

**PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN *Acorus callamus*
TERHADAP KADAR *Superoxide dismutase* dan *Malondehyde* Ovarium MENCIT (*Mus
musculus*)**

SKRIPSI

Oleh:

YULIANA PURNAMASARI

NIM. 16620123



PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

**PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN *Acorus callamus*
TERHADAP KADAR *Superoxide dismutase* dan *Malondehyde* Ovarium MENCIT (*Mus
musculus*)**

SKRIPSI

Oleh:

YULIANA PURNAMASARI

NIM. 16620123

Diajukan Kepada :

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN
Acorus calamus TERHADAP KADAR *Superoxide Dismutase* DAN
Malondehide OVARIUM MENCIT (*Mus musculus*)

SKRIPSI

Oleh:
YULIANA PURNAMASARI
NIM. 16620123

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal : 07 Desember 2021

Pembimbing I



Prof. Dr. drh. Bavvinatul Muchtaromah, Msi.
NIP. 19741018 200312 2 0002

Pembimbing II



Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19860512201903 1 0002



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410182003122002

**PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN
Acorus calamus TERHADAP KADAR Superoxide dismutase dan
Malondehyde OVARIUM MENCIT (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

Oleh:

YULIANA PURNAMASARI

NIM. 16620123

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

Penguji Utama	Dr. Kiptiyah, M.Si. NIP. 19731005 200212 2 003
Ketua penguji	Kholifah Holil, M.Si. NIP. 19751106 200912 2 002
Sekretaris Penguji	Prof. Dr.drh. Hj. Bayyinatul M., M.Si NIP. 19710919 200003 2 001
Anggota Penguji	Mujahidin Ahmad, M.Sc NIP. 19860512 201903 1 002

(.....)
(.....)
(.....)
(.....)

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi


Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengharap ridho Allah Subhanahu Wa Ta'Ala di bawah naungan rahmat dan hidayahNya, sebuah karya yang begitu sederhana ini kupersembahkan terkhusus bagi kedua orang tua penulis yaitu Bapak Arif Wijaksono dan Ibu Yuniana yang senantiasa memberikan dukungan dan doa yang tiada hentinya demi keberhasilan penulis. Terima kasih kepada teman-teman jurusan Biologi yang banyak memberikan pengalaman berharga bagi penulis, terkhusus untuk teman-teman kelas D yang telah bersama-sama dari awal pertemuan hingga di akhir pertemuan, dengan duka yang tak terlupakan. Terimakasih juga kepada tim Nano Subur Kandungan serta seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu maupun memotivasi pengerjaan skripsi ini dari awal hingga akhir.

Tidak lupa ucapan terimakasih penulis kepada semua rekan penulis hingga menjadi orang yang mengerti akan pentingnya untuk selalu bersyukur pada setiap keadaan, melatih fisik dan mental untuk lebih kuat dan tegar, memberikan arti pertemanan dan saling membantu dalam kesusahan. Terakhir untuk Almamater Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang Malang yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk dapat menimba ilmu di Jurusan Biologi, yang telah memberikan banyak pelajaran baik dari segi materi, praktek dan paling penting memeberikan pelajaran dalam kehidupan yang akan datang.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yuliana Purnamasari
NIM : 16620123
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*,
Curcuma mangga dan *Acorus calamus*
terhadap *Superoxide dismutase* dan
Malondehyde Ovarium Mencit (*Mus*
musculus)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi ini yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai milik saya, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan bahwa skripsi ini merupakan hasil dari jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.



3 Desember 2021
membuat pernyataan

Yuliana Purnamasari
YULIANA PURNAMASARI
16620123

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 *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN *Acorus calamus*
TERHADAP KADAR *Superoxide dismutase* dan *Malondehyde* OVARIUM MENCIT (*Mus
musculus*)**

Yuliana Purnamasari, Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik
Ibrahim Malang

ABSTRAK

Radikal bebas akan terbentuk apabila jumlah antioksidan endogen tidak mencukupi. Pembentukan radikal ini dapat dicegah dengan mengonsumsi antioksidan. Antioksidan selain dari tubuh dapat diperoleh dari tanaman, dalam penelitian ini dipilih tumbuhan yang merupakan resep dari jamu subur kandungan. Tumbuhan tersebut antara lain *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* yang memiliki kandungan antioksidan antara lain flavonoid, alkaloid dan triterpenoid. Tujuan dalam riset ini yaitu Dalam riset ini ketiga tumbuhan tersebut diubah bentuknya menjadi nanopartikel dengan tujuan mengoptimalkan proses penghantaran dan penyerapan. Penelitian ini menggunakan RAL dengan 5 perlakuan dan 6 kali ulangan. Hewan coba yang digunakan berupa *Mus musculus* betina BalB/C sebanyak 30 ekor. Perlakuan terdiri dari kontrol negatif (K-), 2 perlakuan nanopartikel kombinasi ekstrak dosis 25 mg/ kg BB (P1) serta 50 mg/ kg BB (P2), perlakuan jamu dosis 75 mg/ kg BB (P3) dan perlakuan klomifen sitrat dosis 0,9 mg/kgBB (P4). Parameter riset antara lain kadar *superoxide dismutase* (SOD) sebagai parameter antioksidan dan malondehyde (MDA) sebagai parameter stress oksidatif. Analisis data menggunakan ANOVA (α 5%) dan diuji lanjut dengan Duncan. Hasil menunjukkan pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus* menunjukkan pengaruh terhadap kadar SOD dan MDA. Peningkatan kadar SOD paling tinggi terjadi pada nanopartikel dosis 50 mg/kgBB. Kadar MDA terendah terjadi pada perlakuan nanopartikel dosis 25 mg/kgBB. Hasil pemberian nanopartikel dosis 50 mg/kg BB menunjukkan pengaruh dengan meningkatkan kadar SOD dan tingkat MDA yang rendah.

Kata kunci : Nanopartikel, Antioksidan, Oksidan, *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, *Acorus calamus*, SOD, MDA.

THE EFFECT OF NANOPARTICLES OF *Allium sativum*, *Curcuma mango*, AND *Acorus calamus* on levels of *Superoxide dismutase* and *Malondehyde* OVARIUM OF MICE (*Mus musculus*)

Yuliana Purnamasari, Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Free radicals will be formed when the amount of endogenous antioxidants is insufficient. The formation of free radicals can be prevented by consuming antioxidants. Antioxidants other than the body can be obtained from plants, in this study selected plants which are recipes from herbal fertile content. These plants include *Allium sativum* (garlic), *Curcuma mango* (Temu mango) and *Acorus calamus* (jeringau) which contain antioxidants including flavonoids, alkaloids and triterpenoids. In this research, the three plants were transformed into nanoparticles with the aim of optimizing the delivery and absorption processes. This study used RAL with 5 treatments and 6 replications. The experimental animals used were 30 female BalB/C *Mus musculus*. The treatments consisted of a negative control (K-), 2 nanoparticle treatments with a combined extract dose of 25 mg/kg BW (P1) and 50 mg/kg BW (P2), a herbal treatment with a dose of 75 mg/kg BW (P3) and a dose of clomiphene citrate treatment. 0.9 mg/kgBW (P4). Research parameters include levels of superoxide dismutase (SOD) as an antioxidant parameter and malondehyde (MDA) as a parameter of oxidative stress. Data analysis used ANOVA (α 5%) and further tested with Duncan. The results showed that the administration of *A. sativum*, *C. mangga* and *A. calamus* nanoparticles showed an effect on the levels of SOD and MDA. The highest increase in SOD levels occurred at a dose of 50 mg/kgBW nanoparticles. The lowest MDA levels occurred in the

nanoparticle treatment at a dose of 25 mg/kgBW. The results of giving nanoparticles at a dose of 50 mg/kg BW showed an effect by increasing SOD levels and low MDA levels.

Keywords: Nanoparticles, Antioxidants, Oxidants, *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, *Acorus calamus*, SOD, MDA.

أثر الجسيمات النانوية من الثوم ومانجا، وجريغو على قدر ديسموتاز فوق الأكسدة ومالونديهيد في أعضاء التناسل لفأرة

صغيرة.

يوليانا فورناماساري، بيئة المحترمة، مجاهدين أحمد

قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

مستخلص البحث

وإذا كان عدد مركبات أزداد الأكسدة والأكسدة في البدن لا تعتدل فتؤدي على تكوّن الجذري الحر. فيؤدي كثرة الجذري الحر إلى حالة الخلية المتدهورة حتى موت الخلية. يمكن منع تكوين الجذري الحر عن طريق تناول مضادات الأكسدة. ويمكن الحصول على مضادات الأكسدة من النباتات. وفي هذا البحث يختار النبات التي هي وصفة للأعشاب الخصبة. وتلك النبات هي الثوم ومانجو وجريغو التي تحتوي على مضادات الأكسدة من فلافونويد والأكلويد والتريتروفيينويد. كانت تلك النبات الثلاثة في هذا البحث تغير عينها إلى نانو الذرة بقصد تحسين عمليات التسليم والاستيعاب. أما هذا البحث هنوع تجريبي باستخدام RAL مع خمسة معالجات وستة تكرارات. وكان الحيوان التجريبي المستخدم هو ثلاثون فأرة صغيرة. يتكون العلاج من تحكم سلبي (K-)، علاجان نانو الذرة مع توليفة من المستخلص بجرعة 25 ملجم/كجم من وزن الجسم (P1) مع 50 ملجم/كجم من وزن الجسم (P2)، العلاج بالأعشاب بجرعة 75 ملجم/كجم من وزن الجسم (P3) و علاج سترات الكلوميدين بجرعة 0،9 ملجم/كجم من وزن الجسم. ومن معايير البحث ديسموتاز فوق الأكسدة لمعيار مضادات الأكسدة ومالونديهيد لمعيار الأكسدة. وكان تحليل البيانات باستخدام ANOVA ($\alpha 5\%$) إذا أظهرت النتائج على فرق كبير فسيتم تجريبه بشكل أكبر باستخدام Duncan . وتدل النتائج على أن إعطاء الجسيمات النانوية للثوم والمانجو والجريغو أظهر تأثيراً على مستويات ديسموتاز فوق الأكسدة ومالونديهيد. فحدثت أعلى زيادة في مستويات ديسموتاز فوق الأكسدة عند الجسيمات النانوية بجرعة 50 ملجم/كجم من وزن الجسم ولكنها لا تختلف بشكل كبير عن العلاج بالأعشاب بجرعة 75 ملجم/كجم من وزن الجسم. فحدثت أعلى زيادة في مستويات مالونديهيد عند علاج سترات الكلوميدين بجرعة 0،9 ملجم/كجم من وزن الجسم ولكنها تختلف بشكل كبير بعلاج آخر. أظهرت النتائج من إعطاء الجسيمات النانوية 50 ملجم/كجم من وزن الجسم تأثيراً بزيادة مستويات ديسموتاز فوق الأكسدة ومستويات مالونديهيد منخفضة.

الكلمات المفتاحية : الجسيمات النانوية، مضادات الأكسدة، الأكسدة، الثوم، المانجو، الجريغو، ديسموتاز فوق الأكسدة، مالونديهيد.

KATA PENGANTAR

Tiada kata lain selain mengucapkan puji syukur atas terselesaikannya skripsi dengan judul “Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap Kadar *Superoxide Dismutase* dan *Malondehyde* Ovarium Mencit (*Mus musculus*)”. Diharapkan skripsi ini bisa bermanfaat untuk penulis baik dari segi keilmuan ataupun pengalaman. Penyusunan skripsi ini tidak akan selesai tanpa dorongan serta kerjasama dari pihak lain. Oleh sebab itu penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah mendukung dan 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 Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang,
3. Ibu Prof.Dr.drh.Bayyinatul Muctaromah, M.Si sebagai dosen pembimbing yang dengan sabar memberikan dorongan serta bimbingan dengan penuh keikhlasan.
4. Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc sebagai dosen pembimbing agama dengan sabar memberikan bimbingan dengan penuh keikhlasan.
5. Moh. Basyaruddin, M.Si yang telah banyak membantu dalam proses penelitian yang dilakukan
6. Kedua orang tua tercinta Bapak Arif Wijaksono dan Ibu Yuniana yang telah banyak memberikan perhatian, kasih sayang, nasihat, doa dan dukungan baik materi maupun moril yang tak mungkin terbalaskan.
7. Teman-teman yang telah memberikan motivasi dan bertukar pikiran dalam proses penyelesaian skripsi ini.

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

Malang, 7 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAM PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	ix
KATA PENGANTAR.....	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Hipotesis	5
1.5 Manfaat.....	5
1.6 Batasan masalah	6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Herbal	7
-----------------------	---

2.2 Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>).....	8
2.3 Temu mangga (<i>Curcuma mangga</i>)	9
2.4 Jeringau (<i>Acorus calamus</i>).....	10
2.5 Nanopartikel.....	11
2.6 Kitosan.....	12
2.7 Mencit	12
2.9 Mekanisme Hormonal	14
2.10 Radikal Bebas.....	15
2.11 Antioksidan.....	16

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian.....	21
3.2 Variabel Penelitian	21
3.3 Waktu dan Tempat	21
3.4 Populasi dan sampel.....	22
3.5 Alat dan Bahan	22
3.5.1 Alat	22
3.5.2 Bahan.....	22
3.6 Kegiatan Penelitian	23
3.6.1 Persiapan Hewan Coba.....	23
3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel	23
3.6.3 Pembuatan Ekstrak	23
3.6.4 Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Kombinasi.....	24
3.6.5 Pemberian Ekstrak Nanopartikel.....	24
3.6.6 Tahap Pengambilan Data	25
3.7 Analisis Data	26

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

- 4.1 Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap kadar *Superoxide Dismutase* Ovarium Mencit (*Mus musculus*) 27
- 4.2 Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap kadar *Malondehyde* Ovarium Mencit (*Mus musculus*) 31
- 4.3 Integrasi Al-Qur'an 35

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

- 5.1 Kesimpulan 38
- 5.2 Saran 38

DAFTAR PUSTAKA 39

LAMPIRAN 49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
4.1 Grafik Data Hasil Rata-rata kadar Superoxide dismutase Ovarium Mencit yang Dipengaruhi Beberapa Perlakuan.....	27
4.2 Grafik Data hasil rata-rata kadar Malondehyde Mencit yang dipengaruhi beberapa Perlakuan	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Pengaruh pemberian beberapa perlakuan terhadap kadar superoxide dismutase mencit menggunakan uji Duncan.....	28
4.2 Pengaruh pemberian beberapa perlakuan terhadap kadar malondehyde ovarium mencit menggunakan uji Duncan.....	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Penelitian.....	49
2. Data Hasil Analisis Kadar Superoxide Dismutase	49
3. Data Hasil Analisis Kadar Malondehyde	52
4. Perhitungan dosis	56
5. Dokumentasi Peneliti	58

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem reproduksi sangat erat hubungannya dengan keberadaan suatu spesies. Pada sistem reproduksi terdiri atas organ kelamin primer dan sekunder. Organ kelamin primer bertugas dalam membentuk gamet dan organ kelamin aksesoria yang memiliki peran dalam transpor, maupun menjaga kelangsungan hidup gamet (Sloane, 2003). Gamet pada perempuan berupa ovum yang dihasilkan oleh ovarium.

Ovarium dalam menghasilkan ovum melewati proses pematangan folikel. Folikel-folikel tersebut berperan dalam memproduksi hormon kewanitaan. Menurut (Eroschenko, 2015) pada ovarium terjadi perubahan-perubahan folikel dari primordial hingga matur yang diinduksi oleh hormon FSH. Berdasarkan (Lewis, 2007) perkembangan fase folikel akan menghasilkan hormon estrogen dan progesteron. Kedua hormon tersebut sangat berpengaruh terhadap proses folikulogenesis yang terjadi.

Proses follikulogenesis dipengaruhi oleh kondisi organ ovarium. Ovarium sebagai organ reproduksi dapat mengalami masalah berupa gangguan kesuburan. Gangguan kesuburan menurut (Muchtaromah, *et al.*, 2020) dapat terjadi akibat gangguan hormonal, stress oksidatif maupun kelainan pada organ penyusun sistem reproduksi. (Murdijati-Gardtijo *et al.*, 2018). Gangguan-gangguan tersebut dapat menyebabkan infertilitas (Ririn *et al.*, 2018).

Salah satu cara dalam mengatasi infertilitas dapat diatasi dengan mengkonsumsi jamu. Jamu merupakan obat tradisional dalam bentuk serbuk atau cairan dengan sejumlah bahan tertentu yang diproses dan disajikan secara tradisional (Parwata, 2017). Bahan baku jamu paling banyak berasal dari tumbuhan. Tumbuhan dengan segala macam kegunaan untuk kehidupan manusia telah diciptakan oleh Allah SWT dalam firman-Nya surah Asy-Syu'ara' ayat 7 yang tertulis :

أَو 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?*" (Q.S. Asy-Syu'ara [26] : 7).

Berdasarkan tafsir jalalin, kata *zauj* yang memiliki arti “jenis atau macam” dalam hal ini menyiratkan arti sebagai tumbuhan dan *karim* memiliki arti “mulia atau baik”, sehingga dapat diartikan sebagai tumbuhan yang bermanfaat (Mahalli & Assuyuti, 2007). Tumbuhan bermanfaat merupakan tumbuhan yang memiliki fungsi yang dapat digunakan baik dari sifat atau dari segi kandungan zat aktif yang dimilikinya. Penggunaan tumbuhan sebagai bahan baku jamu menurut Parwata (2017) biasanya menggunakan tumbuhan yang dikombinasikan dengan tujuan untuk dapat saling menyeimbangkan atau saling melengkapi zat aktif dalam komposisi jamu.

Beraneka ragamnya bahan baku jamu menyebabkan jamu memiliki komponen yang berifat kompleks sehingga bersifat multitarget pada tubuh (Rosyadah *et al.*, 2017). Proses pembuatan jamu yang terstandarisasi dengan bahan yang telah diekstrak dapat meningkatkan kelas jamu menjadi herbal terstandar atau fitofarmaka (Murdijati-Gardtijo *et al.*, 2018). Hasil ekstrak dari sediaan jamu akan mempermudah tubuh untuk menyerapnya. Zat hasil ekstrak yang dalam ukuran makro akan sulit diserap oleh tubuh karena memiliki bioavailabilitas rendah (Parwata, 2017).

Komposisi obat tradisional Subur Kandungan Ribkah Jokotole Madura terdiri atas 3 macam bahan yaitu *A. sativum*, *C. mangga*, *A. calamus*. Menurut (Muchtaromah, *et al.*, 2020) ketiga bahan tersebut mengandung flavonoid, alkaloid dan triterpenoid. ketiga senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, anti mikroba, imunomodulator serta dapat berperan sebagai fitoestrogen.

Kombinasi *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus*, memiliki zat aktif berupa flavonoid. Flavonoid akan meningkatkan reproduksi wanita dengan berikatan dengan reseptor estrogen alfa (REa) (Zulaikhah, 2017). Sifat estrogenik dari kandungan flavonoid dan alkaloid mempengaruhi sistem hormonal serta memperbaiki proses folikulogenesis dan fertilisasi. Fitoestrogen merupakan senyawa dengan struktur yang mirip dengan estradiol (Mardiati & Sitasiwi, 2008).

Fitoestrogen merupakan senyawa aktif yang diperoleh dari tumbuhan dengan struktur yang mirip estradiol (Mardiati & Sitasiwi, 2008). Apabila senyawa tersebut berinteraksi dengan reseptor estrogen akan memicu respon estrogenik dalam tubuh. Fitoestrogen dalam jumlah sedikit mampu mendukung peran estrogen endogen tubuh dengan membentuk kompleks hormon reseptor aktif. Kompleks tersebut akan berinteraksi dengan DNA dalam inti sel sehingga dapat memicu respon biologis yang akan muncul berdasarkan objek sasarannya (Desmawati & Sulastri, 2019).

Hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya penggunaan ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, *A. calamus* menurut Syanas (2018) memberikan pengaruh terhadap jumlah folikel yang bertambah. Hasil tersebut didukung oleh penelitian Aini (2017) dengan penggunaan dosis dan ekstrak yang sama penambahan hormon estrogen pada perlakuan 75 mg/kgBB. Peningkatan jumlah hormon estrogen tidak lepas dari kondisi organ ovarium.

Organ ovarium dalam melakukan proses folikulogenesis tidak lepas dari metabolisme sel yang terjadi dalam organ. Sel dalam menjalankan metabolisme sel akan menghasilkan hasil samping berupa oksidan. Oksidan ketika bereaksi dalam sel akan membentuk suatu rantai reaksi radikal bebas (Lewis, 2007).

Kondisi sel yang seimbang antara antioksidan dan stress oksidatif sangat penting. Keseimbangan tersebut bertujuan untuk memelihara integritas serta fungsi membran, protein, asam nukleat, dan pada sel imun bertujuan untuk mengatur transduksi *signal* dan ekspresi gen. Hal tersebut dapat pula menyebabkan senyawa asam lemak tak jenuh pada membran sel sensitif terhadap perubahan keseimbangan oksidan-antioksidan (Leatemia, 2010). Kondisi oksidan-

antioksidan dalam ovarium yang tidak seimbang akan mempengaruhi proses folikulogenesis baik dari segi hormon atau keadaan sel dalam jaringan organ ovarium.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mengurangi efek oksidan dalam tubuh yang bersifat negatif. Antioksidan dikelompokkan menjadi antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Dalam penelitian ini ingin mengetahui *super-oxide dismutase* (SOD) melindungi sel dari kerusakan akibat stress oksidatif dalam sel yang dapat ditemukan pada organisme aerob (Sayuti & Yenrina, 2015).

Aktivitas enzim antioksidan dapat diamati melalui menurunnya kadar malondialdehyde (MDA) (Yener *et al.*, 2013). MDA merupakan hasil dari radikal bebas yang telah mengoksidasi asam lemak tidak jenuh. Sehingga tingginya kadar MDA mengindikasikan dalam membran sel terjadi proses oksidasi. Kadar MDA yang menurun berbanding terbalik dengan kadar antioksidan dalam tubuh (Winarsi *et al.*, 2010).

Kerusakan sel akibat radikal bebas tersebut dapat dicegah melalui penggunaan zat aktif misalnya dengan flavonoid agar meningkatkan kadar SOD dan menurunkan MDA dalam tubuh. Senyawa yang diperoleh dari tumbuhan lebih sukar diserap, sehingga diperlukan cara untuk mengoptimalkan penyerapannya dengan memperkecil ukuran. Nanopartikel memiliki ukuran 1-1000 nm berupa koloid padat dan disalut dengan polimer. Ukuran nano adalah ukuran yang mudah untuk diserap ke dalam sel (Tiyaboonchai, 2018).

Nanopartikel dengan penyalutan kitosan saat ini sedang banyak dikembangkan sebagai media penghantaran obat. Hal ini dikarenakan kelebihan teknologi tersebut diantaranya partikel herbal lebih mudah menyebar dalam sirkulasi darah, mencapai pada target pengobatan lebih akurat dan meningkatkan luas permukaan sehingga kelarutannya meningkat (Purbowatiningrum dkk., 2017). Berdasarkan uraian diatas menjadi latar belakang dalam penelitian ini.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas menjadi latar belakang dalam penelitian ini. Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, maka rumusan masalah pada penelitian meliputi :

1. Apakah nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* berpengaruh terhadap kadar *superoxide dismutase* pada ovarium *Mus musculus*?
2. Apakah nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* berpengaruh terhadap kadar *malondehyde* ovarium *Mus musculus*?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini, yaitu :

1. Mengetahui bahwa nanopartikel nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* berpengaruh terhadap kadar *superoxide dismutase* pada ovarium *Mus musculus*.
2. Mengetahui bahwa nanopartikel nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* berpengaruh terhadap kadar *malondehyde* ovarium *Mus musculus*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini, yaitu :

1. Adanya pengaruh pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* terhadap kadar *superoxide dismutase* ovarium *Mus musculus*.
2. Adanya pengaruh nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* berpengaruh terhadap kadar *malondehyde* ovarium *Mus musculus*.

1.5 Manfaat

Manfaat dilakukan penelitian ini, yaitu :

1. Memberikan informasi tentang pengaruh nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* terhadap kadar *superoxide dismutase* ovarium *Mus musculus*.
2. Memberikan informasi tentang pengaruh nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* terhadap kadar *malondehyde* ovarium *Mus musculus*.

1.6 Batasan masalah

Batasan masalah penelitian ini adalah:

- a. Nanopartikel yang digunakan merupakan hasil dari kombinasi ekstrak ethanol 70% dengan komposisi simplisia *A. sativum* 36%, *C. mangga* 36%, dan *A. Calamus* 28%.
- b. Bahan yang digunakan merujuk pada penelitian obat herbal subur kandungan Madura.
- c. Parameter penelitian ini ovarium *Mus musculus* diuji kadar *superoxide dismutase* dengan kit Elabscience kode BC-K020 M dan *malondehyde* diuji dengan kit Elabscience kode BC- K025 S.
- d. Hewan yang digunakan pada penelitian ini berupa mencit (*Mus musculus*) betina usia 8 minggu, strain Balb/C, berat ± 25 gr
- e. Simplisia *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. Calamus* diperoleh dari Meteria medica kota Batu.
- f. Pelaksanaan lima kelompok perlakuan dilakukan selama 14 hari.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Herbal

Rakyat Indonesia telah mengenal jamu dan obat herbal sejak ratusan tahun lalu. Peran jamu selain sebagai obat dapat digunakan untuk memelihara kesehatan (Mudjiono *et al.*, 2014) Jamu memiliki kelebihan yaitu komponen bioaktif dari berbagai macam bahan dapat saling mempertinggi manfaat dari jamu. Sedangkan dalam dosis yang besar jamu perlu diwaspadai karena dapat mengakumulasi toksik. Akan tetapi interaksi bahan dalam resep jamu dapat saling menetralkan toksik pada antar bahan yang digunakan (Leatemia, 2010).

Jamu secara umum menggunakan bahan dasar yang berasal dari tanaman. Tanaman digunakan untuk jamu karena memiliki kandungan zat aktif di dalamnya (Murdijati-Gardtijo *et al.*, 2018). Allah SWT telah berfirman dalam surah ‘Abasa ayat 24-32 yang tertulis :

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ (٢٤) أَنَا صَبَّبْنَا الْمَاءَ صَبًّا (٢٥) ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا (٢٦) فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا (٢٧) وَعَيْنًا وَقَضْبًا (٢٨) وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا (٢٩) وَحَدَائِقَ غُلْبًا (٣٠) وَفَاكِهَةً وَأَبًّا (٣١) مَتَاعًا لَّكُمْ وَلِإِنْعَامِكُمْ (٣٢)

Artinya: “Maka, hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya. Sesungguhnya Kami telah mencurahkan air (dari langit) dengan berlimpah. Kemudian, Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya. Lalu, Kami tumbuhkan padanya biji-bijian, anggur, sayur-sayuran, zaitun, pohon kurma, kebun-kebun (yang) rindang, buah-buahan, dan rerumputan. (Semua itu disediakan) untuk kesenanganmu dan hewan-hewan ternakmu” (Q.S. ‘Abasa [80]: 24-32).

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah SWT membasahi bumi dengan air hujan untuk menumbuhkan berbagai tanaman yang memiliki berbagai bentuk dan tujuan. Keanergaman tumbuhan yang ada juga telah dimanfaatkan bagi manusia dan hewan untuk metabolisme tubuh. Tumbuhan dengan

kandungan zat aktif tertentu juga dimanfaatkan sebagai obat (Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an, 2010).

Potensi tanaman dengan memanfaatkan kandungan zat yang terdapat didalamnya dapat digunakan sebagai obat. Berdasarkan Al-Jauziyah (2003) Rasulullah SAW pernah bersabda dalam riwayat Ahmad yang dishahihkan pada Ash-Shahihah no. 451 sebagai berikut :

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمُهُ مَنْ عِلْمُهُ وَجَهْلُهُ مَنْ جَهْلُهُ

Artinya : “ *Sesungguhnya Allah Ta’ala tidak menurunkan penyakit, kecuali Allah juga menurunkan obatnya. Ada orang yang mengetahui ada pula yang tidak mengetahuinya.*” (HR. Ahmad 1/377, 413 dan 453 dishahihkan Al-Hakim).

Hadist tersebut secara implisit menjelaskan tentang anjuran kepada manusia untuk mendalami pengetahuan tentang pengobatan, karena setiap penyakit memiliki obat yang dapat menyembuhkan. Demikian dengan infertilitas yang dapat diobati dengan jamu subur kandungan.

Resep utama jamu subur kandungan dari PJ. Ribkah Maryam Jokotole berupa bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan rimpang jeringau (*A. calamus*). Khasiat jamu tersebut berdasarkan label yang tertera yaitu menyuburkan kandungan, memperkuat otot-otot rahim, menyehatkan badan dan kandungan serta mencegah terjadinya keguguran.

2.2 Bawang Putih (*Allium sativum*)

Klasifikasi tumbuhan bawang putih, sebagai berikut (Cronquist, 1981):

Kingdom	: Plantae
Devisio	: Magnoliophyta
Classis	: Liliopsida
Ordo	: Liliales
Familia	: Liliaceae
Genus	: Allium

Spesies : *Allium sativum* L.

Allium sativum atau bawang putih termasuk tumbuhan tipe herba parenial yang berumbi lapis. Bawang putih tumbuh secara berumpun dengan batang sejati di bawah tanah. Akar bawang putih berupa serabut kecil yang tumbuh dari pangkal batang serta bersifat rudimenter (Santoso, 2000).

Kandungan bioaktif dalam bawang putih paling banyak terdiri atas komponen organosulfur, saponin, komponen fenol, dan polisakarida (Queiroz *et al.*, 2009). Komponen organosulfur dalam bawang putih seperti allicin (*diallyl thiosulfonate*), *diallyl sulfide* (DAS), *diallyl disulfide* (DADS), *diallyl trisulfide* (DATS), E/Z-ajoene, *S-allyl-cysteine* (SAC), dan *S-allyl-cysteine sulfoxide* (alliin). Komponen fenol dalam bawang putih terdiri atas 20 macam dengan kandungan terbanyak berupa β -resorcylic acid (Shang *et al.*, 2019).

Allium sativum memiliki senyawa lain yaitu saltyvine (dapat mempercepat pertumbuhan sel dan serta jaringan saraf), belerang, diallylsulfide-alipofil sulfida (Anti cacing) protein, vitamin (A, B1, dan C) lemak fosfor dan besi. *Allium sativum* berperan sebagai antibakteri, antioksidan, antijamur, antiprotozoa, dan sebagainya. *A. sativum* sudah kini memiliki potensi sebagai anti tumor serta baik untuk sistem kardiovaskular (Hernawan & Setyawan, 2003).

Menurut Prasanto *et al.*, (2017) bawang putih memiliki kandungan antioksidan antara lain alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid dan triterpenoid. Aktivitas antioksidan pada ketiga senyawa tersebut disebabkan karena senyawa tersebut merupakan senyawa dengan gugus –OH yang terhubung karbon cincin aromatik yang merupakan senyawa fenol. Bawang putih memiliki kandungan fitoestrogen antara lain matairesinol, daidzein, genistein, glycitien, formononetin, pinoresinol, coumestrol, dan lariciresinol (Lilian *et al.*, 2006).

2.3 Temu mangga (*Curcuma mangga*)

Klasifikasi tumbuhan Temu mangga (*Curcuma mangga*), sebagai berikut (Cronquist, 1981):

Kingdom : Plantae

Devisio : Magnoliophyta
 Classis : Liliopsida
 Sub classis : Arecidae
 Ordo : Zingiberales
 Familia : Zingiberaceae
 Genus : Curcuma
 Spesies : *Curcuma mangga* Val.

Curcuma mangga memiliki ciri khas berupa umbi bewarna kuning dan beraroma seperti mangga kweni. Batang berada dalam tanah berupa rimpang, batang semu bewarna hijau serta daun tunggal berpelepah. Bunga terbelah dengan benang sari menempel pada putik (Bos *et al.*, 2007).

Senyawa polifenol yang paling banyak ditemukan di Famili Zingiberaceae berupa kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin (Sarma & Sharma, 2017). *Curcuma mangga* memiliki komponen utama berupa myrcene (81,4%), minyak atsiri (0, 28%), dan kurkuminoid (3%). Kunir putih memiliki kandungan senyawa fenol berupa flavonoids, dan tanin (Pujimulyani *et al.*, 2010) yang berfungsi sebagai pelindung sel granlosa. melalui reseptor hormone FSH-LH pada permukaan sel granlosa (Hendrikos dkk., 2014).

2.4 Jeringau (*Acorus calamus*)

Klasifikasi tumbuhan jeringau (*Acorus calamus*), sebagai berikut (Crounquist, 1981):

Kingdom : Plantae
 Devisio : Magnoliophyta
 Classis : Liliopsida
 Sub classis : Arecidae
 Ordo : Arales
 Familia : Araceae
 Genus : Acorus

Spesies : *Acorus calamus* L.

Acorus calamus (Acoraceae) atau jeringau termasuk tumbuhan obat yang memiliki rimpang. Rimpang jeringau memiliki kulit rimpang bewarna merah muda dengan bagian dalam bewarna putih dan bersifat aromatis. Daun bertekstur tebal dan keras menyerupai pedang serta memiliki aroma yang khas apabila dikoyak. Bunga berbentuk bonggol dengan ujung meruncing, dengan habitat di tempat yang lembab (Imam dkk., 2013).

Jeringau memiliki kandungan fenol, flavonoid dan triterpenoid (Djarkasi *et al.*, 2019). Jeringau memiliki fungsi sebagai anti karminatif, spasmodik, anthelmintik, ekspektoran, nervine (obat penenang) dan nauseate (mual) (Balakumbahan *et al.*, 2010). Jeringau juga dapat mengobati kolik, asma bronkhitis, pengobatan epilepsi, demam, penyakit mental, disentri, diare kronis, dan tumor di perut serta bersifat stimulan (Paithankar *et al.*, 2011).

Acorus calamus seperti flavonoid, alkaloid, polifenol dan minyak atsiri. *Acorus calamus* memiliki sifat antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, dan *Penicillium marneffe*. Rimpang jeringau mengandung minyak atsiri, tanin, sterol, lender, resin, glukosa dan kalsium oksalat .

2.5 Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel dengan diameter 1-1000 nm yang berupa koloid padat. Pada nanopartikel terdapat makromolekuler material. Makromolekuler material dapat menjerat senyawa aktif obat yang telah terlarut sehingga dapat berperan sebagai pembawa obat (Tiyaboonchai, 2018).

Perubahan ukuran dari senyawa makroskopik menjadi mikroskopik menyebabkan keadaan molekul menjadi tidak stabil yang berada di permukaan. Senyawa berukuran nanopartikel memiliki luas permukaan yang akan bersifat lebih reaktif. Reaktifitas yang tinggi pada nanopartikel, sehingga hampir semua jenis nanopartikel bebas memiliki kecenderungan untuk membentuk partikel yang lebih besar (Wilczewska *et al.*, 2012).

Nanopartikel dapat dibuat menggunakan metode gelasi ionik, yaitu metode yang sering dipakai peneliti dikarenakan proses yang sederhana, tidak memerlukan pelarut organik serta pengontrolannya yang mudah. Prinsip kerja dari metode ini adalah terbentuknya interaksi elektrostatis antar gugus amina oleh kitosan yang muatannya positif dengan polianion TPP yang bermuatan negatif akan 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).

2.6 Kitosan

Kitosan adalah senyawa poli (N- amino-2-deoksi- β -D-glukopiranos) atau glukosamin hasil deasetilasi kitin/poli (N-asetil- 2-amino-2-deoksi- β -D-glukopiranos). Kitosan memiliki sifat khusus berupa sifat bioaktif, antibakteri, pengkelat, biokompatibel dan dapat terbiodegrasi. Kitosan dapat larut pada media bersifat sedikit asam, sehingga penerapan secara langsung pada biomedis kurang baik. Aplikasi kitosan pada biomedis dimanfaatkan dalam mekanisme penghantaran serta pelepasan obat. Keterbatasan dari mekanisme pelepasan obat dengan kitosan adalah mudah menyerap air serta memiliki derajat swelling yang tinggi dalam lingkungan berair, kondisi tersebut menyebabkan pelepasan obat yang lebih cepat (Rampino *et al.*, 2013).

2.7 Mencit

Mus musculus (mencit) adalah hewan model di laboratorium yang digunakan secara umum (Nugroho, 2018). Kelebihan dari penggunaan hewan model berupa mencit antara lain biaya pemeliharaan lebih murah, lebih efisien waktu serta tingkat reproduksi tinggi (sekitar 10-12

anak/kelahiran). Sifat genetik lebih mudah diseragamkan daripada hewan ternak besar dengan waktu yang lebih singkat (Kartika dkk., 2013).

Penggunaan mencit umumnya dalam riset yang berkaitan dengan fisiologi, farmakologi, biokimia, patologi, histopatologi, toksikologi, zoologi komperatif dan biologi molekuler. Pemakaian mencit struktur anatomi dan fisiologi mencit memiliki kemiripan dengan struktur anatomi dan fisiologi manusia, menjadi salah satu alasan sering digunakannya mencit sebagai hewan coba (Veterinus dkk., 2021).

Taksonomi *Mus musculus* sebagai berikut (Auffray & Britton-Dividian, 2014) :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Classs	: Mammalia
Order	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

Mencit berdasarkan jenis kelaminnya dibedakan menjadi dua, yaitu betina dan jantan. Mencit betina memiliki organ reproduksi inti antara lain uterus, oviduct dan ovarium. Sedangkan organ reproduksi mencit jantan meliputi testis beserta salurannya misal duktus ejakulatorius ductus deferens dan kelenjar asesories. Kematangan organ reproduksi pada mencit akan terjadi pada umur 10-12 minggu (Nugroho, 2018).

2.8 Ovarium

Ovarium merupakan organ yang berfungsi menghasilkan oosit dan hormon-hormon reproduksi pada betina Ovarium mengandung banyak folikel yang merupakan unit fungsional dasar dari ovarium. Folikel mengalami pertumbuhan dan perkembangan pada korteks ovarium yang disebut folikulogenesis (Gannon, 2013). Menurut Lewis (2007) folikel ovarium terbagi

menjadi 4 kondisi yaitu istirahat, tumbuh, preovulasi, dan atresia. Ukuran ovarium dipengaruhi oleh aktivitas reproduksi dan optimalisasi fungsinya. Selain itu pembatasan nutrisi pada mencit menyebabkan folikel atresia sehingga jumlahnya menjadi sedikit (Chavatte-Palmer *et al.*, 2014). Morfologi ovarium yang baik mendukung optimalisasi fungsi ovarium yang akan menjadikan ovarium berkualitas baik sehingga berfungsi untuk menghasilkan oosit dan mempertahankan jumlah corpus luteum (Ramadhani, 2016).

Ovarium tersusun oleh jaringan dasar stroma, kumpulan dari jaringan ikat, otot polos serta pembuluh darah yang berjumlah banyak sehingga bergelung-gelung. Ovarium terbagi menjadi korteks yang terhubung secara langsung dengan tunika albugenia serta medulla yang berada di dalamnya (Vidal & Dixon, 2018). Stroma korteks tersusun atas jaringan ikat longgar. Lapisan tunika albugenia dapat menipis maupun menghilang akibat desakan perkembangan folikel ovarium serta korpus luteum. Medulla ovarium terdapat saraf serta pembuluh darah (Eroschenko, 2015)

2.9 Mekanisme Hormonal

Ovarium dalam mekanisme pembentukan folikel dipengaruhi oleh beberapa hormon diantaranya Lutein hormon (LH), Follicle Stimulating Hormone (FSH), estrogen dan progesteron (Campbell, 2010). Siklus reproduksi diawali dengan hipotalamus melepaskan gnRH yang akan merangsang pituitari anterior untuk mensekresikan fsh dan LH dalam jumlah kecil. hormon fsh merangsang pertumbuhan folikel dibantu oleh LH serta sel-sel folikel yang sedang tumbuh mulai memproduksi estradiol (Vidal & Dixon, 2018).

Permulaan siklus seksual wanita diawali dengan meningkatnya konsentrasi FSH dan LH. peningkatan ini menyebabkan pertumbuhan sel teka dan sel granulosa dipercepat (Sloane, 2003). Sel teka dan sel granulosa juga menyekresikan cairan folikular yang mengandung estrogen berkonsentrasi tinggi penimbunan cairan ini dalam folikel menyebabkan terbentuknya antrum dalam sel sel theca dan sel granulosa. Apabila antrum telah terbentuk sel teka dan granulosa akan melakukan proliferasi, sekresi bertambah cepat, dan folikel yang tumbuh menjadi folikel vesikuler

folikel vesikuler terus membesar akibat bertambahnya jumlah sel teka dan granulosa pada salah satu kutub folikel (Lewis, 2007).

Hormon Lutein akan merangsang sel-sel teka pada folikel yang masak untuk memproduksi estrogen, selanjutnya peningkatan kadar estrogen diiringi peningkatan hormon Lutein akan menyebabkan terjadinya ovulasi. Folikel yang berkembang di bawah pengaruh LH akan menyekresikan estrogen dan progesterone. Lutein hormon akan merangsang terjadinya ovulasi dan mempengaruhi korpus luteum untuk menyekresikan estrogen dan progesteron proses terakhir disebut dengan laktogenik yang pada beberapa spesies berada di bawah pengaruh prolactin (Hall & Guyton, 2007). FSH memiliki fungsi utama untuk merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium tetapi tidak menyebabkan ovulasi. Fungsi utama FSH adalah menstimulasi perkembangan gametogenesis dan folikel pada wanita yang bekerja pada folikel ovarium yang belum dewasa, menginduksi perkembangan oosit dan folikel dewasa (Eroschenko, 2015).

Sistem sinyal reseptor FSH berperan penting dalam pertumbuhan dan diferensiasi folikel dominan melalui pembentukan cairan folikel, proliferasi sel, produksi E2 dan ekspresi reseptor LH (Ecochard *et al.*, 2017). Hormon LH turut Membantu perkembangan folikel hingga mencapai kematangan sempurna. Hormon LH maupun FSH diperlukan untuk steroidogenesis ovarium dengan tepat, menstimulasi produksi androgen dan FSH menstimulasi perubahan androgen menjadi estrogen dan sel granulosa (Katzung *et al.*, 2012). Progesteron hanya akan disekresikan setelah ovulasi terjadi kadar progesteron setelah ovulasi akan terus meningkat hingga mencapai jumlah maksimal (Campbell, 2010). Jika terjadi fertilisasi pada sel telur, hormon progesteron akan dipertahankan hingga kebuntingan terjadi. apabila tidak terjadi fertilisasi kadar hormon progesteron akan menurun hingga berakhirnya siklus (Sloane, 2003).

2.10 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil karena kurangnya elektron berpasangan. Karakter radikal bebas berupa waktu paruh yang pendek dan tingkat reaktivitasnya tinggi. Radikal bebas sebagian besar dapat terbentuk secara alami yang melibatkan prooksidan ROS dan *reactive*

nitrogen species (RNS) (Leverve, 2009). Radikal bebas dalam jumlah normal membantu dalam mengurangi inflamasi dan bakteri di dalam tubuh. Jika dalam jumlah banyak radikal bebas dalam tubuh, dapat menyebabkan kerusakan sel hingga DNA mengalami mutasi (Murray *et al.*, 2009).

Proses terbentuknya radikal bebas, dimulai saat molekul yang belum stabil berusaha mengambil elektron lain yang tersedia. Proses tersebut akan terjadi secara berantai sehingga dapat merusak ribuan molekul lain. Apabila jumlah ROS dan RNS berlebihan dalam tubuh akan menyebabkan stress oksidatif (Berawi & Agverianti, 2017). Stres oksidatif merupakan suatu kondisi yang terbentuk ketika jumlah antioksidan lebih sedikit dibandingkan dengan radikal bebas (Rani & Singh Yadav, 2015).

Stres oksidatif memiliki hubungan yang erat dengan proses inflamasi sistemik, proliferasi sel endotel, apoptosis, serta vasokonstriksi. Efek jangka panjang stres oksidatif dapat menimbulkan penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus, aterosklerosis yang merupakan penyebab penyakit jantung koroner ataupun gagal jantung (Rani & Singh Yadav, 2015).

Kerusakan sel akibat radikal dapat terjadi melalui tiga macam, yaitu : (1) kerusakan DNA, kerusakan terhadap DNA sehingga mengalami kerusakan sel, (2) modifikasi protein, disebabkan oleh cross linking (pindah silang) protein mediator asam amino yang membentuk, (3) peroksida komponen lipid pada membran sel dan sitosol, menyebabkan munculnya reduksi asam lemak (otokatalisis) secara berantai sehingga membran dan organel sel mengalami kerusakan (Sayuti & Yenrina, 2015).

2.11 Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul kimia yang dapat menstabilkan molekul lain melalui donor elektron, sehingga dapat mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas pada peroksida lipid (Rani & Singh Yadav, 2015). Antioksidan memiliki karakteristik mudah mengalami oksidasi.

Antioksidan akan tereduksi oleh radikal bebas sehingga dalam melindungi sel dari kerusakan akibat oksidasi atau oksigen reaktif (Werdhasari, 2014).

Antioksidan dalam menjalankan perannya, tidak lepas dengan senyawa oksidan. Senyawa oksidan akan mengakibatkan stress oksidatif yang akan mengganggu fungsi dan kerja sel. Kerusakan oleh radikal bebas dapat dicegah dengan antioksidan. Kedua senyawa tersebut selalu berhubungan, sehingga bisa dikatakan bahwa keduanya berpasangan. Allah SWT telah berfirman dalam surah Yasin ayat 36 yang tertulis :

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ (٣٦)

Artinya : “Mahasuci (Allah) yang telah menciptakan semuanya berpasang pasangan, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka sendiri maupun dari apa yang tidak mereka ketahui” (Q.S. Yasin [36] : 36).

Tafsir Al-Misbah (1999) menjelaskan bahwa kata *zauj* yang memiliki arti berpasangan tidak hanya pada makhluk hidup saja melainkan untuk dua hal yang berdampingan ataupun berpasangan. Hal tersebut ditegaskan oleh ar-Raghib bahwa kesamaan yang dimaksud dapat bersifat selaras ataupun bertolak belakang. Hubungan antara oksidan-antioksidan yang bertolak belakang dalam menjaga kondisi sel, diperlukan dalam jumlah yang tepat agar dapat saling menyeimbangkan.

Antioksidan berdasarkan sumbernya terbagi dua, yaitu antioksidan endogen dan eksogen (Wedhasari, 2014). Antioksidan endogen berasal dari dalam tubuh yang secara alami diproduksi dalam sel, meliputi katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GPx). Antioksidan eksogen berasal dari luar tubuh yang diperoleh dari yang dikonsumsi, antara seperti betakaroten, isoflavon, vitamin (A, C, dan E), saponin, polifenol (Arulselvan *et al.*, 2016).

Antioksidan dalam proses masuk ke dalam tubuh memiliki tiga macam mekanisme (Sayuti & Yenrina, 2015) :

1. Antioksidan primer berperan dalam mencegah terbentuknya radikal bebas baru. Tindakan pencegahan yang terjadi melalui sifat pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*)

dengan cara berikatan dengan radikal lipid dapat mengubahnya menjadi produk yang stabil. Mekanisme yang terjadi diawali dengan pemberian atom hidrogen terhadap radikal lipid, ataupun bentuk radikal antioksidan. Berikut contoh golongan antioksidan primer, yaitu (Sen & Chakraborty, 2011):

a. *Superoksida dismutase (SOD)*

SOD merupakan antioksidan endogen yang bertugas dalam dalam pertahanan tubuh. SOD memiliki tiga bentuk : (1). Cu-SOD berada di luar sel (ekstraseluler), (2). Cu-Zn SOD berada di dalam sitosol, (3) Mn-SOD berada di mitokondria. Aktivitas SOD paling tinggi dijumpai pada organ hepar. Aktivitas SOD lainnya dapat dijumpai pada organ : hati, otak, limpa, darah, usus, pankreas, kelenjar adrenal, ovarium, paru-paru, dan lambung (Kabel, 2014).

SOD melindungi sel dari kerusakan dengan cara mengubah anion superoksida menjadi komponen lain yang kurang berbahaya, yaitu hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida setelah bereaksi dengan enzim katalase di dalam mitokondria menghasilkan senyawa H_2O serta O_2 , sedangkan H_2O_2 yang terdapat di sitosol akan bereaksi dengan enzim glutathion peroksidase (Zulaikhah, 2017)

SOD merupakan enzim primer endogen (Poitout & Robertson, 2008). Radikal bebas dapat terbentuk dari molekul yang mengandung atom oksigen yang dapat memproduksi radikal bebas atau yang diaktifkan oleh radikal berupa radikal hidroksil, superoksida, dan hidroksi peroksida. Kerusakan yang terjadi akibat radikal bebas pada sel terutama perubahan makromolekul seperti asam lemak pada membran lipid, protein, dan DNA (Kohen & Nyska, 2002).

b. *Glutathion Peroksidase (GPx)*

GPx merupakan antioksidan endogen dalam sitoplasma dan sebagian kecil dalam mitokondria. Enzim Gpx dalam melindungi sel, dengan cara membentuk peroksida organik pada proses oksidasi kolesterol serta asam lemak. Hidrogen peroksida serta lipid peroksida setelah bereaksi dengan enzim GPx akan diubah menjadi lipid senyawa air (Winarsi et al., 2010).

c. *Katalase (CAT)*

Antioksidan endogen jenis katalase berperan dalam mendukung kerja enzim SOD sehingga dapat mempercepat reaksi perubahan pada berbagai macam peroksida dan radikal bebas menjadi oksigen dan air (Arulselvan et. al., 2006).

2. Antioksidan sekunder berperan sebagai sistem pertahanan preventif. Mekanisme yang terjadi melalui memotong rantai reaksi oksidasi dari radikal bebas, sehingga radikal bebas tidak dapat bereaksi dengan komponen seluler. Contoh antioksidan seluler antara lain : vitamin A, vitamin E, vitamin C, β -karoten, serta flavonoid yang berasal dari tumbuh-tumbuhan (Sayuti & Yenrina, 2015).
3. Antioksidan tersier berperan sebagai antioksidan repaired. Mekanisme yang terjadi dengan cara memperbaiki kerusakan akibat radikal bebas yang reaktif terhadap biomolekul sel. Contoh dari antioksidan tersier adalah methionin sulfoksida reductase serta enzim DNA repair (Kohen & Nyska, 2002).

2.10 Stress oksidatif dan reproduksi

Perkembangan oosit terjadi di dalam ovarium, pada meiosis tahap I akan diperoleh oosit yang dapat berkembang. Proses ini terjadi dengan meningkatnya *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dan dihambat oleh adanya antioksidan. Sedangkan pada meiosis II akan diinduksi oleh keberadaan antioksidan. Kemudian peningkatan produksi hormone steroid pada perkembangan folikel akan meningkatkan P450, yang berperan dalam pembentukan ROS dalam ovarium (Ruder et al., 2008).

ROS yang diproduksi oleh folikel *pre-ovulatory* berperan penting dalam merangsang terjadinya ovulasi. Sedangkan kehilangan oksigen akan menstimulasi terjadinya angiogenesis folikular, yang akan berperan dalam perkembangan folikel. ROS yang dihasilkan oleh folikuler akan menginisiasi terjadinya apoptosis, dimana glutathione dan Follicular Stimulating Hormon (FSH) bersifat saling menyeimbangkan saat pertumbuhan folikuler. Hormon estrogen akan meningkatkan respon terhadap FSH, dan memicu pembentukan katalase pada folikel yang dominan dan menghindari apoptosis (Vidal & Dixon, 2018).

Penurunan Cu, Zn-SOD juga meningkatkan PGF2-alpha atau makrofag, atau penurunan pada aliran darah. PGF2-alpha akan menstimulasi produksi anion SO pada sel luteal dan leuosit fagositik pada korpus luterum. Penurunan aliran darah pada ovarium disebabkan oleh produksi ROS yang berlebih. Konsentrasi dari Mn-SOD pada korpus luteum saat regresi meningkatkan produksi ROS pada mitokondria akibat reaksi inflamasi dan sitokinesis (Silvestris *et al.*, 2019). Sedangkan gangguan pada korpus luteum disebabkan oleh penurunan Mn-SOD pada sel yang mengalami regresi. Pada tahap ini kematian sel sangat dekat, keberadaan Cu, Zn-SOD sangat berkaitan dengan produksi progesterone (Ruder *et al.*, 2009).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian tentang pengaruh nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma manga* dan jeringau *Acorus calamus* terhadap kadar *superoxide dismutase* dan *malondehyde* ovarium *Mus musculus* hal ini merupakan penelitian ekperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima jenis perlakuan dan enam ulangan.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini, yaitu :

1. Variabel bebas : nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* yang terdiri dari dua dosis 25 mg/kg BB dan 50 mg/kgBB serta klomifensitrat dosis 0,9 mg/kgBB.
2. Variable terikat : kadar *superoxide dismutase* dan *malondehyde*
3. Variable kontrol : mencit perlakuan dengan aquades.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini berlangsung sejak bulan April hingga Oktober 2020. Proses penelitian dimulai dari pembuatan nanopartikel ekstrak kombinasi hingga uji SOD dan MDA ovarium mencit di pelbagai laboratorium antara lain : Laboratorium Farmasi, Universitas Ma Chung Malang sebagai tempat pembuatan nanopartikel; Lab. Mikrobiologi. Lab. Fisiologi Hewan, Lab. Hewan Coba, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang; Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Brawijaya Malang sebagai lokasi pengujian kadar SOD dan MDA ovarium mencit.

3.4 Populasi dan sampel

Sampel menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) betina *strain* Balb-C, berat badan ± 25 g, serta berumur ± 8 minggu yang diperoleh dari UPHP (Unit Pengembangan Hewan Percobaan) yang berada di Jl. Soekarno Hatta Malang.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada perawatan mencit, yaitu: kandang hewan coba, tempat minum, tempat makan, timbangan analitik (Sartorius), *beaker glass* 500 ml (IsoLab), *beaker glass* 1000 ml (IWAKI), erlemeyer 500 ml (IWAKI), corong, kertas saring *whatmann*, gelas ukur (IWAKI), toples, spatula, rotary evaporator, *hot plate* (Barnsteaad), homogenizer (IKA T-25 Ultra-Turrax), sonikator (Cole Pamer CV188), tube 15 ml, setrifugasi (*Thermoscientific Heraceus Labokuge* 200), incubator (Memmert UNB 400), *stirrer*, saringan 80 mesh, spatula, mortar, pistil, *freezer*, mikropipet 1 ml (BioRad), gavage 16G. tube 1,5 ml, *icepack* (thermafrezz), spektrofotometer, *tissue grinde*, vortex mixer, water bath, 96-well *microplate*, *microplate reader*, dan *multichannel pippetor*.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mus musculus* betina *strain* Balb-C, berat badan ± 25 g, dan berumur ± 8 minggu, etanol 70%, simplisia bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*) dan jeringau (*Acorus calamus*), tween 80, kitosan, STTP (Sodium tripolifosfat), pakan mencit tipe BR-1, ovarium, NaCl 0,9 %, aquades, PBS steril, HCG, PMSG, Giemsa, klomifen sitrat (Profertil), Kit SOD (Elabscience) dan kit MDA (Elabscience).

3.6 Kegiatan Penelitian

3.6.1 Persiapan Hewan Coba

Persiapan pemeliharaan mencit meliputi mempersiapkan tempat pemeliharaan kandang, tempat minum, sekam kayu, tempat pakan untuk mencit. Mencit sebelum perlakuan diaklimatisasi selama 14 hari, dengan pemberian pakan BR-1 dan air minum secara *ad libitum*.

3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel

Subjek penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok. Pada penelitian ini jumlah sampel untuk setiap kelompok dari hasil rumus Federer (Muntaha et al., 2015) minimal 4,75 ekor, untuk hasil yang lebih optimal dipilih enam ekor untuk setiap kelompok. Sehingga total mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30. Pembagian kelompok perlakuan dikelompokkan sebagai berikut :

1. K- (Kontrol negatif): perlakuan 0,3 ml Aquades
2. P1 (Perlakuan satu): perlakuan 0,3 ml nanopartikel ekstrak kombinasi 25 mg/kg BB
3. P2 (Perlakuan dua): perlakuan 0,3 ml nanopartikel ekstrak kombinasi 50 mg/kg BB
4. P3 (Perlakuan tiga): perlakuan 0,3 ml jamu subur kandungan “Ribkah Jokotole Madura” 75mg/kg BB.
5. P4 (Perlakuan empat): perlakuan 0,3 ml Kloromifensitrat 0,9 mg/kg BB

3.6.3 Pembuatan Ekstrak

Simplisia *Allium Sativum* (36%), *Curcuma manga* (36%) dan *Acorus calamus* (28%) dengan massa total 100 gr dimaserasi menggunakan etanol 70% dalam perbandingan 1: 4 (Muchtaromah, et al., 2020). Dilakukan perendaman selama 24 jam dan pengadukan sesekali, kemudian dilakukan penyaringan dengan bantuan corong *bunchner* yang telah dilapisi kertas saring whatman. Hasil penyaringan yang berupa ampas dilakukan maserasi kembali selama 24

jam. Hasil penyaringan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* bersuhu 40-50°C, kemudian disimpan dalam erlemeyer 250 ml (Karmila *et al.*, 2017, modifikasi).

3.6.4 Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Kombinasi

Disiapkan larutan Asam Asetat Glasial 0,5% (0,5ml) dilarutkan dalam 100ml akuades, selanjutnya ditambahkan kitosan 0,5 % (0,5 gr). Kemudian ditambahkan TPP 0,5% (0,1gr) sebanyak 20 ml dan diaduk dengan bantuan *magnetic stirrer*. Ditambahkan 0,1 gr hasil ekstrak kombinasi *Allium Sativum*, *Curucuma mangga* dan *Acorus calamus* dan dihomogenkan kembali dengan *magnetic stirrer*. Ditambahkan tween 80 sebanyak 1 ml dan dihomogenizer dengan kecepatan 10.000rpm selama 60 menit. Larutan tersebut disonifikasi selama 90 menit dengan frekuensi 20kHz (amplitude 90%). Selanjutnya hasil sonifikasi dituang dalam tube 15 ml untuk dilakukan sentrifugasi 3000 rpm selama 30 menit. Pellet yang diperoleh dikeringangkan dengan incubator dengan suhu 40°C. Selanjutnya pellet yang telah kering diubah menjadi serbuk dengan cara menggerus menggunakan nitrogen cair. Hasil serbuk disaring untuk mendapatkan serbuk berukuran nanopartikel (Pakki *et al.*, 2016, modifikasi).

3.6.5 Pemberian Ekstrak Nanopartikel

3.6.5.1 Sinkronisasi dan Pengecekan Siklus Estrus

Fase estrus *Mus musculus* diserentakkan dengan PMSG dan HCG 5 IU tiap ekor. Induksi pertama berupa 5 UI PMSG melalui intraperitonal, kemudian dilanjutkan dengan 5 IU HCG setelah 48 jam induksi sebelumnya (Sari, 2017). Pengecekan fase estrus dilakukan dengan mengambil lendir pada lubang vagina mencit. Proses pengambilan dengan menggunakan pipet tetes yang berisi NaCl 0,9 % dan cairannya dikeluarkan masukkan secara perlahan sebanyak 1-2 kali. Lendir yang telah diperoleh ditetaskan pada objek glass dan difiksasi dengan methanol 10% hingga kering, kemudian diwarnai dengan giemsa. Setelah kering dilakukan pencucian dengan aquades

yang mengalirkan dikeringkan kembali. Preparat kemudian diamati dengan perbesaran 100x (Cora & Ooistra, 2015, modifikasi).

3.6.6.1 Penentuan Dosis Perlakuan

Pemberian dosis mengacu pada Muchtaromah et. al. (2020) nanopartikel *Allium Sativum*, *Curucuma mangga* dan *Acorus calamus* dilakukan secara oral dengan dosis 25mg/kgBB dan 50mg/kgBB. pemberian dosis jamu sebesar 75 mg/kgBB dan klomifensitrat sebanyak 0,9mg/kgBB.

3.6.6 Tahap Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan setelah hari ke 15 pemberian perlakuan. Mencit kemudian didislokasi serta dibedah untuk keperluan pengambilan organ ovarium. Organ ovarium digunakan sebagai bahan pengukuran kadar SOD dan MDA.

3.6.6.1 Pengujian SuperoxideDismutase (SOD)

Penelitian ini pada kadar SOD dengan kit dari Elabscience dengan metode WST-1 (Total Superoxide Dismutase Activity Assay Kit) kode BC-K020 M. Organ ovarium dibuat menjadi homogenate 10% dan disenrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 1500 xg. Langkah pengujian terdiri dari pembacaan *blank*, *standart*, kontrol dan sampel pada gelombang 450nm. Pembacaan kontrol dengan komposisi ddH₂O sebanyak 20 µl, *enzyme working solution* 20µl, dan *substrate application solution* 200µl. Pembacaan blank kontrol dengan komposisi ddH₂O sebanyak 20 µl, *enzyme diluent* 20µl, dan *substrate application solution* 200µl. Pembacaan sampel well dengan komposisi sampel sebanyak 20 µl, *enzyme working solution* 20µl, dan *substrate application solution* 200µl. Pembacaan blank sampel well dengan komposisi sampel sebanyak 20 µl, *enzyme diluent* 20µl, dan *substrate application solution* 200µl (Elabscience, 2019b).

3.6.6.2 Pengujian Malondehyde (MDA)

Pengujian kadar MDA pada organ ovarium mencit menggunakan kit dari Elabscience kode BC- K025 S dengan metode TBA (Calorimetric Assay Kit). Secara bergantian ovarium mencit ditimbang dan digerus sebanyak $\pm 0,1$ mg ditambahkan buffer PBS hingga 1 ml. Kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm dan disimpan pada suhu dingin. Langkah pengujian terdiri dari pembacaan *blank*, *standart*, control dan sampel pada *Optical Density* 523 nm. Pembacaan blank dengan komposisi etanol absolut 0,1 ml, reagen 1 (*clarificant*) 0,1 ml, reagen 2 (reagen asam) 3 ml dan reagen 3 (*chromogenic agent*) 1 ml. Pembacaan standart dengan komposisi reagen 4 (10 nmol/ml standart) 0,1 ml, reagen 1 volume 0,1 ml, reagen 2 volume 3 ml, dan reagen 3 sebanyak 1 ml. Pembacaan kontrol dengan komposisi supernatant sampel 0,1 ml, reagen 1 sebanyak 0,1 ml, reagen 2 sebanyak 3 ml dan asam asetat glasial 50% sebanyak 1 ml. Pembacaan sampel dengan komposisi supernatant sampel 0,1 ml, reagen 1 sebanyak 0,1 ml, reagen 2 sebanyak 3 ml dan reagen 3 sebanyak 1 ml (Elabscience, 2019a).

3.7 Analisis Data

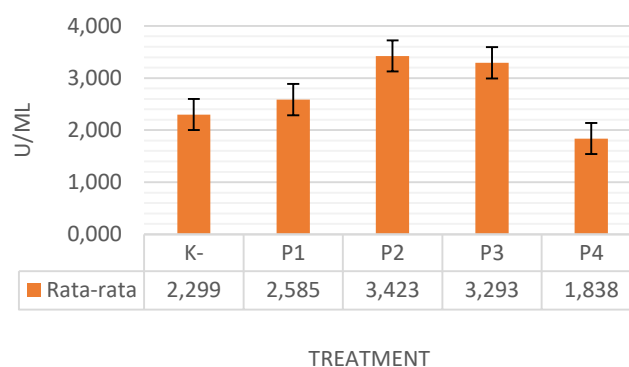
Hasil pengujian kadar SOD dan MDA diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Menurut Sugiyono (2011) apabila data yang didapatkan tergolong normal ($\text{sig.} > 0,05$) akan dilakukan uji *Homogenitas Levene*, data yang tidak memenuhi syarat (nonparametrik) akan diuji dengan *Welch dan Brown-Forsythe*. Apabila data syarat parametrik telah dipenuhi maka dianalisis menggunakan *One Way Anova*. Jika diperoleh F hitung $>$ F tabel 5% maka H_1 diterima dan H_0 ditolak. Jika terjadi perbedaan data yang signifikan dilakukan uji Duncan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap kadar *Superoxide Dismutase Ovarium Mencit* (*Mus musculus*)

Superoksida Dismutase (SOD) merupakan salah satu penanda dalam mencegah terbentuknya radikal bebas atau oksida lain (Harjanto, 2003). SOD termasuk antioksidan intraseluler yang merupakan metaloenzim yang mengkatalisis dismutase anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. SOD dianalisis dengan menggunakan xantin dan xantin oksidase penangkal radikal bebas (*scavanger*) kemudian diamati melalui spektrofotometer (Sugito, 2012). SOD sebagai salah satu antioksidan dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah yang cukup, sehingga keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas dalam tubuh dapat dicapai. Ketidakseimbangan kadar antioksidan dan radikal bebas dalam waktu yang lama akan menyebabkan munculnya penyakit degeneratif.



Gambar 4.1 Grafik Data Hasil Rata-rata kadar Superoxide dismutase Ovarium Mencit yang Dipengaruhi Beberapa Perlakuan

Data yang telah diperoleh dari pengukuran kadar SOD ovarium mencit Balb/C normal dihitung menggunakan software analisis statistik dengan SPSS 25.0 *for Windows*. Data peningkatan kadar SOD yang telah diperoleh rerata secara berurutan dari nilai tertinggi hingga

terendah: P2 (3,423 U/mL), P3 (3,293 U/mL), P1 (2,585 U/mL), K- (2,299 U/mL), dan P4 (1,838 U/mL). Kadar SOD tertinggi terdapat pada P2 dengan pemberian nanopartikel dosis 25 mg / kgBB.

Data tersebut kemudian diuji normalitasnya melalui tes *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan signifikansi $0,217 > \alpha = 0,05$. Hasil yang diperoleh terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *Homogenitas Levene*. Hasil uji homogenitas menandakan data memiliki signifikansi $0,377 > \alpha = 0,05$, yang artinya data terindikasi homogen dan memenuhi syarat parametrik. Menurut Sugiyono (2015) data yang memiliki distribusi normal dan homogen dapat dilakukan uji parametrik, salah satunya dengan *Analysis of Variant* (ANOVA).

Hasil perhitungan dengan ANOVA, didapatkan nilai signifikansi 0,000 pada taraf 5% dengan arti hipotesa nol ditolak dan hipotesa satu diterima. Hipotesa satu menunjukkan bahwa pemberian ekstrak nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga* dan *Acorus calamus* memberikan efek terhadap kadar superoksida dalam tubuh. Hasil ANOVA yang signifikan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan.

Tabel 4.1 Pengaruh pemberian beberapa perlakuan terhadap kadar superoxide dismutase mencit menggunakan uji Duncan

Perlakuan	Kadar SOD	Notasi
K- (mencit normal)	2,299	b
P1(nanopartikel dosis 25 mg/kgBB)	2,585	c
P2 (nanopartikel dosis 50 mg/kgBB)	3,423	d
P3 (jamu subur kandungan 75 mg/kgBB)	3,293	d
P4 (klomifen sitrat 0,9 mg/kgBB)	1,838	a

Hasil yang diperoleh dari uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) menunjukkan bahwa hasil kadar tertinggi pada perlakuan P2 yaitu nanopartikel dosis 50 mg/kg BB (3,423). Hasil P2 tidak berbeda nyata dengan P3 atau jamu subur kandungan dosis 75 mg/kgBB (3,293). Kadar SOD terbaik selanjutnya pada perlakuan P1, K- dan terendah pada P4. Perlakuan dalam bentuk nanopartikel menurut (Rampino *et al.*, 2013) memiliki keunggulan seperti memperbaiki profil farmakokinetik, menurunkan toksisitas, melindungi dari degradasi enzimatik atau memperoleh pelepasan zat aktif terkendali.

Hasil P1 yaitu dengan pemberian nanopartikel dosis 25 mg/kg BB (2,585 U/mL), berbeda nyata dengan mencit K- atau perlakuan normal (2,299 U/mL). Khaira, (2010) menjelaskan bahwa ketika keadaan normal, peredaman radikal bebas pada aktivitas pertahanan dilakukan oleh antioksidan endogen, contohnya : CAT, katalase, GSH-Px, GSH, SOD. Peningkatan kadar SOD diduga terdapatnya zat aktif dalam ekstrak kombinasi yang digunakan. Kandungan antioksidan dalam kombinasi *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus* menurut Muchtaromah, *et al.*, (2020) terdapat kandungan alkaloid, flavonoid dan triterpenoid.

Flavonoid dalam menangkal radikal bebas dapat melalui mekanisme langsung dan tidak langsung (Abarikwu *et al.*, 2017). Flavonoid pada mekanisme langsung akan menghambat proses inisiasi dan propagasi radikal bebas. Mekanisme tidak langsung dengan cara mengaktifasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) sehingga sintesis enzim antioksidan endogen meningkat (Zulaikhah, 2017). Menurut Hardiningtyas dkk., (2014) flavonoid berperan sebagai antioksidan hidrofilik dan hidrofobik, sedangkan senyawa triterpenoid tergolong dalam senyawa antioksidan lipofilik.

Kandungan alkaloid menurut Macadova *et al.*, (2019) dapat berperan pada tingkat NADPH-okidase ataupun bertindak sebagai pro-oksidan. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antioksidan dengan cara mengaktifasi Nrf2 sehingga dapat menghambat produksi NADPH-oksidase. Pengambatan produksi NADPH-oksidase menurut Barbior (2004) dapat menekan

produksi superoksida dari oksigen dan NADPH. Alkaloid dan antioksidan yang lain bekerja dalam melawan radikal bebas dengan kadar yang sesuai kebutuhan (Khaira, 2010).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wulandari (2016) dengan ekstrak yang memiliki kandungan flavonoid dan alkaloid menunjukkan aktifitas antioksidan sebesar 77,83 % yang masuk dalam kategori sedang. Hal ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Mukholifah (2015) bahwa hasil pemberian ekstrak yang mengandung flavonid memiliki sifat yang mirip dengan estradiol sehingga dapat meningkatkan kadar antoksidan di dalam tubuh.

Hasil P4 yaitu dengan pemberian klomifen sitrat dosis 0,9 mg/kg BB (1,838 U/mL), berbeda nyata dengan perlakuan mencit normal (K-). Hasil perlakuan klomifen sitrat menunjukkan kadar SOD yang rendah. Menurut Zakariya dkk., (2014) klomifen sitrat bekerja sebagai zat antiestrogen.

Jiang & Kuang (2014) menjelaskan bahwa klomifen sitrat berkaitan dengan peningkatan *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH) melalui pemblokiran umpan balik negatif yang akan diterima oleh reseptor estrogen di hipotalamus. GnRH menurut (Vidal & Dixon, 2018) akan merangsang pembentukan *Luteinizing-hormone* (LH) yang dimana akan mempengaruhi pematangan sel telur. Menurut penjelasan Wang *et al.*, (2017) saat pematangan sel ovum akan menghasilkan tingkat ROS yang tinggi di dalam ovarium hingga saat ovulasi terjadi.

Kondisi antioksidan yang tinggi dalam ovarium menurut (Ruder *et al.*, 2008) terjadi saat proses inisiasi meiosis II dan setelah ovulasi. Tingkat SOD tertinggi menurut Laloraya *et al.*, (1989) dalam Wang *et al.*, (2017) pada fase pro-estrus, memiliki berkorelasi dengan kondisi fertilisasi yang rendah. Setelah terjadi ovulasi tingkat SOD dalam ovarium akan meningkat untuk menghilangkan jumlah ROS yang berlebih saat ovulasi. Ambe *et al.*, (2005) berpendapat bahwa tingkat antioksidan dengan estradiol intrafolikular memiliki korelasi yang positif tentang kualitas oosit yang dihasilkan.

Radikal bebas dalam tubuh terbentuk akibat input elektron yang tinggi serta aliran elektron yang terbatas akan menimbulkan reduksi pada rantai respirasi kompleks 1 dan III (Rani & Singh

Yadav, 2015). Mukholifah (2015) menambahkan bahwa radikal anion superoksida akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) akibat kurangnya jumlah oksigen pada kompleks I dan III.

Bhuiyan (2009) menyatakan bahwa yang melakukan pengaturan terkait keseimbangan redoks seluler adalah *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) Cichoz-Lach (2014) menjelaskan bahwa pada kondisi fisiologis, Nrf2 akan mengikat kelch-like ECH-associated protein-1 (Keap1) yang berada di sitosol, dan selebihnya tidak diaktifkan sehingga mudah terdegradasi. Apabila kondisi tekanan oksidatif terjadi, Nrf2 akan membagi bentuk Keap1 menjadi Keap1 modifikasi atau fosforilasi Nrf2 sehingga dapat diaktifkan.

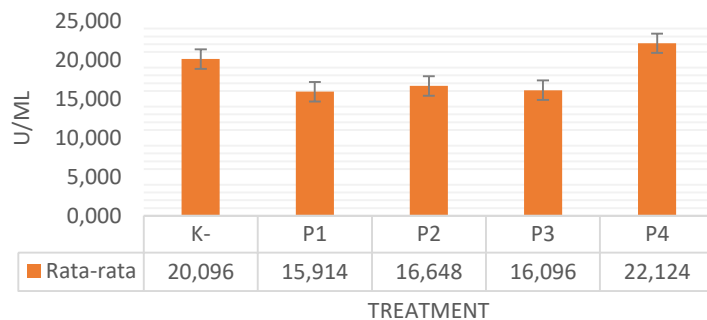
Chatterjee *et al.*, (2016) menjelaskan bahwa Nrf2 yang aktif akan melakukan translokasi menuju nukleus serta melakukan interaksi dengan elemen respon antioksidan (ARE). Hal tersebut akan mempromosikan ekspresi gen target sitoprotektif termasuk enzim antioksidan dan enzim detoksifikasi fase II. Natsir, dkk., (2017) menjelaskan saat proses respirasi yang terjadi mitokondria akan mengubah asetat menjadi ATP, sebagai hasil samping radikal bebas dalam jumlah besar dihasilkan dan menyebabkan mitokondria mengalami cedera seluler.

Gunawan (2011) menjelaskan bahwa untuk melindungi mitokondria dari kerusakan akibat stress oksidatif memerlukan peningkatan antioksidan melalui aktivasi Nrf2. Mekanisme yang terjadi akan melindungi *channel pore* mitokondria terhadap permeabilitas transisi, mempertahankan kondisi redoks, dan meningkatkan biogenesis dengan melalui transkripsi nuklear faktor pernapasan 1 (Nrf1) yang dipromosikan.

4.2 Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus*

terhadap kadar *Malondehyde* Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Malondehyde (MDA) merupakan produk akhir peroksida lipid yang berupa senyawa *dialdehida*. Tingkat MDA dapat digunakan sebagai petunjuk adanya proses oksidasi melalui proses enzimatik dan non-enzimatik (Hadiningtyas dkk., 2014).



Gambar 4.2 Grafik Data hasil rata-rata kadar Malondehyde Mencit yang dipengaruhi beberapa Perlakuan

Data yang telah diperoleh dari pengukuran kadar MDA ovarium mencit Balb/C normal dihitung menggunakan software analisis statistik dengan SPSS 25.0 *for Windows*. Data peningkatan kadar MDA yang telah diperoleh rerata secara berurutan dari nilai tertinggi hingga terendah: P4 (22,124 U/mL), K- (20,096 U/mL), P2 (16,648 U/mL), P3 (16,096 U/mL), dan P1 (15,914 U/mL). Kadar SOD tertinggi terdapat pada P4 dengan pemberian klomifen sitrat 0,9 mg/kgBB.

Data tersebut kemudian diuji normalitas melalui tes *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan signifikansi $0,153 > \alpha = 0,05$. Hasil yang diperoleh terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *Homogenitas Levene*. Hasil uji homogenitas menandakan data memiliki signifikansi $0,064 > \alpha = 0,05$, yang artinya data terindikasi homogen dan memenuhi syarat parametrik. Menurut Nugroho (2011) data yang memiliki distribusi normal dan homogen dapat dilakukan uji parametrik, salah satunya dengan *Analysis of Variant* (ANOVA).

Tabel 4.2 Pengaruh pemberian beberapa perlakuan terhadap kadar malondehyde ovarium mencit menggunakan uji Duncan

Perlakuan	Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Notasi
K- (mencit normal)	20,100	b
P1(nanopartikel dosis 25 mg/kgBB)	15,914	a
P2 (nanopartikel dosis 50 mg/kgBB)	16,648	a
P3 (jamu subur kandungan 75 mg/kgBB)	16,096	a
P4 (klomifen sitrat 0,9 mg/kgBB)	22,124	c

Hasil yang diperoleh dari uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) menunjukkan bahwa hasil kadar MDA tertinggi pada perlakuan P4 yaitu klomifen sitrat dosis 0,9 mg/kg BB (22,124 $\mu\text{g/mL}$). Hasil P4 berbeda nyata dengan K- atau perlakuan normal (20,293 $\mu\text{g/mL}$). Hasil tertinggi selanjutnya diikuti oleh perlakuan nanopartikel 50 mg/kgBB (P2) sebesar 16,648g $\mu\text{g/mL}$, jamu subur kandungan 75 mg/kgBB (P3) sebesar 16,096 $\mu\text{g/mL}$ dan paling rendah di perlakuan nanopartikel 25 mg/kgBB (P1) sebesar 15,901 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pada perlakuan P2, P3 dan P1 memiliki hasil yang saling tidak berbeda nyata.

Menurut Peker *et al.*, (2020) Klomifen sitrat adalah antagonis dari estrogen, sehingga meningkatkan pelepasan hormon luteinizing (LH) serta hormon perangsang folikel (FSH) dengan berinteraksi melalui reseptor estrogen di hipotalamus. Klomifen sitrat memiliki kemampuan mengikat untuk durasi yang lebih lama dalam mengikat reseptor estrogen di hipotalamus, sehingga korpus luteum mencit mengalami fase luteal yang lebih lama. Menurut Silvestris *et al.*, (2019)

meningkatnya FSH akan meningkatkan produksi ROS pada mitokondria akibat reaksi inflamasi dan sitokinesis.

Manco (2008) menyebutkan bahwa yang tergolong *raztive oxygen spesies* (ROS) antara lain, superoksida, radikal hidroksil, dan radikal peroksil, dengan penambahan non-radikal, seperti hidrogen peroksida, asam hipoklorit dan ozon, yang dihasilkan selama proses metabolisme oksigen.

Mukherjee (2011) menjelaskan bahwa ROS akan menimbulkan lipid perosidasi yang membentuk produk seperti seperti *4-hydroxynonenal* (HNE) serta *malondialdehyde* (MDA) dalam mengoksidasi asam lemak tidak jenuh. MDA menurut Chichoz (2014) merupakan hasil dari peroksida lipid yang mengalami pemutusan rantai karbon pada asam lemak.

Gunawan (2011) menjelaskan bahwa propagasi peroksida lipid dalam membentuk lipid hidroperoksida bersifat stabil. Jika kondisi transisi metal terjadi, maka radikal peroksi (L-O*) akan mengkatalis subsitusi tersebut sehingga terbentuknya produk akhir berupa MDA.

Proses terbentuknya MDA dipengaruhi oleh faktor lingkungan serta aktivitas fisik (Anggraeni *et al.*, 2017). Aktivitas yang tinggi akan meningkatkan jumlah MDA melalui ikatan silang terhadap berbagai molekul, sehingga memiliki dampak negatif antara lain toksisitas sel, penguraian lipid dalam membran sel, dan mutagenesis dalam sel (Bhuiyan & Hoque, 2010).

Nurhidayah (2009) berpendapat apabila menambahkan antioksidan dalam konsentrasi yang tinggi akan mempengaruhi laju oksidasi. Masrifah (2017) menambahkan konsentrasi laju oksidasi juga dipengaruhi oleh struktur antioksidan berdasarkan pengujian sampel yang dilakukan. Andayani (2008) berpendapat bahwa antioksidan dalam jumlah yang besar dapat ditemukan di tanaman obat.

Proses oksidasi dapat dihambat dengan menggunakan senyawa antioksidan. Flavanoid merupakan salah satu antioksidan yang telah banyak diteliti sebelumnya menurut Djarkasi *et al.*, (2019) memiliki peran sebagai inhibitor enzim HMG-KoA reduktase sehingga dapat menurunkan peroksida lipid. Antioksidan golongan flavonoid dalam mencegah radikal bebas salah satunya

sebagai akseptor elektron melalui mekanisme langsung (Kutorini, 2010). Flavanoid dalam mengikis radikal bebas melalui mekanisme langsung dengan cara mendonorkan ion hidrogen atau mereduksi atom logam dengan efek menetralkan sifat toksik (Abarikwu *et al.*, 2017).

Kefer (2009) menjelaskan bahwa cara mekanisme penghambatan, radikal lipid dalam mencapai kondisi stabil melakukan ikatan dengan triterpenoid yang berfungsi sebagai antioksidan alami. Karakteristik triterpenoid dalam mencegah terbentuknya radikal bebas dengan cara memodulasi enzim SOD, sehingga terjadi pengikatan yang lebih stabil pada radikal bebas terkonversi (Alaiya, 2015).

4.3 Integrasi Al-Qur'an

Hasil penelitian ini diketahui bahwa pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus* dapat meningkatkan kadar SOD dan menurunkan MDA. Hal tersebut merupakan bukti bahwa Allah SWT telah menciptakan sesuatu dengan ukuran yang sesuai. Hal ini telah dijelaskan dalam firman Allah SWT pada surah Al-Qamar (54) ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ (٤٩)

Artinya : “Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukurannya”(Q.S. Al-Qamar [54]:49).

Menurut mufasir kata *kulla syai'in* memiliki arti sebagai “segala sesuatu” dan kata *biqodrin* memiliki arti “menurut ukuran” (Mahalli & Suyuthi, 2007). Menurut Shihab (1999) menjelaskan bahwa segala sesuatu oleh Allah SWT telah ditetapkan memiliki pengaturan dan maksud masing-masing dalam melaksanakan fungsi dan menunjang keseimbangan.

Penjelasan tafsir Q.S Al-Qamar [54] : 49 oleh para musafir dapat dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan suatu kadar tertentu memiliki tujuan agar dapat menjalankan fungsi dengan baik. Penetapan kadar, pengalokasian dan fungsi memiliki tujuan untuk memperoleh suatu keseimbangan. Sebagaimana Allah SWT telah menciptakan ovarium dengan

ukuran sebaik mungkin dalam menjalankan proses folikulogenesis. Penerapan dosis nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus* terhadap kondisi antioksidan dalam tubuh dengan parameter SOD menunjukkan bahwa perlakuan yang menunjukkan hasil tertinggi adalah nanopartikel dosis 50 mg/kg BB. Penerapan dosis nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus* terhadap kondisi stress oksidatif dalam tubuh menunjukkan hasil terbaik pada perlakuan 25 mg/kgBB.

Sifat antioksidan dan stress oksidatif yang terdapat dalam sel bekerja secara berpasangan. Sifat yang berpasangan tersebut sesuai dalam firman Allah SWT dalam surah Yasin ayat 36 yang tertulis :

سُبْحَنَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ (٣٦)

Artinya : “Mahasuci (Allah) yang telah menciptakan semuanya berpasang pasangan, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka sendiri maupun dari apa yang tidak mereka ketahui” (Q.S. Yasin [36] : 36).

Ar- Raghieb dalam Tafsir Al-Misbah (1999) menegaskan bahwa kesamaan yang dimiliki pasangan dapat bersifat serupa ataupun bertolak belakang. Hubungan antara oksidan-antioksidan bersifat bertolak belakang dalam menjaga kondisi sel. Antioksidan dalam menjalankan perannya akan mendonorkan elektron yang digunakan untuk menstabilkan radikal bebas. Radikal bebas yang telah stabil tidak akan berpotensi merusak sel, sehingga antioksidan diperlukan dalam jumlah yang tepat agar dapat menyeimbangkan radikal bebas.

Nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus* memiliki antioksidan berupa alkaloid, flavonoid dan triterpenoid, sehingga dapat mengoptimalkan kadar antioksidan endogen dalam tubuh dalam melawan radikal bebas. Antioksidan ataupun stress oksidatif merupakan suatu senyawa yang memiliki sifat antagonis dan agonis. Sehingga dalam tubuh kadar kedua senyawa tersebut harus seimbang dalam arti sesuai kebutuhan dengan mekanisme fisiologis yang terjadi

khususnya di ovarium. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam surah Al-Mulk (67) ayat 3 yang tertulis

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا مَا تَرَى فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِنْ تَفَوُّتٍ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَى مِنْ فُتُورٍ ﴿٣﴾

Artinya : “(Dia juga) yang menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu tidak akan melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pengasih ketidakseimbangan sedikit pun. Maka, lihatlah sekali lagi! Adakah kamu melihat suatu cela?” (Q.S. Al-Mulk [67]: 3).

Menurut mufasir pada kalimat *maa taraa fii kholqirrahman min tafawuut* memiliki arti “kamu sekali-kali tidak melihat pada cipataan Allah SWT yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang” bermakna bahwa Allah menciptakan segala sesuatu seimbang dan sesuai tanpa ada kekurangan. Selanjutnya pada kalimat *faarjingi'l bashor hal taraa min futhuur* memiliki arti “maka lihatlah berulang-ulang adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang (Mahalli & Suyuthi, 2007). Menurut Shihab (1999) bahwa Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu dalam keadaan yang telah seimbang sebagai rahmat dan kasih sayang terhadap ciptaan-Nya.

Pembelajaran dari Al-Mulk Q.S. Al-Mulk [67] : 3 bahwa Allah SWT telah mengatur segala sesuatu baik sifat dan kegunaan dalam menciptakan makhluk-Nya pada kondisi keseimbangan yang sempurna, sehingga dapat memenuhi perannya masing-masing (Shihab, 1999). Hal ini juga berlaku pada ovarium yang dalam proses folikulogenesis membutuhkan kondisi sel yang seimbang antara antioksidan dan radikal bebas. Pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus* dapat memperbaiki kondisi sel yang tinggi radikal bebas. Radikal bebas yang berlebih dalam organ dapat merusak struktur histologi dan fungsi ovarium. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan bahwa sebagai rahmat dan kasih sayang Allah SWT dalam menciptakan makhluk-Nya, mulai dari senyawa ataupun komponen dalam sel telah diciptakan dengan seimbang sesuai dengan fungsinya. Sehingga pembelajaran tersebut dapat meningkatkan keimanan dan ketaqwaan kepada Allah SWT.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, *A. calamus* terhadap kadar *superoxide dismutase* dan *malondehyde* ovarium *Mus musculus* maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, *A. calamus* berpengaruh terhadap kadar *superoxide dismutase* ovarium mencit (*Mus musculus*). Kadar *superoxide dismutase* paling tinggi sebesar 3,423 U/mL pada perlakuan nanopartikel 50 mg/kgBB (P2).
2. Pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, *A. calamus* berpengaruh terhadap kadar *malondehyde* ovarium mencit (*Mus musculus*). Kadar *malondehyde* paling rendah pada perlakuan (P1) nanopartikel 25 mg/kgBB sebesar 15,914 µl/mL dan pada perlakuan nanopartikel 50 mg/kg BB (16,645 µl/mL).

5.2 Saran

Penggunaan klomifensitrat sebagai perlakuan pembanding kurang tepat, dikarenakan sifatnya yang sitotoksik. Sehingga perlu dilakukan perubahan dosis ataupun jangka waktu pemberian terhadap kolomifensitrat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abarikwu, S. O., Olufemi, P. D., Lawrence, C. J., Wekere, F. C., Ochulor, A. C., & Barikuma, A. M. (2017). Rutin, an antioxidant flavonoid, induces glutathione and glutathione peroxidase activities to protect against ethanol effects in cadmium-induced oxidative stress in the testis of adult rats. *Andrologia*, 49(7), 1–12. <https://doi.org/10.1111/and.12696>
- Adawiyah, Robiatul. (2013). Pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap jumlah folikel, kadar *Superoxide dismutase* (SOD) dan *Gluthation superoxide hidroksil* (GSH) pada ovarium mencit (*Mus musculus*). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Abdassah, M. (2017). Nanopartikel Dengan Gelasi Ionik. *Farmaka*, 15(1), 45–52.
- Al-Jauziyah, Ibnu Qayem. (2003). *The Prophetic Medicine*. Ambe, A. K., J. Ruiz Anguas, E. Carballo Mondragon, and S. Karchmer Krivitsky. (2005). Intrafollicular levels of sexual steroids and their relation with the antioxidant enzymes on the oocyte quality in an in vitro fertilization program. *Ginecología y Obstetricia de México*, vol. 73, pp. 19–27,
- Anggraeni, S., Setyaningrum, T., & Listiawan, Y. (2017). Perbedaan Kadar Malondialdehid (MDA) sebagai Petanda Stres Oksidatif pada Berbagai Derajat Akne Vulgaris. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin – Periodical of Dermatology and Venereology*, 29(1), 36–43.
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative Medicine and Celuller Longevity*. <https://doi.org/10.1155/2016/5276130>
- Auffray, J., & Britton-Dividian, J. (2014). *The House Mouse and its relatives : Systematics and Taxonomy The house mouse and its relatives : systematics and taxonomy*. Universite de Motpellier. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139044547.003>
- Balakumbahan, R., Rajamani, K., & Kumanan, K. (2010). Acorus calamus : An overview. *Journal*

of Medicinal Plants Research Vol., 4(25), 2740–2745.

- Berawi, K. N., & Agverianti, T. (2017). Efek Aktivitas Fisik pada Proses Pembentukan Radikal Bebas sebagai Faktor Risiko Aterosklerosis. *Jurnal Majority*, 6(2), 86–91. <http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/1019>
- Bhuiyan, M. A. R., & Hoque, M. Z. (2010). Free radical scavenging activities of *Zizyphus mauritiana*. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 9(1), 199–206.
- Bos, R., Windono, T., Woerdenbag, H. J., Boersma, Y. L., Koulman, A., & Kayser, O. (2007). HPLC-photodiode Array Detection Analysis of Curcuminoids in Curcuma Species Indigenous to Indonesia. *Phytochemical Analysis*, 18, 118–122. <https://doi.org/10.1002/pca.959>
- Campbell, N. A. (2010). *Biologi* (8th ed.). Erlangga.
- Chatterjee, N., Tian, M., Spirohn, K., Boutros, M., & Bohmann, D. (2016). Keap1-Independent Regulation of Nrf2 Activity by Protein Acetylation and a BET Bromodomain Protein. *PLoS Genetics*, 12(5), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006072>
- Chavatte-Palmer, P., Dupont, C., Debus, N., & Camous, S. (2014). Nutritional programming and the reproductive function of the offspring. *Animal Production Science*, 54, 1166–1176.
- Cora, M. I. C. C., & Ooistra, L. I. K. (2015). Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse : Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicology Pathology*, 43, 776–793. <https://doi.org/10.1177/0192623315570339>
- Cronquist, A. (1981). *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press.
- Desmawati, D., & Sulastri, D. (2019). Phytoestrogens and Their Health Effect. *Journal Medicine Science*, 7(3), 495–499.
- Djarkasi, G. S. S., Lalujan, L. E., Nurali, E., & Sumual, M. F. (2019). Antioxidant activity of karimenga (*Acorus calamus*). *AIP Conference Proceedings*, 2155(September).

<https://doi.org/10.1063/1.5125555>

- Ecochard, R., Bouchard, T., Leiva, R., Abdulla, S., Dupuis, O., Duterque, O., Garmier Billard, M., Boehringer, H., & Genolini, C. (2017). Characterization of hormonal profiles during the luteal phase in regularly menstruating women. *Fertility and Sterility*, 108(1), 175-182.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.05.012>
- Elabscience. (2019a). *Malondialdehyde (MDA) Assay Kit Detection significance Detection principle Reagent composition*.
- Elabscience. (2019b). *Total Superoxide Dismutase (T-SOD) Activity Assay Kit (WST-1 Method)*.
- Eroschenko, V. P. (2015). *Atlas Histologi diFiore dengan korelasi Fungsional* (Y. J. Suyono, C. K. Mulyadi, N. ramesh Rughwani, K. C. Nitiharjo, & R. Reztaputra (eds.); 2nd ed.). EGC.
- Gannon, A. M. (2013). *Cigarette smoke exposure and its impact on ovarian follicles*. McMaster University.
- Gunawan, G. S. (2011). *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta : Farmaklogi dan Terapeutik FKUI. Warta Penelitian dan Pengembangan. 15(3).
- Hall, J. E., & Guyton, A. (2007). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (11th ed.). EGC.
- Hardiningtyas, S.D., Purwanti, S., Handharyani, E. (2014). Aktivitas antioksidan dan efek hepatoprotektif Daun bakau Api-api Putih. *JPHPI*. Vol 17 No. 1
- Hendrikos, R., Marusin, N., & Tjong, D. H. (2014). Efek Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Terhadap Sel β Pankreas Mencit Putih Yang Diinduksi Aloksan Secara Histologis. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 3(September), 317–323.
- Hernawan, U. E. K. O., & Setyawan, A. D. W. I. (2003). REVIEW : Senyawa Organosulfur Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Aktivitas Biologinya. *Biofarmasi*, 1(2), 65–76. <https://doi.org/10.13057/biofar/f010205>
- Imam, H., Riaz, Z., Azhar, M., Sofi, G., & Hussain, A. (2013). Sweet flag (*Acorus calamus* Linn.): An incredible medicinal herb. *International Journal of Green Pharmacy*, 2–10.

<https://doi.org/10.4103/0973-8258.122053>

- Jiang, S., & Kuang, Y. (2017). Clomiphene citrate is associated with favorable cycle characteristics but impaired outcomes of obese women with polycystic ovarian syndrome undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Medicine*, 96(32).
- Kabel, A. M. (2014). Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. *World Journal of Nutrition and Health*, 2(3), 35–38. <https://doi.org/10.12691/jnh-2-3-2>
- Kaefer, M., Piva, S. J., De Carvalho, J. A., Da Silva, D. B., Becker, A. M., Coelho, A. C., ... & Moresco, R. N. (2010). Association between ischemia modified albumin, inflammation and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Clinical biochemistry*, 43(4-5), 450-454.
- Kathir, Ibn. (2019). Tafsir Al-Qur'an. Ibnu Katsir. Bogor : Pustaka Imam Asy Syafi'i
- Karmila, U., Karina, S., & Yulvizar, C. (2017). Ektrak Kunyit *Curcuma domestica* sebagai Anti Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Patin *Pangasius sp.* *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Dan Perikanan Unsyiah*, 2, 150–157.
- Kartika, A. A., Siregar, H. C., & Fuah, A. M. (2013). Strategi pengembangan usaha ternak tikus. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 01(3), 147–154.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2012). Basic & Clinical Pharmacology. In *McGraw-Hill* (12Bertram ed.). Mc Graw Hill. [https://doi.org/10.1016/S0065-7743\(08\)61545-6](https://doi.org/10.1016/S0065-7743(08)61545-6)
- Khaira, K. (2010). Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan. In *STAIN Batusangkar Sumatera Barat* (Vol. 2, p. 184).
- Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Oxidation of Biological Systems : Oxidative Stress Phenomena , Antioxidants , Redox Reactions , and Methods for Their Quanti cation. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620–650. <https://doi.org/10.1080/0192623029016672>
- Lajnah Pentashihkan Mushaf Al-Qur'an. (2011). *Tumbuhan dalam Perspektif Al-Qur'a dan Sains*. Jakarta : Kemenag
- Leatemia, R. R. (2010). *Aktivitas Antioksidan Jamu Galohgor pada Tikus Putih (Rattus sp)*.

- Leverve, X. (2009). Oxidative, stress and antioxidants? *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 44(5), 219–224. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2009.09.001>
- Lewis, V. (2007). *Reproductive Endocrinology and Infertility*. Landes Bioscience.
- 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
- Macadova, K., Afonso, R., Saso, L., Mladenka, P., (2019). The influence of alkaloids on oxidative stress and related signaling pathways. *Free Radical Biology and Medicine*
- Mahalli, A. & Sayuthi, A. (2007). *Tafseer Jalalayn*. Amman : Intitute for Islamic Thought Amman
- Mardiati, S. M., & Sitasiwi, A. J. (2008). Korelasi Jumlah Folikel Ovarium dengan Konsentrasi Hormon Estrogen Mencit (*Mus musculus*) setelah Konsumsi Harian Tepung Kedelai selama 40 Hari. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, XVI(2), 54–59. <http://ejournal.undip.ac.id/index.php/janafis/article/view/2622>
- Muchtaromah, B., Muti, R., Yusmalasari, D. R., Mardiyana, P., & Sharmin, T. (2020). Efficacy of *Allium sativum*, *Curcuma mangga* and *Acorus calamus* Extract Combination on Rat Fertility. *Pharmacogn*, 12(1), 197–203. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.30>
- Muchtaromah, B., Savitri, E. S., Fauziyah, A. N., Basyaruddin, M., Purnobasuki, H., Safitri, E., Putra, W. E., & Andriani, J. (2020). Evaluating the Effect of Polyherbal Extract of *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, and *Acorus calamus* on Immunomodulation and Ovarian Activity in Cisplatin-Induced Rats. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(7), 485–489. <https://doi.org/10.31838/srp.2020.7.71>
- Muchtaromah, B., Wahyudi, D., Ahmad, M., & Annisa, R. (2020). Nanoparticle characterization of *allium sativum*, *curcuma mangga* and *acorus calamus* as a basic of nanotechnology on Jamu Subur Kandungan Madura. *Pharmacognosy Journal*, 12(5), 1152–1159. <https://doi.org/10.5530/PJ.2020.12.162>
- Mudjiono, Herawati, I., Munawaroh, S., & Sukari. (2014). *Kearifan Lokal Orang Madura tentang*

Jamu untuk Kesehatan Ibu dan Anak. BPNB Yogyakarta.

- Mukholifah. (2015). Pengaruh kombinasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan beluntas (*Plucea indica*) terhadap jumlah folikel, kadar SOD dan MDA ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Muntaha, A., Haitami, H., & Hayati, N. (2015). Perbandingan Penurunan Kadar Formalin pada Tahu yang Direbus dan Direndam Air Panas. *Medical Laboratory Technology Journal*, 1(2), 84. <https://doi.org/10.31964/mltj.v1i2.20>
- Murdijati-Gardtijo, Harmayani, E., & Suharjono, K. I. (2018). *Jamu, Pusaka Penjaga Kesehatan Bangsa Indonesia* (1st ed.). Gajah Mada University Press.
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. (2009). *Biokimia Harper*. EGC.
- Natsir Eko; Sofyan, Ariya, H. W. (2017). Komponen Bioaktif, Aktivitas Antioksidan Dan Profil Asam Lemak Ekstrak Rimpang Jeringau Merah (*Acorus Sp*) Dan Jeringau Putih (*Acorus Calamus*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 18(Vol 18, No 3 (2017)), 173–180. <http://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/view/666>
- Nugroho, R. A. (2018). *Mengenal Mencit sebagai Hewan Laboratorium*. Mulawarman University Press.
- Nurhidayah, S. (2009). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daging Pisang Raja (*Musa AAB*“pisang raja”) dengan Vitamin A, Vitamin C, dan Katekin Melalui Perhitungan Bilangan Peroksida. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia
- 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>
- Paithankar, V. V., Belsare, S. L., M., C. R., & V., V. J. (2011). International Journal of Biomedical Research. *International Journal of Biomedical Research*, 10(2), 518–529.
- Pakki, E., Sumarheni, F, A., Ismail, & Safitahidzni, S. (2016). Formulasi Nanopartikel Ekstrak

- Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl) Merr) dengan Variasi Konsentrasi Kitosan-Tripolifosfat (TPP). *Journal Trop. Pharm. Chem*, 3(4), 251–263.
- Parwata, I. M. O. A. (2017). *Obat tradisional*. Universitas Udayana.
- Poitout, V., & Robertson, R. P. (2008). Glucolipotoxicity : Fuel Excess and β -Cell Dysfunction. *Endocrine Reviews*, 29(3). <https://doi.org/10.1210/er.2007-0023>
- Pujimulyani, D., Raharjo, S., Marsono, Y., & Santoso, U. (2010). Aktivitas Antioksidan dan Kadar Senyawa Fenolik pada Kunir Putih. *Agritech*, 30(2).
- Queiroz, Y. S., Ishimoto, E. Y., Bastos, D. H. M., Sampaio, G. R., & Torres, E. A. F. S. (2009). Garlic (*Allium sativum* L.) and ready-to-eat garlic products: In vitro antioxidant activity. *Food Chemistry*, 115(1), 371–374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.105>
- Ramadhani, S. A. (2016). *Pengendalian Folikulogenesis Ovarium Mencit (Mus musculus) dengan Pemberian Ekstrak Biji Kapas (Gossypium hirsutum)*. Institut Pertanian Bogor.
- Rampino, A., Borgogna, M., Blasi, P., Bellich, B., & Cesàro, A. (2013). Chitosan nanoparticles: Preparation, size evolution and stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 455(1–2), 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.07.034>
- Rani, V., & Singh Yadav, U. C. (2015). Free radicals in human health and disease. In *Free Radicals in Human Health and Disease*. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2035-0>
- Ririn, H., Sawitri, L., Winarsih, S., Ratnawati, R., Norahmawati, E., & Anita, K. W. (2018). Ekstrak Teh Hijau Meningkatkan Ekspresi ER- α pada Endometrium dan Tuba Falopi Tikus Betina (*Rattus norvegicus*) yang dipapar Sipermetrin Green. *Jurnal Kebidanan*, 7(2), 103–110. <https://doi.org/10.26714/jk.7.2.2018.103-110>
- Rosyadah, M., Afendi, F. M., & Kusuma, W. A. (2017). Penguraian Mekanisme Kerja Jamu dengan Menggunakan Analisis Graf Tripartit pada Jejaring Senyawa-Protein-Penyakit. *Jurnal Jamu Indonesia*, 2(1), 8–16. <https://doi.org/10.29244/jji.v2i1.25>
- Ruder, E. H., Hartman, T. J., Blumberg, J., & Goldman, M. B. (2008). Oxidative stress and

- antioxidants: Exposure and impact on female fertility. *Human Reproduction Update*, 14(4), 345–357. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn011>
- Ruder, E. H., Hartman, T. J., & Goldman, M. B. (2009). Impact of oxidative stress on female fertility. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 21(3), 219–222. <https://doi.org/10.1097/GCO.0b013e32832924ba>
- Santoso. (2000). *Bawang Putih* (12th ed.). Kanisius.
- Sari, T. A. (2017). Pengaruh Air Lindi Sludge Sampah TPA Sarimukti terhadap perkembangan Embrio Praimplantasi Mencit (*Mus Musculus*) SW. *Faktor Exacta*, 10(1), 78–89.
- Sarjono, P. R., & Mulyani, N. S. (2017). Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu Putih (*Curcuma Mangga Vall*). *Jurnal Sains & Matematika (Jsm)*
- Sarma, J., & Sharma, P. (2017). Ethnobotany and In vitro regeneration of *Acorus calamus* L. (Acoraceae): a high valued medicinal and economic plant. *Annals of Plant Sciences*, 6(2), 1566. <https://doi.org/10.21746/aps.2017.02.006>
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). *Alami dan Sintetik*. Andalas University Press.
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. *ACS Symposium Series*, 1083, 1–37. <https://doi.org/10.1021/bk-2011-1083.ch001>
- Shang, A., Cao, S.-Y., Xu, X.-Y., Gan, R.-Y., Tang, G.-Y., Corke, H., Mavumengwana, V., & Li, H.-B. (2019). Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*, 8(246), 1–31. <https://doi.org/10.3390/foods8070246>
- Shihab, M. Quraish.(1999). Tafsir Al Mishbah : Pesan, Kesan dan Keserasian AlQuran. Jakarta : Lentera Hati
- Silvestris, E., Lovero, D., & Palmirotta, R. (2019). Nutrition and female fertility: An interdependent correlation. *Frontiers in Endocrinology*, 10(JUN). <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00346>
- Sloane, E. (2003). *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula* (P. Widyastuti (ed.); 10th ed.). EGC.
- Sugiyono. (2015). Statistik untuk Penelitian. Bandung : Alfabeta

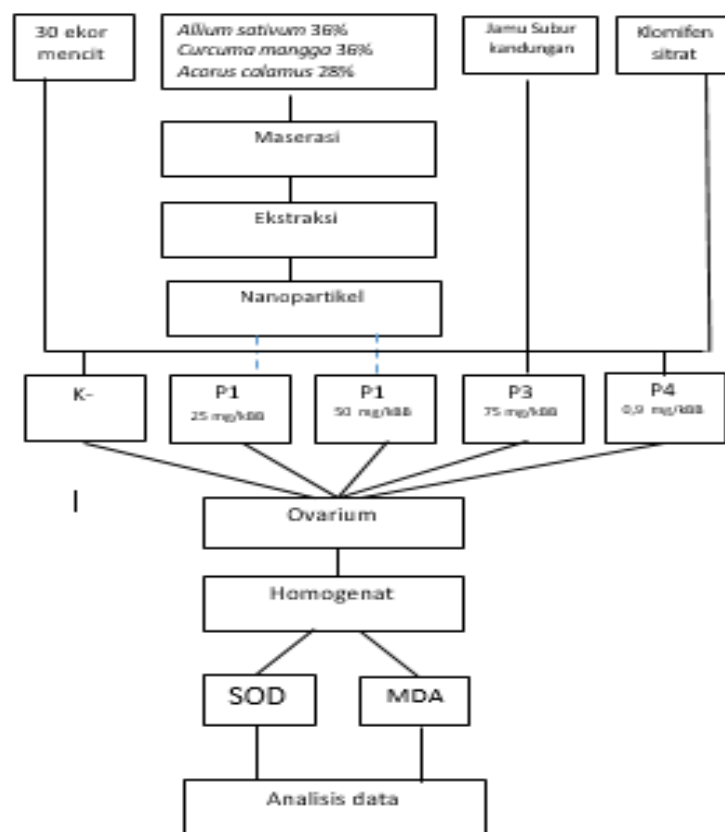
- Sugiyono. (2011) . Metodologi Penelitian Pendidikan. Bandung : Alfabeta
- Sreekumar, S., Goycoolea, F. M., Moerschbacher, B. M., & Rivera-Rodriguez, G. R. (2018). Parameters Influencing The Size Of Chitosan-Tpp Nano- And Microparticles. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/S41598-018-23064-4>
- Tiyaboonchai, W. (2018). Chitosan nanoparticles : A promising system for drug delivery Chitosan Nanoparticles : A Promising System for Drug Delivery. *Naresuan University Journal*, 11(3).
- Veterinus, I. M., Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Kajian Pustaka : Penggunaan Mencit Sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. *Indosia Medicus Veterinus*, 10(1), 134–145. <https://doi.org/10.19087/imv.2020.10.1.134>
- Vidal, J. D., & Dixon, D. (2018). Ovary. In *Boorman's Pathology of the Rat*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391448-4.00026-5>
- Wang, S., He, G., Chen, M., Zao, T., Xu, W., & Liu, X. (2017). The role of Antioxidant Enzymes in the Ovaries. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), 59–68.
- Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H., & Car, H. (2012). Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacological Reports*, 64(5), 1020–1037. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(12\)70901-5](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(12)70901-5)
- Winarsi, H., Wijayanti, S. P. M., & Purwanto, A. (2010). Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase , Katalase , dan Glutathione The Activity of Superoxide Dismutase , Catalase and Glutathione Peroxidase Enzymes in Metabolic Syndrome Women. *MKB*, 44(1), 7–12.
- Wulandari, Erni. (2016). Efek Ekstrak Kulit Buah Rambutan terhadap Kadar MDA dan SOD Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang
- Yener, N. A., Sinanoglu, O., Ilter, E., Celik, A., Sezgin, G., Midi, A., Deveci, U., & Aksungar, F.

(2013). Effects of spirulina on cyclophosphamide-induced ovarian toxicity in rats: Biochemical and histomorphometric evaluation of the ovary. *Biochemistry Research International*, May. <https://doi.org/10.1155/2013/764262>

Zulaikhah, S. T. (2017). The Role of Antioxidant to Prevent Free Radicals in The Body. *Sains Medika*, 8(1), 39. <https://doi.org/10.26532/sainsmed.v8i1.1012>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Data Hasil Analisis Kadar Superoxide Dismutase

Tabel 1. Data kadar *superoxide dismutase* ovarium mencit setelah pemberian nanopartikel

A. sativum, C. mangga dan A. calamus

Perlakuan	Ulangan						Jumlah	Rata-Rata ±SD
	1	2	3	4	5	6		
K-	2,003	2,985	2,089	2,191	2,406	2,118	13,792	2,299 ± 0,363
P1	2,081	2,756	2,551	2,773	2,682	2,667	15,51	2,585 ± 0,259
P2	3,596	3,335	3,652	3,33	3,361	3,266	20,54	3,423 ± 0,160

P3	3,292	3,288	3,266	3,305	3,279	3,326	19,756	$3,293 \pm 0,021$
P4	1,893	1,893	1,878	1,833	1,727	1,803	11,027	$1,838 \pm 0,065$

Analisis statistik kadar *superoxide dismutase* ovarium mencit setelah pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus*

Uji normalitas data menggunakan Kolmogorov-smirnov test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
SOD		
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2,6875
	Std.	,64038
	Deviation	
Most Extreme	Absolute	,217
Differences	Positive	,148
	Negative	-,217
Test Statistic		,217
Asymp. Sig. (2-tailed)		,001 ^c
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		
c. Lilliefors Significance Correction.		

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
SO	Based on Mean	1,102	4	25	,377
D					

Keterangan : Sig 0.3770 > 0,05 = variansi data homogen

C. One way ANOVA

ANOVA					
SOD					
	Sum of		Mean		
	Squares	df	Square	F	Sig.
Between	10,748	4	2,687	58,681	,000
Groups					
Within	1,145	25	,046		
Groups					
Total	11,893	29			

Keterangan : signifikan $0.000 < 0.05$ = H_0 ditolak, maka terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* terhadap kadar SOD Ovarium mencit

D. Duncan

SOD					
Duncan ^a					
Kelompo		Subset for alpha = 0.05			
k	N	1	2	3	4
5	6	1,8378			
1	6		2,2987		
2	6			2,5850	
4	6				3,2927
3	6				3,4233
Sig.		1,000	1,000	1,000	,300
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.					

Lampiran 3. Data Hasil Analisis Kadar Malondehyde

Tabel 1. Data kadar *malondehyde* ovarium mencit setelah pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus*

Per la- ku an	Ulangan						Jum lah	Rata- Rata ±SD
	1	2	3	4	5	6		
K-	20, 6	20, 444	66 7	60 7	18 1	07 4	120 3	20,096 ± 1,565

	16,		15,	15,	16,	16,		
P1	11	15,	77	66	25	44	95,	15,914 ±
	1	222	8	7	9	4	481	0,447
			18,	14,	14,	15,		
P2		18,	70	55	77	29	99,	16,648 ±
	18	556	4	6	8	6	89	1,970
	14,		15,	15,	17,	17,		
P3	96		44	33	47	35	96,	16,096 ±
	3	16	4	3	8	6	574	1,077
	24,		19,	21,		20,	132	
P4	88	25,	66	92	20,	11	,74	22,124 ±
	9	519	7	6	63	1	2	2,511

Analisis statistik kadar *superoxide dismutase* ovarium mencit setelah pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus*

Uji normalitas data menggunakan Kolmogorov-smirnov test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		MDA
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	18,1753
	Std.	2,97264
	Deviation	
	Absolute	,153

Most Extreme	Positive	,153
Differences	Negative	-,112
Test Statistic		,153
Asymp. Sig. (2-tailed)		,070 ^c
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		
c. Lilliefors Significance Correction.		

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
MD	Based on	2,937	4	12,5	,064
A	Mean			56	

Keterangan : Sig 0.064 > 0,05 = variansi data homogen

C. One way ANOVA

ANOVA					
MDA					
		Sum of		Mean	
		Squares	df	Square	F
					Sig.

Between Groups	186,294	4	46,574	16,641	,000
Within Groups	69,967	25	2,799		
Total	256,261	29			

Keterangan : signifikan $0.000 < 0.05 = H_0$ ditolak, maka terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian nanopartikel *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* terhadap kadar MDA Ovarium mencit

D. Duncan

MDA				
Duncan ^a				
kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2	6	15,9135		
4	6	16,0957		
3	6	16,6483		
1	6		20,0955	
5	6			22,1237
Sig.		,480	1,000	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.				

Lampiran 4. 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

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

1000

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

1000

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

1000

2. 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:

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

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

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

1000

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

1000

3. Dosis Perlakuan Pemberian Obat Sintetik Klomifen Sitrat

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

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

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

1000

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

Lampiran 5. 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 <i>homogenizer ultra turrax</i>
		
Penambahan <i>tween 80</i>	Sonikasi	Penuangan larutan pada tabung <i>ependorf</i> 15 ml
		
Sentrifugasi	Pemisahan pellet dengan supernatan	Hasil pellet nanopartikel

 Hasil pengeringan pellet	 Penumbukan pellet	 Penyaringan serbuk nanopartikel menggunakan ayakan 30 mesh
 Penimbangan serbuk nanopartikel	 Hasil serbuk nanopartikel	 Penyimpanan dalam freezer

3 Proses Perlakuan dan Pengujian Sampel

 Aklimatisasi dan pemeliharaan mencit	 Penimbangan berat badan mencit	 Sinkronisasi menggunakan PMSG HCG
---	---	--

 Induksi PMSG HCG	 Pemberian perlakuan melalui sonde oral	 Proses apus vagina mencit
 Dislokasi mencit	 Pembedahan mencit dan pengambilan organ ovarium	 Penimbangan organ ovarium
 Proses pembuatan homogenat dalam kondisi dingin	 Homogenat siap digunakan untuk uji SOD dan MDA	



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 SKRIPSI

Nama : Yuliana Purnamasari
NIM : 16620123
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA
Pembimbing : Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, Msi
Judul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap Profile Folikel, Kadar *Superoxide Dismutase* dan *Malondehide* Ovarium *Mus musculus*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	21 Februari 2020	Konsultasi Judul	
2.	24 Agustus 2020	Konsultasi BAB I, II dan III	
3.	14 September 2020	Konsultasi BAB I, II dan III	
4.	18 Januari 2021	Konsultasi BAB I, II dan III	
5.	26 Maret 2021	Konsultasi BAB I, II, dan III	
6.	5 Mei 2021	Konsultasi BAB I, II, dan III	
7.	7 Juli 2021	Analisis data	
8.	4 September 2021	Data dan BAB IV	
9.	21 November 2021	Data dan BAB IV	
10.	1 Desember 2021	BAB IV	
11.	4 Desember 2021	BAB IV	
12.	6 Desember 2021	BAB IV	

Malang, 07 Desember 2021

Pembimbing Skripsi,

Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, Msi.
NIP. 19741018200312 2 0002

Ketua Jurusan

Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410182003122002



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 SKRIPSI

Nama : Yuliana Purnamasari
NIM : 16620123
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc
Judul Skripsi : Pengaruh Nanopartikel *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, dan *Acorus calamus* terhadap Profile Folikel, Kadar *Superoxide Dismutase* dan *Malondehide* Ovarium *Mus musculus*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	24 November 2021	Bab 1, dan II	
2	6 Desember 2021	Bab 1, II dan IV	
3	7 Desember 2021	Bab I, II dan IV	

Malang, 07 Desember 2021

Pembimbing Agama,

Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19860512201903 1 0002

Ketua Jurusan

Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410182003122002



**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

Form Checklist Plagiasi Skripsi

Nama : Yuliana Purnamasari
NIM : 16620123
Judul : PENGARUH NANOPARTIKEL *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, DAN
Acorus calamus TERHADAP KADAR Superoxide Dismutase DAN
Malondehide OVARIUM MENCIT (*Mus musculus*)

No	Tim Cek Plagiasi	Tgl Cek	Skor Plagiasi	TTD
1	Berry Fakhri Hanifa, M.Si	8 -12- 2021	25%	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002