710/jnc.v2i1.2106>
- Ramadon, D., & Mun'im, A. (2016). Pemanfaatan Nanoteknologi Dalam Sistem Penghantaran Obat Baru Untuk Produk Bahan Alam. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*.
- Rendi, M. H., Muehlenbachs, A., Garcia, R. L., & Boyd, K. L. (2012). Female Reproductive System. In *Comparative Anatomy And Histology* (First Edit). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381361-9.00017-2>
- Safrida. (2008). *Perubahan Kadar Hormon Estrogen Pada Tikus Yang Diberi Tepung Kedelai Dan Tepung Tempe*. Institut Pertanian Bogor.
- Salisbury, G. ., & Van Demark, N. . (1985). *Fisiologi Reproduksi Dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Universitas Gadjah Mada.
- Sari, R. D. P. (2018). Menentukan Menopause Berdasarkan Indeks Maturasi Dan Ph Vagina. *J Ked Kes Sriwijaya*, 1–10.
- Sarjono, P. R., & Mulyani, N. S. (2017). Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu

- Putih (Curcuma Mangga Vall). *Jurnal Sains & Matematika (Jsm)*.
- Sekhri, K., & Ruchika, B. S. N. (2013). Herbal Products: A Survey Of Students' Perception And Knowledge About Their Medicinal Use. *International Journal Of Basic & Clinical Pharmacology*.
- Sherwood, L. (2001). *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem*. Egc.
- Siregar, T. N., Melia, J., Rohaya, Thasmi, C. N., Masyitha, D., Wahyuni, S., Rosa, J., Nurhafni, Panjaitan, B., & Herrialfian. (2016). Determining Proportion Of Exfoliative Vaginal Cell During Various Stages Of Estrus Cycle Using Vaginal Cytology Techniques In Aceh Cattle. *Veterinary Medicine International, 2016*. <https://doi.org/10.1155/2016/3976125>
- Sovino, H., Sir-Petermann, T., & Devoto, L. (2002). Clomiphene Citrate And Ovulation Induction. *Reproductive Biomedicine Online, 4*(3), 303–310. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61821-4](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61821-4)
- Sreekumar, S., Goycoolea, F. M., Moerschbacher, B. M., & Rivera-Rodriguez, G. R. (2018). Parameters Influencing The Size Of Chitosan-Tpp Nano- And Microparticles. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/S41598-018-23064-4>
- Stavelikova, H. (2008). Morphological Characteristics Of Garlic (*Allium Sativum* L.) Genetic Resources Collection - Information. *Horticultural Science, 35*(3), 130–135. <https://doi.org/10.17221/661-Hortsci>
- Suryanto, A. B. (2015). *Skripsi Gambaran Histopatologi Vagina Mencit (Mus Musculus) Yang Di Infeksi Toxoplasma Gondii Secara Intravagina*.
- Umamaheshwari, N., & Rekha, A. (2018). Sweet Flag : (*Acorus Calamus*) -An Incredible Medicinal Herb. *Journal Of Pharmacology And Phytochemistry, 7*(6), 15–22.
- Vincent, K. L., Vargas, G., Wei, J., Bourne, N., & Motamedi, M. (2013). Monitoring Vaginal Epithelial Thickness Changes Noninvasively In Sheep Using Optical Coherence Tomography. *American Journal Of Obstetrics And Gynecology, 208*(4), 282.E1-282.E7.
- Wahyuni, A., Kadir, A., & Najib, A. (2012). Isolasi Dan Identifikasi Komponen Kimia Fraksi N-Heksana Daun Tumbuhan Jeringau (*Acorus Calamus*). *Jurnal As-Syifaa, 4*(1), 58–64.
- Widyastuti, R., Ratnawati, G., & Saryanto. (2019). Berbagai Penyakit Pada Delapan Etnis Di Provinsi Aceh (Use Of Jerango (*Acorus Calamus*) For Various Diseases Treatment In Eight Ethnic In Aceh Province). *Media Konservasi, 24*(1), 11–19.
- Yuwono, J., Sugiritama, W., Mayun, G. N., & Sumadi, W. J. (2018). *Efek Pemberian Ekstrak Ethanol Ubi Jalar Ungu (Ipomoea Batatas L) Terhadap Ketebalan Dan Diferensiasi Sel Epitel Vagina Tikus Betina Yang Mengalami Ovariectomi Di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Periode Oktober-Desember 20. April*.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Data Hasil Analisis statistik dan Perlakuan Fase Estrus

Tabel 1. Data lama fase estrus mencit setelah pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu angga dan jeringau

Perlakuan	Ulangan						Jumlah	Rata-Rata	Standar deviasi
	1	2	3	4	5	6			
K-	22.22	2.22	26.66	6.66	13.33	13.33	84.42	14.07	
P1	26.66	31.11	17.77	40.00	33.33	0.00	148.87	24.81	
P2	24.44	28.88	15.55	8.88	11.11	8.88	97.74	16.29	
P3	17.77	02.22	31.11	00.00	28.88	22.22	102.2	17.03	
K+	28.88	35.55	40.00	51.11	40.00	22.22	217.76	36.29	

Analisis statistic fase estrus mencit setelah pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu angga dan jeringau

Uji normalitas data menggunakan Kolmogorov-smirnov test

A. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		estrus
N		30
Normal Parameters ^a	Mean	21.6997
	Std. Deviation	1.33424E1
Most Extreme Differences	Absolute	.082
	Positive	.068
	Negative	-.082
Kolmogorov-Smirnov Z		.450
Asymp. Sig. (2-tailed)		.987

a. Test distribution is Normal.

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

estrus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.622	4	25	.651

Keterangan : Sig 0.651 > 0,05 = variansi data homogeny

C. One way ANOVA

ANOVA

estrus					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1991.464	4	497.866	3.925	.013
Within Groups	3171.111	25	126.844		
Total	5162.574	29			

Keterangan : signifikan $0.013 < 0.05 = H_0$ ditolak . maka terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, teu mangga dan jeringau terhadap lama fase estrus.

D. Duncan

estrus

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol	6	14.0700	
nano 50	6	16.2900	
jamu subur	6	17.0333	
nano 25	6	24.8117	24.8117
klomifen	6		36.2933
Sig.		.142	.090

Lampiran 3. Analisa statistic data indeks maturasi epitel vagina

Tabel 2. Data Persebaran Epitel Vagina Mencit Setelah Perlakuan

Perlakuan	Ulangan						Jumlah	Rata-Rata	Standar deviasi
	1	2	3	4	5	6			
K-	58.14	55.85	40.28	47.32	71.33	71.21	344.13	57,35	12.50
P1	54.37	100	90.00	63.03	89.34	57.11	453.85	75,64	19.70
P2	40.68	85.11	67.16	24.71	59.67	76.48	353.81	58,98	22.65
P3	47.49	77.55	95.00	61.61	28.80	61.46	371.91	61,88	22.99
K+	93.64	98.99	99.42	77.47	62.42	68.25	500.19	83,36	16.18

3.1 Hasil Statistic Indeks Maturasi Epitel Vagina Mencit Setelah Pemberian Perlakuan

A. Uji normalitas data menggunakan kolmogorov-smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		IM
N		30
Normal Parameters ^a	Mean	67.4630
	Std. Deviation	2.06684E1
Most Extreme Differences	Absolute	.088
	Positive	.085
	Negative	-.088
Kolmogorov-Smirnov Z		.484
Asymp. Sig. (2-tailed)		.973

a. Test distribution is Normal.

B. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

IM

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.736	4	25	.576

Keterangan : Signifikan $0.578 > 0.05$ = variansi data homogen

C. One way ANOVA

ANOVA

IM

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3144.622	4	786.156	2.126	.107
Within Groups	9243.644	25	369.746		
Total	12388.266	29			

Keterangan : signifikansi $0.107 > 0.05$ = H_0 diterima, jadi tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih, temu mangga, dan jeringau.

Lampiran 4. Analisis statistik data tebal epitel vagina mencit setelah pemberian perlakuan.

Tabel 3. Rerata hasil perhitungan tebal epitel vagina

Perlakuan	Ulangan						Jumlah	Rata-Rata	Standar deviasi
	1	2	3	4	5	6			
K-	20.54	24.94	20.54	24.94	54.41	56.81	202.18	33.69	0.20
P1	20.24	58.00	30.43	24.67	66.11	61.64	261.09	43.51	0.22
P2	16.44	14.93	93.11	31.78	16.09	92.30	264.65	44.10	0.37
P3	63.43	31.02	17.44	27.39	15.14	51.85	206.27	34.37	0.24
K+	46.20	78.52	80.89	81.82	35.46	70.18	393.07	65.51	0.15

4.1 tabel statistic tebal epitel vagina mencit setelah pemberian perlakuan

A. Uji normalitas menggunakan kolmogorov-smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ketebalan	x
N		30	30
Normal Parameters ^a	Mean	44.2420	1.5714
	Std. Deviation	25.36753	.26436
Most Extreme Differences	Absolute	.188	.140
	Positive	.188	.112
	Negative	-.124	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		1.032	.764
Asymp. Sig. (2-tailed)		.237	.603

a. Test distribution is Normal.

B. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

X

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.258	4	25	.091

Keterangan : signifikansi $0.091 > 0.05$ = variansi data homogen

C. One way ANOVA

ANOVA

X

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.429	4	.107	1.678	.187
Within Groups	1.598	25	.064		
Total	2.027	29			

Keterangan : signifikansi $0.187 > 0.05$ = H_0 diterima, artinya tidak terdapat pengaruh signifikan antara pemberian nanopartikel ekstrak kombinasi bawang putih, temu mangga dan jeringau.

Lampiran 5. Perhitungan dosis

1. Dosis Perlakuan Pemberian Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus*

Penentuan dosis nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* mengacu pada penelitian sebelumnya adalah dosis 50 mg/kgBB. Maka penelitian ini mengambil dosis 50 mg/kgBB serta rentang dibawahnya yaitu 25 mg/kgBB. Pemilihan dosis 25 mg/kgBB ini berlandaskan hipotesis penelitian ini yang mana pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* dosis rendah diharapkan mampu mempengaruhi parameter.

Berikut ialah perhitungan dosis nanopartikel kombinasi ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* pada mencit:

a. Perhitungan Dosis 25 mg/kgBB

Dosis Acuan: 25 mg/kgBB

Berat Badan Mencit 20 gr

$$\text{Perhitungan} = \frac{\text{Berat Badan Mencit} \times \text{Dosis}}{1000}$$

$$\text{Dosis untuk 20 gr mencit} = \frac{20 \times 25}{1000} = 0,5 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis untuk 25 gr mencit} = \frac{25 \times 25}{1000} = 0,625 \text{ mg}$$

b. Perhitungan Dosis 50 mg/kgBB

Dosis Acuan: 50 mg/kgBB

Berat Badan Mencit 20 gr

$$\text{Perhitungan} = \frac{\text{Berat Badan Mencit} \times \text{Dosis}}{1000}$$

$$\text{Dosis untuk 20 gr mencit} = \frac{20 \times 50}{1000} = 1 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis untuk 25 gr mencit} = \frac{25 \times 50}{1000} = 1,25 \text{ mg}$$

1. Dosis Perlakuan Pemberian Jamu Subur Kandungan

Penentuan dosis jamu subur kandungan ini mengacu pada penelitian sebelumnya Muhctaromah dkk (2017) yaitu 75 mg/kgBB. Dosis jamu subur kandungan perkapsul yaitu 500 mg/kgBB yang diminum 8 kapsul/hari (2 x sehari @4 kapsul) dan dihitung menggunakan faktor konversi 0,018 (Laurence, 1964), sehingga diperoleh perhitungan sebagai berikut:

$$500 \text{ mg/kgBB} \times 8 = 4000 \text{ mg/kgBB}$$

$4000 \text{ mg/kgBB} \times 0,018 = 72 \text{ mg/kgBB}$, kemudian dibulatkan dengan menaikkan dosis menjadi 75 mg/kgBB

$$\text{Dosis untuk 20 gr mencit} = \frac{20 \times 75}{1000} = 1,5 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis untuk 25 gr mencit} = \frac{25 \times 75}{1000} = 1,9 \text{ mg}$$

2. Dosis Perlakuan Pemberian Obat Sintetik Kломifen Sitrat

Penentuan dosis kломifen sitrat ini mengacu pada penelitian sebelumnya Muhctaromah dkk (2017) yaitu 0,9 mg/kgBB. Dosis kломifen pertablet yaitu 50 mg/kgBB dengan faktor konversi 0,018 (Laurence, 1964), sehingga diperoleh perhitungan sebagai berikut:

$$50 \text{ mg/kgBB} \times 0,018 = 0,9 \text{ mg/kgBB}$$

$$\text{Dosis untuk 20 gr mencit} = \frac{20 \times 0,9}{1000} = 0,018 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis untuk 25 gr mencit} = \frac{25 \times 0,9}{1000} = 0,02 \text{ mg}$$

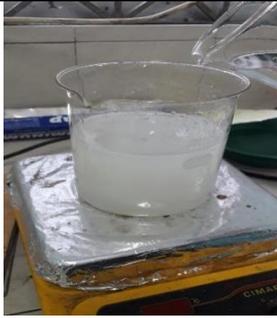
Lampiran 6. Dokumentasi Peneliti

6.1 Tahap ekstraksi

		
Penimbangan simplisia kombinasi <i>Allium sativum</i> , <i>Curcuma mangga</i> dan <i>Acorus calamus</i> (36%:36%:28%)	Ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan dishaker	Penyaringan untuk mendapatkan maserat
		
Pemekatan ekstrak menggunakan <i>Rotary Evaporator</i>	Didapatkan ekstrak pekat dan dipindahkan ke botol	Botol ekstraksi disimpan dalam freezer

6.2 Pembuatan Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus*

		
Penimbangan ekstrak	Penimbangan kitosan	Penimbangan STTP



Homogenasi larutan kitosan-STTP dan penambahan larutan AAG



Pencampuran ekstrak ke larutan kitosan-STTP-AAG



Homogenasi menggunakan *homogenizer ultra turrax*



Penambahan *tween 80*



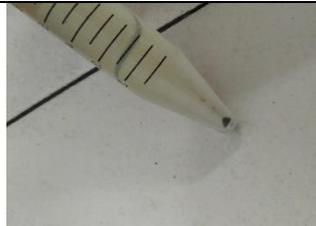
Sonikasi



Penuangan larutan pada tabung *ependorf* 15 ml



Sentrifugasi



Pemisahan pellet dengan supernatan



Hasil pellet nanopartikel



Hasil pengeringan pellet



Penumbukan pellet

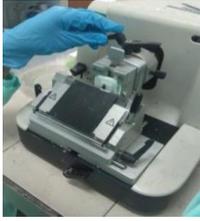
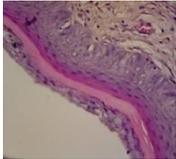


Penyaringan serbuk nanopartikel menggunakan ayakan 30 mesh

 <p>Penimbangan serbuk nanopartikel</p>	 <p>Hasil serbuk nanopartikel</p>	 <p>Penyimpanan dalam freezer</p>
--	--	--

3 Proses Perlakuan dan Pengujian Sampel

 <p>Aklimatisasi dan pemeliharaan mencit</p>	 <p>Penimbangan berat badan mencit</p>	 <p>Sinkronisasi menggunakan PMSG HCG</p>
 <p>Induksi PMSG HCG</p>	 <p>Pemberian perlakuan melalui sonde oral</p>	 <p>Proses apus vagina mencit</p>
 <p>Fiksasi preparat apusan vagina dengan methanol 10%</p>	 <p>Pewarnaan preparat apusan vagina dengan Giemsa</p>	 <p>Pengamatan apus vagian serta indeks maturasi</p>

 <p>Dislokasi mencit</p>	 <p>Pembedahan mencit dan pengambilan organ vagina</p>	 <p>Fiksasi organ</p>
 <p>Tahap embedding</p>	 <p>Tahap pemotongan</p>	 <p>Tahap pewarnaan</p>
 <p>Hasil pembuatan preparat histologi vagina</p>		



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Fitria Nurul Azizah
NIM : 16620130
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil / Genap TA. 2019/2020
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc.
Judul Skripsi : Pengaruh nanopartikel kombinasi ekstrak *allium sativum*, *curcuma mangga*, dan *curcuma calamus* terhadap proliferasi epitel vagina dan lama fase siklus estrus mencit (*mus musculus*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	20 Juli 2020	Konsultasi BAB 1,2, dan 3	
2.	27 Juli 2020	Revisi BAB 1,2, dan 3	
3.	3 Agustus 2020	ACC BAB 1,2, dan 3	
4.	27 April 2021	Konsultasi BAB 1 – BAB 5	
5.	10 Mei 2021	Revisi BAB 1 – BAB 5	
6.	18 Mei 2021	ACC BAB 1 – BAB 2	

Pembimbing Skripsi,

Mujahidin Ahmad, M.Sc.
NIP. 198605122019031002

Malang, 31 Mei 2021
Ketua Program studi Biologi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP 197410182003122002





BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Fitria Nurul Azizah
NIM : 16620130
Program Studi : SI Biologi
Semester : Ganjil / Genap TA. 2019/2020
Pembimbing : Prof. Dr.drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh nanopartikel kombinasi ekstrak *allium sativum*, *curcuma mangga*, dan *acorus callamus* terhadap proliferasi epitel vagina dan lama fase siklus estrus mencit (*mus musculus*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	7 Januari 2020	Konsultasi rancangan penelitian	
2.	14 Januari 2020	Menyusun kerangka pikir	
3.	28 Januari 2020	Revisi kerangka pikir	
4.	9 Maret 2020	Konsultasi BAB 1 dan BAB 3	
5.	11 Maret 2020	Revisi BAB 1 dan BAB 3	
6.	17 Maret 2020	Konsultasi BAB 2	
7.	19 Maret 2020	Revisi BAB 2	
8.	11 Mei 2020	Konsultasi BAB 1,2 dan 3	
9.	13 Mei 2020	Revisi BAB 1,2 dan 3	
10.	13 Juli 2020	ACC BAB 1,2 dan 3	
11.	5 Maret 2021	Konsultasi BAB 4 dan 5	
12.	9 Maret 2021	Revisi 4 dan 5	
13.	29 Mei 2021	ACC BAB 1-5	

Pembimbing Skripsi,

Prof. Dr.drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 197410182003122002

Malang, 31 Mei 2021
Ketua Program Studi Biologi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP 197410182003122002

