

**PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Alium sativum*,
Acorus calamus, DAN *Curcuma mangga* TERHADAP KADAR HORMON
ESTROGEN DAN PROGESTERON MENCIT BETINA**

SKRIPSI

**Oleh:
QOYIN NADHORI
NIM. 16620108**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Alium sativum*,
Acorus calamus, DAN *Curcuma mangga* TERHADAP KADAR HORMON
ESTROGEN DAN PROGESTERON MENCIT BETINA**

SKRIPSI

**Oleh:
QOYIN NADHORI
NIM. 16620108**

**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 KOMBINASI EKSTRAK *Allium sativum*,
Curcuma mangga DAN Acorus calamus TERHADAP KADAR ESTROGEN
DAN PROGESTERON MENCIT BETINA**

SKRIPSI

**Oleh:
QOYIN NADHORI
NIM. 16620108**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal:**

Pembimbing I



**Prof.Dr.Bayyinatul Muctaromah M.Si
NIP. 1971091920 000 3 2 001**

Pembimbing II



**Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP 19860512 2019031002**

**Mengetahui ,
Ketua Program Studi Biologi**



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

**PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Alium sativum*,
Acorus calamus, DAN *Curcuma mangga* TERHADAP KADAR HORMON
ESTROGEN DAN PROGESTERON MENCIT BETINA**

SKRIPSI

Oleh:
QOYIN NADHORI
NIM. 16620108

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

Penguji Utama : Prof. Dr. Retno Susilawati, M.Si
NIP.19671113 199402 2 001

()
(.....)

Ketua Penguji : Fitriyah, M.Si
NIP. 19860725 201903 2 013

()
(.....)

Sekretaris Penguji : Prof.Dr.Bayvinatul Muctaromah M.Si
NIP. 1971091920 000 3 2 001

()
(.....)

Anggota Penguji : Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP 19860512 2019031002

()
(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji syukur atas karunia dan nikmat Allah Subhanahu wa ta'ala yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya hingga akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan. Shalawat dan salam selalu terlimpahkan keharibaan Rasulullah Muhammad Shalallahu Alaihi Wassalam. Skripsi ini saya persembahkan kepada Ibu (Nining Zaenab) dan Ayah (Suyanto) yang telah mendukung sepenuh hati pendidikan saya. Tak lupa untuk seluruh keluarga besar yang memberikan doa, motivasi dalam penyelesaian skripsi ini. Tanpa mengurangi rasa hormat penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen pembimbing, Prof. Dr. Bayyinatul Muchtarromah, M.Si dan bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc atas bimbingan dan arahan beliau sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Akhir kata, saya mengucapkan terimakasih kepada almamater saya, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim yang telah memberikan kesempatan penulis untuk menimba ilmu di Jurusan Biologi sehingga memperoleh pengetahuan dan pengalaman berharga untuk kehidupan.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Qoyin Nadhori

NIM : 16620108

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Acorus calamus*, dan *Curcuma mangga* terhadap Kadar Hormon Estrogen dan Progesteron Mencit Betina

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

Malang, 20 Desember 2021

Yang membuat pernyataan,



Qoyin Nadhori
NIM. 16620108

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 menyebutkannya.

MOTTO

BERANI UNTUK BERBEDA

**PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Alium sativum*,
Acorus calamus, DAN *Curcuma mangga* TERHADAP KADAR HORMON
ESTROGEN DAN PROGESTERON MENCIT BETINA**

Qoyin Nadhori, Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad

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

ABSTRAK

Tingkat fertilitas dipengaruhi oleh status fisiologis hormon reproduksi estrogen dan progesteron. Modulasi hormonal untuk meningkatkan fertilitas dapat dilakukan dengan terapi menggunakan bahan herbal. Aplikasi nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat terhadap ekstrak *Alium sativum*, *Acorus calamus*, dan *Curcuma mangga* mampu meningkatkan efikasi penyerapan bahan aktif pada sel target. Penelitian untuk mengetahui kadar estrogen dan progesteron dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel yang digunakan berjumlah 30 ekor mencit betina yang terbagi dalam 5 kelompok perlakuan (Kontrol, aquades), P1 (Klomifen Sitrat 0,9mg/kgBB), P2 (nanopartikel 25mg/kgBB), P3 (nanopartikel 50mg/kgBB), P4 (jamu subur kandunganTM 75 mg/kgBB). Pengukuran kadar estrogen dan progesteron dilakukan dengan ELLISA dilanjutkan dengan analisis One Way ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian perlakuan berpengaruh terhadap profil hormon reproduksi. Kadar estrogen tertinggi terdapat pada P2 dan berbeda signifikan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan kadar progesteron tertinggi terdapat pada perlakuan nanopartikel (P2 dan P3) meskipun tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol (K).

Kata Kunci: Estrogen, Fertilitas, Nanopartikel, Progesteron

EFFECT OF COMBINATION NANOPARTICLE EXTRACT *Allium sativum*, *Acorus calamus*, AND *Curcuma mangga* ON ESTROGEN AND PROGESTERONE PROFIL IN FEMALE MICE

Qoyin Nadhori, Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad

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

ABSTRACT

Fertility influenced by the physiological status of reproductive hormones estrogen and progesterone. Hormonal modulation to increase fertility can be attempted with therapy using herbal ingredients with therapy using herbal ingredients. The application of nanoparticles as a drug delivery system for *Allium sativum*, *Acorus calamus*, and *Curcuma mangga* extracts was able to increase the efficacy of absorption of active ingredients in target cells. The purpose of this research was to determine the estrogen and progesterone profile conducted with completely randomized design (CRD). Thirty female mice were randomized divided into 5 treatment groups Control (aquades), P1 (Clomiphene Citrate 0.9mg/kgBW), P2 (nanoparticles 25mg/kgBW), P3 (nanoparticles 50mg/kgBW), P4 (jamu subur kandunganTM 75 mg/kgBW). Estrogen and progesterone levels were measured using ELLISA followed by One Way ANOVA. The results revealed that the treatment affected reproductive hormone profile. The highest estrogen level was found in P2 and significantly different from other treatments. Meanwhile, the highest level of progesterone was found in the nanoparticle treatment (P2 and P3) however it was not significantly different from the control (K).

Keywords : Estrogen, Fertility, Nanoparticles, Progesterone

تأثير الجمع بين مستخلصات أليوم ستفوم *Alium sativum* وأجوروس جولموس *Acorus*

calamus ومانجو الكركم *Curcuma mangga* على مستويات هرمون الاستروجين

والبروجسترون في إناث الفئران

قين نضري، بينة المحترمة، مجاهدين أحمد

مستخلص البحث

يتأثر مستوى الخصوبة بالحالة الفسيولوجية لهرمونات التكاثر الإستروجين والبروجسترون. يمكن إجراء التعديل الهرموني لزيادة الخصوبة بالعلاج باستخدام المكونات العشبية. أدى تطبيق الجسيمات النانوية كنظام لتوصيل الدواء إلى مستخلصات أليوم ستفوم *Alium sativum* وأجوروس جولموس *Acorus calamus* ومانجو الكركم *Curcuma mangga* إلى زيادة فعالية امتصاص المكونات النشطة في الخلايا المستهدفة. أجرى البحث لتحديد مستويات هرمون الاستروجين والبروجسترون باستخدام تصميم عشوائي بالكامل. كانت العينات المستخدمة 30 أنثى فأر تم تقسيمها إلى 5 مجموعات معالجة (مجموعة التحكم، ماء مقطر) المعالجة الأولى (كلوميفين سترات 0,9 مجم/كجم)، المعالجة الثانية (الجسيمات النانوية 25 مجم/كجم)، المعالجة الثالثة (الجسيمات النانوية 50 مجم/كجم)، المعالجة الرابعة (عشبي الطب محتوى الخصوبة 75 مجم/كجم). تم قياس مستويات هرمون الاستروجين والبروجسترون باستخدام ELLISA متبوعا بتحليل One Way ANOVA . أظهرت النتائج أن العلاج كان له تأثير على ملف الهرمون التناسلي. تم العثور على أعلى مستوى من هرمون الاستروجين في المعالجة الثانية وكان مختلفا بشكل كبير عن العلاجات الأخرى. وفي الوقت نفسه، تم العثور على أعلى مستويات من البروجسترون في معالجة الجسيمات النانوية (المعالجة الثانية والمعالجة الثالثة) على الرغم من أنها لم تكن مختلفة بشكل كبير عن السيطرة .

الكلمات المفتاحية: الجسيمات النانوية، فرتيليتاس، الاستروجين، البروجسترون

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmaanirrohiim, syukur Alhamdulillah penulis ucapkan bagi Allah SWT yang telah memberikan berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan studi di program studi biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan penulisan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *Allium sativum*, *Acorus calamus*, dan *Curcuma mangga* terhadap Kadar Hormon Estrogen dan Progesteron Mencit Betina”**. Selanjutnya penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini, khususnya kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Hariani, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof.Dr.Bayyinatul Muctaromah M.Si dan Mujahidin Ahmad, M.Sc. selaku pembimbing skripsi dan Iipembimbing agama, yang telah memberikan bimbingan selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
5. Didik Wahyudi, M.Si selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
6. Moh. Basyarudin, M.Si yang telah meluangkan waktunya untuk membantu pelaksanaan penelitian
7. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
8. Orang tua saya dan keluarga tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan serta motivasi kepada penulis.
9. Teman-teman Biologi 2016 dan semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril maupun materil.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan, sehingga kritik dan saran yang membangun penulis harapkan. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada pembaca dan khususnya bagi penulis secara pribadi. Aamiin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 7 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
MOTTO	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
مستخلص البحث.....	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan	6
1.4 Hipotesis Penelitian	7
1.5 Manfaat	7
1.6 Batasan Masalah	8

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekstraksi.....	9
2.2 Nanopartikel.....	10
2.3 Jamu Subur Kandungan	12
2.4 Tanaman Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	13
2.5 Tanaman Temu manga (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	14
2.6 Tanaman Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.).....	15
2.7 Klomifen sitrat	16
2.8 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	17
2.8.1 Siklus Reproduksi Mencit Betina	19
2.9 Sistem Hormon Wanita.....	20
2.9.1 Hormon ovarium	22
2.10 Mekanisme Senyawa Bioaktif Bawang Putih, Temu Mangga, dan Jeringau terhadap Kadar Hormon Estrogen dan Progesteron.....	24

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian.....	25
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
3.3 Variabel Penelitian.....	25
3.4 Populasi dan Sampel	25
3.5 Alat dan Bahan.....	26
3.5.1 Alat.....	26

3.5.2	Bahan.....	26
3.6	Prosedur Penelitian	27
3.6.1	Persiapan	27
3.6.1.1	Pembuatan Ekstrak.....	27
3.6.1.2	Pembuatan Nanopartikel	27
3.6.1.3	Aklimatisasi Hewan Coba.....	28
3.6.2	Pelaksanaan Penelitian	28
3.6.2.1	Penyeragaman Siklus Estrus	28
3.6.2.2	Konfirmasi Siklus Estrus	28
3.6.2.3	Pemberian Kloromifin Sitrat.....	29
3.6.2.4	Pemberian Dosis Perlakuan.....	29
3.6.3	Pengambilan Data	29
3.6.3.1	Pengambilan dan Penyimpanan Sampel	29
3.6.3.2	Uji Kadar Estrogen dengan ELISA Kit (Bioassay Technology Laboratory).....	30
3.6.3.3	Uji Kadar Progesteron dengan ELISA Kit (Bioassay Technology Laboratory).....	31
3.6.4	Analisis Data	31
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak <i>A. sativum</i> , <i>C. mangga</i> , dan <i>A. calamus</i> Terhadap Kadar Hormon Estrogen	43
4.2	Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak <i>A. sativum</i> , <i>C. mangga</i> , dan <i>A. calamus</i> Terhadap Kadar Hormon Progesteron	48
 BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	53
5.2	Saran	53
 DAFTAR PUSTAKA		44
LAMPIRAN.....		53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Rerata Hasil Pengukuran Kadar Estrogen Mencit dan Standar Deviasi (pg/mL)	43
4.2. Rerata Hasil Pengukuran Kadar Progesteron Mencit dan Standar Deviasi (ng/mL)	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi Tanaman Jeringau	14
2.2 Morfologi Temu Manga	15
2.3 Morfologi Bawang Putih.....	16
2.4 Sintesis Estrogen dan Progesteron	23
4.1 Grafik Rerata Dan Notasi Hasil Uji Duncan Kadar Estrogen.....	44
4.2 Grafik Rerata Dan Notasi Hasil Uji Duncan Kadar Progesteron.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran 1. Perhitungan Dosis.....	53
2. Lampiran 2. Hasil Uji Statistik (SPSS 16).....	55
3. Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian.....	58
4. Lampiran 4. Bukti Konsultasi	61
5. Lampiran 5. Form Cek Plagiasi	58

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Fertilitas merupakan kemampuan menghasilkan kehamilan secara klinis yang dikaitkan dengan tingkat kemampuan potensial untuk melahirkan keturunan (fekunditas) (Zegers-hochschild, *et al.*,2017; Chiu, *et al.*,2018). Fertilitas dipengaruhi oleh beberapa faktor utama meliputi genetik, penyakit atau kelainan reproduksi, nutrisi, dan lingkungan serta gaya hidup (Niringiyumukiza, *et al.*,2018; Silvestris, *et al.*,2019; Gajbhiye *et al.*,2018). Tingkat fertilitas juga dipengaruhi oleh hormon reproduksi (Rattan, *et al.*,2017), terutama gonadotropin releasing-hormon (GnRH) yang mengatur sekresi estrogen dan progesteron (Valsamakis, *et al.*,2019).

Estrogen dan progesteron berperan penting dalam pematangan reproduksi seperti pengaturan ovulasi, penebalan endometrium, dan perkembangan zygot (Aritonang, *et al.*,2017). Kadar hormon estrogen dan progesteron pada wanita dapat digunakan sebagai indikator tingkat fertilitas (Urrutia *et al.*,2019). Hormon ini disintesis oleh sel gonadotropik dengan mekanisme umpan balik dari reseptor GnRH pada hipotalamus dengan kadar tertentu (Sedes, *et al.*, 2018). Allah subhanahu wa ta'ala dalam surat Al Hijr (15) ayat 21 berfirman :

﴿٢١﴾ وَإِنْ مِنْ شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنَزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ

Artinya: “Dan tidak ada sesuatu pun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya, dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu” (Q.S Al-Hijr [15]: 21).

Shihab (2002) dalam tafsirnya menjelaskan bahwa pada kata *إِنْ مِنْ شَيْءٍ* merupakan redaksi yang bersifat umum, mencakup segala sesuatu dan juga dapat dipahami dalam makna perpaduan unsur yang berbeda-beda dalam terciptanya sesuatu. Menurut Abdullah (2008) dalam tafsir Ibnu Katsir, redaksi “*Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu*” bermakna bahwa Allah SWT memberikan hikmah dan rahmat yang sangat besar bagi hamba-hambanya atas penciptaan sesuatu yang dikehendaki-Nya dengan menetapkan atas diri-Nya kasih sayang (rahmat), sehingga Dia tidak menurunkannya kecuali dalam kadar tertentu. Hal ini kemudian juga dipahami bahwa kadar suatu unsur esensial yang berperan penting dalam kehidupan seperti halnya hormon reproduksi harus sesuai takaran yang diperlukan sehingga dapat berfungsi secara optimal.

Produksi hormon reproduksi dapat terjadi secara abnormal akibat gangguan pada GnRH, sehingga status fisiologis optimal yang diperlukan untuk keberhasilan reproduksi tidak tercapai (McIlwraith dan Belsham, 2020). Farahbod dan Soureshjani (2018) menyebutkan salah usaha yang dapat dilakukan untuk mengobati masalah fertilitas yaitu dengan cara modulasi hormonal. Kashani dan Akhondzadeh (2017) melaporkan bahwa untuk mengatasi ketidakseimbangan hormonal dan meningkatkan kesuburan dapat dilakukan dengan pengobatan herbal.

Penggunaan tumbuhan herbal dalam pengobatan menjadi potensial karena tersedia dalam jumlah banyak, memiliki efek samping yang rendah, dan harga terjangkau dibandingkan obat sintetik (Khan dan Ahmad, 2019). Tumbuhan merupakan sumber senyawa bioaktif penting sebagai antioksidan, terutama kelompok senyawa-senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid yang bermanfaat

sebagai pengatur fertilitas (Mbemba *et al.*, 2017). Seleem *et al.*, (2017) melaporkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas estrogenik yang tinggi karena kemiripan memiliki struktur dengan estrogen. Fitosterol yang merupakan turunan dari triterpenoid juga dapat bertindak sebagai prekursor biosintesis hormon steroid sex pada manusia (Miras-Moreno *et al.*, 2016; Tarkowská, 2019).

Eksplorasi tanaman potensial sebagai bahan obat terus dilakukan untuk mengetahui kandungan fitokimianya. Jenis tanaman yang beragam dan melimpah memiliki banyak manfaat untuk terus dikembangkan, sebagaimana firman Allah dalam surah Asy Syu'araa (26) ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik” (QS. Asy Syu'araa' [26]: 7).

Shihab (2002) dalam Tafsirnya menguraikan kata *إِلَى* pada awal ayat ini mengandung makna berfungsi untuk memperluas pandangan manusia hingga batas kemampuannya untuk mencari aneka manfaat yang terhampar pada tumbuh-tumbuhan di muka bumi. Sedangkan, kata *كَرِيمٍ* menggambarkan sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya, sebagaimana tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat. Menurut tafsir ilmi, tumbuh-tumbuhan yang baik dimaknai sebagai rezeki yang dikaruniakan kepada manusia (Lajnah Pentashihan Mushaf al-Qur'an Kemenag, 2012). Dalam ayat ini, Allah memerintahkan manusia untuk terus berikhtiar dalam mempelajari manfaat tumbuhan yang telah Allah ciptakan untuk kemaslahatan kehidupan.

Tumbuhan herbal diartikan sebagai tumbuhan apapun yang dalam salah satu atau seluruh bagiannya mengandung zat yang dapat digunakan untuk tujuan terapeutik, ataupun prekursor untuk bahan farmasi semi sintetis (Altyn dan Twaruzek, 2020). Pembuatan obat herbal menurut Alamgir (2017) dapat dilakukan dengan metode dekok, maserasi, distilasi, fraksinasi, pemurnian, dan pengenceran. Pembuatan sediaan herbal dengan cara menghancurkan, meremas atau merebus bahan herbal dalam air, secara lokal di Indonesia dikenal dengan sebutan Jamu (Saifudin *et al.*, 2016). Jamu memiliki berbagai macam jenis yang disesuaikan dengan kegunaan, salah satu diantaranya adalah untuk kesuburan reproduksi.

Jamu untuk pemeliharaan kesuburan reproduksi berisi tumbuhan herbal yang memiliki khasiat untuk meningkatkan fertilitas. Salah satu yang terkenal adalah “Jamu Subur Kandungan”, terbuat dari kombinasi bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*), dan jeringau (*A. calamus*). Muchtaromah *et al.*, (2019) melaporkan bahwa kombinasi ekstrak polih herbal tersebut dapat meningkatkan kesuburan dengan meningkatkan kadar hormon estrogen dan progesteron.

Bawang putih mengandung senyawa kimia organosulfur, flavonoid, saponin, dan polisakarida (Shang *et al.*, 2019). Komponen bioaktif dalam bawang putih memiliki banyak fungsi biologis sebagai kardioprotektif, hepatoprotektif, neuroprotektif, antikanker, antibakteri, anti jamur dan antioksidan (Szychowski *et al.*, 2018). Sebuah studi eksperimental oleh Shabanian *et al.*, (2016) pada model tikus menunjukkan bahwa ekstrak *A. sativum* dapat meningkatkan konsentrasi estrogen.

Temu marga merupakan salah satu spesies kurkuma yang memiliki yang memiliki aroma khas seperti mangga segar (Lianah *et al.*, 2020). Kandungan senyawa bioaktif utamanya meliputi asam fenolik, kurkuminoid dan terpenoid (Rohman *et al.*, 2020). Kurkumin dalam temu marga memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan senyawa lainnya (Lim, 2016).

Jeringau merupakan tanaman semi akuatik yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional pada bagian rimpangnya (Satyal *et al.*, 2013). Senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman ini meliputi saponin, alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan fenol (Khawairakpam, *et al.*, 2019). Lodh dan Swamy (2019) melaporkan bahwa jeringau telah lama digunakan sebagai ramuan pengobatan infertilitas oleh masyarakat India karena mampu menjaga keseimbangan hormonal dari folliclestimulating hormone (FSH) dan luteinizing hormone (LH) pada wanita.

Kendala yang didapatkan dalam mengonsumsi jamu adalah dosis yang besar dan berulang untuk mendapatkan fungsi yang optimal. Ardila dkk., (2017) menyebutkan bahwa sebagian besar tanaman obat tradisional memiliki aktifitas *in-vivo* yang rendah. Hal ini menyebabkan kurangnya bioavailabilitas dan penyerapan fungsi senyawa aktif dalam tanaman obat.

Salah satu alternatif solusi menghadapi permasalahan ini adalah dengan memperkecil ukuran partikel (Sachan dan Gupta, 2015). Teknologi nanopartikel sebagai media penghantaran obat dapat meningkatkan penyerapan obat dalam darah dan dosis yang digunakan dapat lebih sedikit (Charu *et al.*, 2019). Nanopartikel dapat meningkatkan luas permukaan partikel, sehingga kelarutan ekstrak dalam darah dapat efektif menuju sel target (Patil *et al.*, 2018). Sistem penghantaran obat berbasis polimer dilaporkan paling efektif (Ningsih dkk.,

2017). Salah satu nanocarrier berbasis polimer yang digunakan untuk bahan alam yaitu kitosan.

Banyaknya keuntungan dalam penggunaan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat, mendorong dilakukannya penelitian pembuatan nanopartikel dari ekstrak tumbuhan herbal untuk mengetahui kemanjurannya dibandingkan metode secara konvensional. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*A.sativum*), temu mangga (*C.mangga*) dan jeringau (*A. calamus*) terhadap kadar hormon estrogen dan progesteron dalam darah. Sintesis nanopartikel dengan penyalut kitosan pada penelitian ini mengikuti Muchtaromah *et al.* (2018).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah pada penelitian ini meliputi:

1. Apakah pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma. mangga*) dan jeringau (*Acorus calamus*) berpengaruh terhadap kadar hormon estrogen mencit betina?
2. Apakah pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*), temu mangga (*Curcuma mangga*) dan jeringau (*Acorus calamus*) berpengaruh terhadap kadar hormon progesteron mencit betina?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan jeringau (*A. calamus*) terhadap kadar hormon estrogen mencit betina.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan jeringau (*A. calamus*) terhadap kadar hormon progesteron mencit betina.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan jeringau (*A. calamus*) terhadap kadar hormon estrogen mencit betina.
2. Terdapat pengaruh pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan jeringau (*A. calamus*) terhadap kadar hormon progesteron mencit betina.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Bagi peneliti, memberikan informasi tentang pengaruh nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan jeringau (*A. calamus*) terhadap kadar hormon estrogen dan progesteron mencit betina.
2. Bagi masyarakat, memberikan referensi mengenai upaya pengoptimalan pengobatan herbal kesuburan melalui metode nanoteknologi.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Komposisi bahan mengacu pada jamu subur kandungan produksi PJ. Ribkah Maryam Jokotole.
2. Bahan herbal bawang putih bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan jeringau (*A. calamus*) yang digunakan diperoleh dari UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur.
3. Nanopartikel yang digunakan merupakan hasil dari kombinasi ekstrak ethanol 70% bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan jeringau (*A. calamus*)
4. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) betina usia 2-3 bulan.
5. Parameter penelitian ini meliputi kadar hormon estrogen dan progesteron .

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan teknik isolasi suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut di dalam larutan (Poole *et al.*, 2016). Prinsip ekstraksi didasarkan pada gaya dan interaksi antarmolekul diantara zat terlarut dan pelarut (Hansen, dan Pedersen-Bjergaard, 2019). Ragam metode ekstraksi bergantung terhadap jenis senyawa target yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi senyawa aktif dari simplisia secara konvensional dilakukan dengan metode ekstraksi pelarut yang didasarkan pada kepolaran senyawa aktif dalam pelarut. Ekstraksi dengan pelarut secara sederhana meliputi maserasi, perkolasi dan ekstraksi refluks menggunakan pelarut organik (Zhang, *et al.*, 2018).

Maserasi adalah metode ekstraksi senyawa bioaktif dengan cara perendaman simplisia dalam pelarut pada jangka waktu dan temperatur tertentu (Albuquerque *et al.*, 2016). Proses maserasi melibatkan difusi pelarut melalui dinding sel ke dalam sel akibat perbedaan tekanan osmosis sehingga senyawa aktif dalam sitoplasma akan keluar dan terlarut (Chairunnisa, dkk., 2019). Proses ini terjadi secara kontinu hingga mencapai keseimbangan konsentrasi zat terlarut, yang dipengaruhi oleh suhu, pH, waktu maserasi dan gerakan partikel (Lidiana, dkk., 2017).

Ekstrak cair yang diperoleh disaring untuk dipisahkan dari sisa simplisia. Maserasi dapat dilakukan secara berulang untuk memastikan senyawa aktif dalam simplisia telah terlarut, proses ini dikenal dengan remaserasi (Uddin MS *et al.*,

2018). Maserasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana murah, namun kurang efisien karena membutuhkan waktu lama (Gallo *et al.*, 2017).

2.2 Nanopartikel

Nanoteknologi merupakan perlakuan terhadap atom, molekul, atau senyawa menjadi struktur nano yang memiliki sifat khusus. Objek skala nano memiliki dimensi berkisar 1-1000 nanometer. Perkembangan nanoteknologi saat ini juga diaplikasikan dalam bidang medis seperti pemberian obat, pencitraan nano, dan aplikasi terkait lainnya. Nanoteknologi dalam bidang farmasi terbagi menjadi dua jenis dasar nano yaitu, nanokristal dan nanomaterial. Bahan-bahan ini dapat diklasifikasikan menjadi bahan nanokristalin dan nanostruktur. Nanostruktur terdiri dari nanopartikel, dendrimers, misel, konjugat obat, dan nanopartikel logam (Nikalje, 2015; Ramsden, 2011; Jeevanadam, 2018).

Aplikasi nanopartikel dalam pengiriman obat bertujuan untuk melindungi agen terapeutik dan diagnostik secara lokal dan tertarget pada sel. Selain itu, nanopartikel dapat mengontrol dan melindungi senyawa aktif selama transportasi, sehingga dapat menjaga aktivitas senyawa (Pakki, dkk., 2016). Nanopartikel dapat diproduksi menggunakan bahan organik dan anorganik. Penggunaan nanopartikel dalam pengiriman obat dan nanomedicine memiliki persyaratan utama untuk menggunakan bahan biokompatibel dan polimer biodegradable (Sumaiyah, 2018). Sistem penghantaran obat berbasis polimer dapat meningkatkan farmakokinetik obat, meningkatkan indeks terapeutiknya, mengurangi efek sampingnya dan karenanya meningkatkan efisiensi keseluruhan sistem. Molekul obat dilepaskan dari polimer matriks dapat melalui beberapa mekanisme seperti difusi, erosi, degradasi polimer dll (Saikia, *et al.*, 2015).

Nanopartikel polimer adalah partikel koloid padat berskala nano yang dikelompokkan menjadi nanokapsul dan nanosfer. Nanosfer memiliki struktur tipe monolitik (matriks) dimana bahan aktif farmasi dienkapsulasi dalam partikel atau terserap ke permukaannya. Sedangkan, nanokapsul adalah sistem vesikuler dimana bahan aktif farmasi dibatasi oleh rongga yang terdiri dari inti cairan bagian dalam dikelilingi oleh membran polimer. Nanopartikel polimer memiliki efektifitas yang lebih tinggi dibanding bentuk nanopartikel lainnya dalam sistem pengiriman obat, diantaranya dapat memberikan perlindungan yang tinggi terhadap lingkungan berbahaya, peningkatan stabilitas, dan peningkatan bioavailabilitas obat (Lammari, 2018).

Efikasi nanopartikel sebagai agen pengiriman obat menuju sel target dipengaruhi oleh ukurannya. Dave *et al.* (2019) melaporkan nanopartikel polimer lipid dengan kisaran ukuran 10 – 150 nanometer mudah diserap dalam sirkulasi darah. Allah SWT berfirman dalam surah Yunus (10) ayat 61:

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ ۚ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ ﴿٦١﴾

Artinya: “Dan tidaklah engkau (Muhammad) berada dalam suatu urusan, dan tidak membaca suatu ayat Al Quran serta tidak pula kamu melakukan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu ketika kamu melakukannya. Tidak lengah sedikitpun dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarrah, baik di bumi maupun langit. Tidak ada sesuatu yang lebih kecil dan yang lebih besar daripada itu, melainkan semua tercatat dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfudz)”. (Q. S Yunus [10]: 61).

Ayat ini menurut Abdullah (2008) ditafsirkan bahwa Allah SWT tidak luput atas pengetahuan-Nya bahkan barang sebesar zarrah atau yang lebih kecil darinya baik di langit dan di bumi karena semuanya telah tercatat di dalam kitab Lauh Mahfudz (yang nyata). Shihab (2002) menguraikan kata ذَرَّةٌ pada ayat ini dipahami sebagai atom, menunjuk makna sesuatu yang terkecil. Tafsir demikian dimaksudkan bahwa Allah memiliki kuasa atas suatu apapun yang tidak luput dari pengetahuanNya. Penafsiran ulama yang berbeda-beda pada makna penggalan ayat ini diberikan agar mudah ditangkap oleh logika manusia sesuai pada zamannya. Ilmu pengetahuan yang terus berkembang semakin menunjukkan kuasa Allah atas ciptaannya dengan ditemukan penemuan-penemuan dalam bidang sains. Sesuatu yang dimaknai memiliki ukuran terkecil dalam penelitian ini adalah nanopartikel.

Pembuatan nanopartikel dapat dilakukan beberapa metode, salah satunya dengan metode gelasi ionik. Teknik gelasi ionik dilakukan dengan mencampur antara polimer yang bersifat polianion dengan polikation. Polimer polikation yang umum digunakan adalah kitosan karena bersifat tidak beracun, biokompatibel, pengkelat, antibakteri dan dapat terbiodegrasi, tetapi memiliki derajat swelling tinggi sehingga kurang menguntungkan pada aplikasi sebagai sistem penghantaran obat. Polimer polianion yang digunakan harus mampu menjadi pengikat silang yang baik misalnya tripolifosfat (TPP). Penggunaan TPP sebagai agen pengikat silang bertujuan agar tidak terjadi ikatan berlebih antara polianion TPP dengan gugus amina pada kitosan, sehingga kekuatan mekanik gel kitosan dapat meningkat (Pakki, dkk., 2016; Kurniasari dan Atun, 2017).

2.3 Jamu Subur Kandungan

Jamu merupakan ramuan bahan dari tumbuhan obat yang digunakan turun temurun dan berfungsi untuk pemeliharaan kesehatan (Tilaar dan Widjaja, 2014). Ramuan herbal telah digunakan secara empiris untuk mencegah dan mengobati berbagai penyakit (Kartini *et al.*, 2019). Bahan-bahan jamu berasal dari tumbuh-tumbuhan baik itu dari akar, daun, bunga, maupun kulit dan tidak mengandung bahan kimia sehingga memiliki efek samping relatif lebih kecil (Elfahmi *et al.*, 2014).

Pemanfaatan jamu sebagai obat tradisional memiliki banyak jenis tujuan, diantaranya sebagai penyubur kandungan. Komposisi ramuan jamu subur terdiri dari bawang putih, temu mangga dan jeringau (Ahmad, 2015). Ramuan ini berkhasiat untuk menyuburkan kandungan yang kurang sel telur, membantu memperkuat otot rahim, dan mencegah keguguran kandungan.

2.4 Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Jeringau (*A. calamus*) merupakan tanaman parenial semi akuatik dengan habitus herba. Tanaman ini memiliki rimpang menjalar berbentuk silindris dengan diameter hingga 2.5 cm, berwarna coklat (Gambar 2.1. b). dan aromatik. Daun berwarna hijau cerah, dengan bentuk seperti pedang, dengan tepi melengkung atau bergelombang (Gambar 2.1. a). Jeringau memiliki bunga majemuk berbentuk silindris berwarna hijau kecoklatan. Buah jeringau berbentuk seperti berry berukuran kecil dan menganung sedikit biji. Distribusi tanaman ini terdapat pada wilayah tropis hingga sub tropis hingga ketinggian 2000 mdpl (Ranjan *et al.*, 2016; Nair *et al.*, 2019; Sharma *et al.*, 2020).



Gambar 2.1. Jeringau. Morfologi Jeringau (a), Rimpang tanaman jeringau (b) (Sharma *et al.*, 2020).

Klasifikasi jeringau (*Acorus calamus*) menurut APG II (2003): Kingdom: Plantae, Divisio: Magnoliophyta, Classis: Liliopsida, Ordo: Arales, Familia: Araceae, Genus: *Acorus*, dan Species: *Acorus calamus* L. Jeringau merupakan salah satu tanaman sumber bahan bioaktif penting yang bermanfaat bagi obat-obatan. Kandungan fitokimia tanaman ini meliputi, Sesquiterpenes, Monoterpenes, Xanthone glycoside, Flavon, Lignan, dan Steroid (β -Sitosterol) (Joshi dan Bashyal, 2019). Ranjan *et al* (2016) menyebutkan jeringau berkhasiat sebagai antioksidan, anti kanker, anti inflamasi, anti viral dan anti mikroba.

2.5 Tanaman Temu manga (*Curcuma mangga* Val.)

Temu mangga merupakan tanaman perenial berhabitus tera dengan tinggi sekitar 50-70 cm. Helai daun berbentuk lonjong dan memiliki ujung yang runcing dengan panjang 30-45 cm (Gambar 2.2. a). Bunga temu mangga keluar dari ujung batang dengan daun gagang berwarna hijau dan berwarna putih di bagian dasar. Temu mangga memiliki batang semu, membentuk rimpang hijau di dalam tanah. Temu mangga memiliki sistem perakaran serabut yang melekat pada rimpang induk (Akbar *et al.*, 2020). Rimpang temu mangga memiliki daging berwarna kuning muda dengan kulit rimpang berwarna putih kekuningan saat

segar (Gambar 2.2. b) dan menjadi kuning saat kering. Ciri khas tanaman ini memiliki rimpang beraroma seperti mangga segar (Waman *et al.*, 2018).



Gambar 2.2. Temu Mangga. Morfologi temu manga (a) Rimpang temu manga (b) (Akbar *et al.*, 2020).

Klasifikasi Temu manga (*Curcuma mangga*) menurut APG II (2003): Kingdom: Plantae, Divisio: Magnoliophyta, Classis: Liliopsida, Ordo: Liliopsida, Familia: Zingiberaceae, Genus: Curcuma, dan Species: *Curcuma mangga* Val. Kandungan senyawa fitokimia temu meliputi kurkumin, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid (Lim, 2016). Khasiat kurkumin dalam farmasi dikenal sebagai antioksidan, antialergi, ant kanker, antifungi, antivirus, kardi protektif dan agen penyembuhan luka (Akbar *et al.*, 2020)

2.6 Tanaman Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

Bawang putih adalah tanaman herba parenial yang memiliki umbi lapis. Bawang putih tumbuh secara berumpun denganan tinggi hingga 30-75 cm (Moulia, dkk, 2018). Umbi bawang putih bertekstur padat dan kasar dan memiliki dasar berbentuk lingkaran pipih seperti cakram. Umbi lapis bawang putih terdiri dari 8 - 20 anak bawang dan bergabung menjadi umbi majemuk (Gambar 2.3.).

Helai daun berbentuk pita memanjang hingga 30-60 cm dan lebar 1-2,5 cm. Tanaman ini dapat berkembang baik pada ketinggian 200 - 250 mdpl (Alam *et al.*, 2016).



Gambar 2. 3. Morfologi Bawang Putih (Kuete, 2017).

Klasifikasi bawang putih (*Allium sativum*) menurut APG II (2003): Kingdom: Plantae, Divisio: Magnoliophyta , Classis: Monocotyledonae, Ordo: Liliales, Familia: Liliaceae, Genus: Allium, dan Species: *Allium sativum* L. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada bawang putih dikenal sebagai agen terapeutik seperti organosulfur, amide, dan fenol, khususnya flavonoid, saponin, dan sapogenin (Petropoulos *et al.*, 2018). Selain itu, senyawa aktif dalam bawang putih berkhasiat sebagai antioksidan, anti hipertensi, anti kanker, anti inflamasi, antimikroba, dan menurunkan kolestrol (Isrianto dan Tania, 2019). Musavi *et al.* (2018) melaporkan bahwa ekstrak *A. sativum* yang diberikan secara oral terhadap tikus jantan mampu meningkatkan kadar progesteron.

2.7 Klomifen sitrat

Klomifen sitrat merupakan modulator reseptor estrogen selektif yang terdiri dari dua isoform enklomifen dan zuklomifen. Kedua isomer ini secara kompetitif mengikat reseptor estrogen di hipotalamus dan kelenjar pituitari sehingga mengurangi sinyal yang diberikan oleh estrogen melalui reseptornya (Khourdaji *et al.*, 2018). Aktivitas ini mengganggu mekanisme umpan balik negatif dari estrogen endogen sehingga terjadi peningkatan sekresi FSH dan LH untuk merangsang produksi folikel ovarium (Gadalla, *et al.*, 2018).

Triantafyllidou *et al.* (2020) melaporkan suplementasi 100 mg klomifen sitrat dapat meningkatkan kadar estradiol yang signifikan, jumlah folikel dan jumlah oosit. Penggunaan klomifen sitrat sebagai stimulan ovulasi juga memiliki efek samping terhadap kesehatan. Taheripanah *et al.*, (2018) melaporkan penggunaan klomifen sitrat selama lebih dari 6 bulan memiliki risiko signifikan terkena kanker payudara bagi wanita.

2.8 Mencit (*Mus musculus*)

Penelitian biomedis bahan obat-obatan yang ditujukan untuk penggunaan pada manusia harus telah lolos uji laboratorium secara tuntas (Ridwan, 2013). Uji laboratorium dilakukan menggunakan model hewan coba yang dipilih berdasarkan kesamaan dalam proses yang ditiru dalam penelitian. Model hewan coba yang ideal adalah hewan yang mudah diperoleh, perawatan mudah, mampu memproduksi keturunan yang banyak, dan memiliki sifat anatomi dan fisiologi serta genetik yang telah terkarakteristik (Husna dkk., 2019).

Mencit (*Mus musculus*) merupakan mamalia anggota dari ordo pengerat (rodentia) yang sering digunakan sebagai model hewan coba karena mempunyai kemiripan genetik dengan manusia (Perlman, 2016). Sebagai anggota ordo

rodentia, mencit memiliki kaki dengan jari-jari lima dan masing-masing bercakar, sepasang gigi seri pada rahang atas tumbuh secara terus menerus, tidak memiliki taring, testes abdominal, serta tipe plasenta discoidal. Mencit merupakan hewan yang aktif saat malam hari dengan daur hidup berkisar satu hingga mencapai tiga tahun. Mencit dewasa memiliki berat sekitar 20-35 gram, dan dapat berkembang biak secara mudah dengan siklus estrus yang teratur yaitu 4-5 hari. Waktu kebuntingan mencit dari 19-21 hari yang mampu melahirkan hingga 8 ekor anak (Tolistiawaty dkk., 2014; Nugroho, 2018).

Penciptaan mencit sebagai hewan percobaan merupakan salah satu nikmat kekuasaan Allah SWT terhadap manusia. Hal tersebut sebagaimana terdapat dalam Al Quran surah An Nur (24) ayat 45:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya: “Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu” (Q.S An Nur [24]: 45).

Menurut Shihab (2002) dalam tafsirnya, kalimat “*sedangkan sebagian yang lain berjalan dengan empat kaki*” dimaknai sebagai hewan ternak dan binatang-binatang lainnya. Dalam Tafsir Ibnu Katsir kalimat “*Allah menciptakan yang dikehendaki-Nya,*” dijelaskan bahwa hewan yang diciptakan merupakan apa yang dikehendaki-Nya, sebab Allah Mahakuasa atas segala sesuatu (Abdullah,

2008). Salah satu jenis hewan yang memiliki manfaat untuk penelitian adalah mencit untuk digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian.

2.8.1 Siklus Reproduksi Mencit Betina

Mencit merupakan hewan mamalia yang memiliki siklus kelamin poliestrus. Satu siklus birahi terbagi atas 4 periode yang dikelompokkan menjadi 2 fase, yaitu fase folikuler (proestrus dan estrus) dan fase luteal (metestrus dan diestrus). Masing-masing periode dapat diketahui dengan pemeriksaan apusan vagina, mengamati tingkah laku dan perubahan alat kelamin luar.

Periode proestrus pada ovarium terjadi selama terjadi perkembangan folikel sampai terbentuk folikel de Graaf di bawah pengaruh hormon FSH dan LH. Proses ovulasi dimulai dengan terjadinya peningkatan pertumbuhan sel-sel epitel oviduk, vaskularisasi pada mukosa uterus dan mukosa vagina. Korpus luteum mengalami vakuolisasi, degenerisasi dan pengecilan secara cepat. Kadar estrogen dalam darah pada periode ini mengalami peningkatan dan diikuti oleh penurunan kadar progesterone. Selama periode ini vagina dilapisi oleh epitel skuamosa bertanduk (keratinasi) dengan lapisan permukaannya dari sel epitel kolumnar yang mengalami (Muliani, 2011).

Fase estrus berlangsung 12 jam, fase ini merupakan periode optimum untuk kopulasi. Estrogen yang dihasilkan oleh folikel de Graaf menyebabkan terjadinya perubahan pada saluran reproduksi, dengan mulai berkontraksinya tuba fallopi, fimbriae pada ovarium merapat, vaskularisasi uterus meningkat, dan terjadi peningkatan mitosis dalam mukosa vagina. Produksi LH oleh hipofisis anterior mengalami peningkatan yang diikuti dengan terjadinya ovulasi dan terbentuknya korpus luteum. Vagina pada masa estrus ditutupi oleh lapisan tebal

dari keratin sebanyak lima sampai enam lapisan epitel skuamosa. LH akan menstimulasi diproduksinya PGF2 α dan selanjutnya PGF2 α akan menstimulasi enzim kolagenase dari sel folikel. Enzim ini berperan dalam merapuhkan dinding folikel sehingga dinding folikel pecah yang diikuti dengan keluarnya ovum (Muliani, 2011).

Metestrus merupakan lanjutan fase estrus, dimana sel-sel granulosa dan sel teka dari folikel yang telah pecah akan membentuk korpus luteum. Fungsi korpus luteum pada mencit dipengaruhi oleh stimulasi serviks-vagina yang terjadi selama kopulasi. Stimulasi ini menyebabkan korpus luteum mensekresikan progesteron. Fase ini pada tikus berlangsung sekitar 21 jam dimana pertumbuhan korpus luteum sangat cepat. Progesteron yang dihasilkan korpus luteum menghambat sekresi FSH dan LH. Uterus dan saluran reproduksi mengalami regresi dan secara fisiologis menjadi kurang aktif jika kehamilan tidak berlangsung (Muliani, 2011).

Fase terakhir dan paling lama dari siklus estrus adalah fase diestrus. Pada tahap ini folikel-folikel primer mulai terbentuk dan mengalami pertumbuhan awal. Apusan vagina pada fase ini menampilkan banyak sel epitel berinti dan sel leukosit (Muliani, 2011).

2.9 Sistem Hormon Wanita

Sistem hormon pada wanita terbagi menjadi 3 hormon utama terdiri dari gonadotropin releasing hormone (GnRH), hormon seks hipofisis anterior, serta hormon ovarium (Guyton dan Hall, 2015). Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) merupakan neurohormon peptida yang diproduksi hipotalamus. Neuron GnRH melepaskan dekaeptida dalam aliran darah dan diarahkan ke

adenohipofisis. GnRH kemudian mengatur sintesis dan sekresi luteinizing hormon (LH) dan follicle-stimulating hormone (FSH) dari hipofisis anterior (Jonak *et al.*, 2018). Hormon-hormon ini mengatur steroidogenesis dan gametogenesis gonad. Sekresi FSH distimulasi pada frekuensi sinyal GnRH yang rendah rendah, sedangkan LH lebih distimulasi pada frekuensi persinyalan GnRH yang tinggi (Stamatiades *et al.*, 2019).

Perubahan ovarium yang terjadi selama siklus seksual bergantung sepenuhnya terhadap FSH dan LH yang disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior. FSH dan LH merupakan hormon golongan glikoprotein. Kedua hormon ini menstimulasi proliferasi sel dengan mengaktifkan reseptor spesifik di membran sel target ovarium (Guyton dan Hall, 2015).

Pertumbuhan folikel primer menjadi folikel mature (de Graff) dirangsang oleh FSH saja. Hormon ini mempercepat pertumbuhan folikel primer hingga 6 sampai 12 folikel setiap bulan. Pertumbuhan yang cepat ini disebabkan dengan mekanisme umpan balik positif. Reseptor FSH dalam sel granulosa meningkat yang disebabkan oleh sekresi estrogen ke dalam folikel, sehingga sel granulosa lebih sensitif terhadap FSH. Kemudian FSH bersama estrogen bergabung memacu reseptor LH pada sel granulosa, sehingga memungkinkan stimulasi LH terjadi di samping stimulasi FSH dan meningkatkan proliferasi folikel (Guyton dan Hall, 2015).

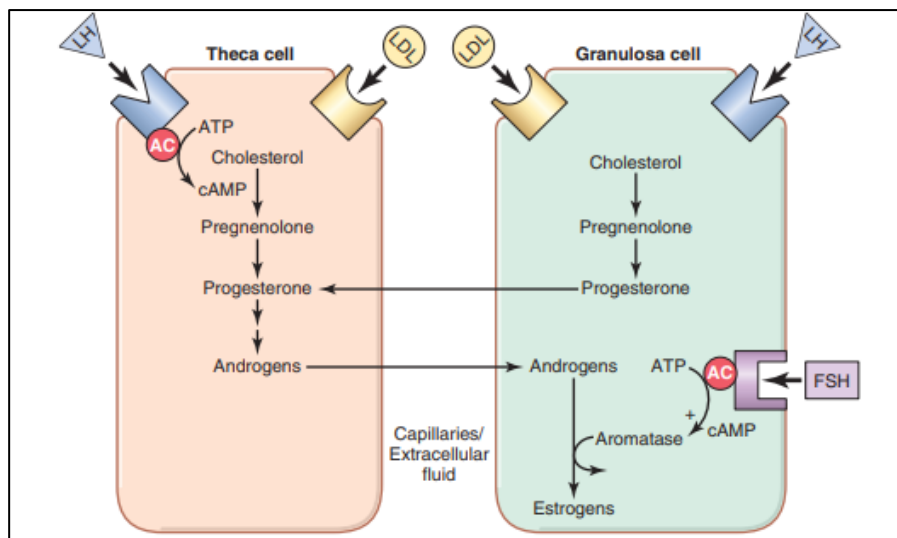
Luteinizing Hormon (LH) diperlukan untuk folikulogenesis, persiapan endometrium untuk implantasi dan ovulasi. LH memacu sekresi progesterone dalam folikel dan selanjutnya menyebabkan peluruhan folikel. Akhirnya, terjadi

kekosongan korpus luteum akibat luteinisasi. Korpus luteum adalah organ yang sangat sekretorik, mengeluarkan sejumlah besar baik progesteron dan estrogen.

2.9.1 Hormon ovarium

Hormon ovarium terdiri dari dua hormon yaitu estrogen dan progestin. Kedua hormon ini bertanggung jawab untuk perkembangan dan kematangan reproduksi (Guyton dan Hall, 2015).

Estrogen adalah hormon steroid yang berperan penting dalam perkembangan karakter seks sekunder pada wanita. Estrogen memicu proliferasi dan pertumbuhan sel pada organ reproduksi seperti ovarium, uterus, serviks, dan vagina. Hormon estrogen memiliki tiga jenis yang terdapat secara signifikan dalam plasma darah wanita yang meliputi, estrone (E_1), β -estradiol (E_2), dan estriol (E_3). Jenis estrogen utama yang disekresikan oleh ovarium dalam jumlah besar adalah β -estradiol (E_2). Estron disekresikan dalam jumlah sedikit oleh ovarium. Estriol adalah estrogen lemah yang merupakan produk oksidatif berasal dari estradiol dan estrone yang dikonversi di hati. Potensi estrogenik dari β -estradiol adalah 12 kali lipatnya estron dan 80 kali estriol (Guyton dan Hall, 2015).



Gambar 2.4 Sintesis Estrogen dan Progesteron (Guyton dan Hall, 2015).

Estrogen disintesis di dalam sel teka dan sel granulosa ovarium dari turunan kolesterol. Progesteron dan androgen (testosteron dan androstenedion) disintesis terlebih dahulu sebelum sintesis estrogen berlangsung. Selama fase folikel dari siklus ovarium, sebelum kedua hormon meninggalkan ovarium, androgen dan progesterone diubah menjadi estrogen oleh enzim aromatase di sel granulosa (Guyton dan Hall, 2015).

Sintesis estrogen dari kolestrol di dalam sel teka dikendalikan luteinizing hormon (LH). LH meningkatkan aktivitas enzimatik dalam pembelahan rantai sisi kolesterol dengan pengaktifan ATP menjadi cAMP sehingga terbentuk androstenedion. Karena sel teka kekurangan aromatase, maka androgen tidak dapat diubah menjadi estrogen. Sehingga, androgen berdifusi keluar sel teka dan masuk ke dalam sel granulosa yang berdekatan untuk diubah menjadi estrogen oleh aromatase. Pada folikel dewasa, FSH pada sel granulosa merangsang aktivitas aromatase yang mengubah androgen menjadi estrogen (Guyton dan Hall, 2015).

Progesteron adalah hormon steroid yang terlibat dalam siklus estrus dan kehamilan. Progesteron merupakan hormon utama kelompok progestin yang paling banyak disekresikan, dan dengan jumlah yang kecil lainnya adalah 17- α -hydroxyprogesterone. Sintesis progesteron dilakukan oleh korpus luteum di dalam ovarium setelah ovulasi dan dalam kelenjar adrenal, serta di dalam plasenta selama kehamilan (Gambar 2.4). Progesteron memiliki peranan dominan untuk implantasi zigot serta menurunkan frekuensi dan intensitas kontraksi dari uterus (Hadley, 2000; Guyton dan Hall, 2015).

2.10 Mekanisme Senyawa Bioaktif Bawang Putih, Temu Mangga, dan Jeringau terhadap Kadar Hormon Estrogen dan Progesteron

Aktivitas estrogen pada mamalia dimediasi oleh dua reseptor utama estrogen yang berbeda, yaitu ER α dan ER β . Protein ini merupakan anggota keluarga reseptor inti, yang memiliki ciri khas domain struktural dan fungsional. Dua reseptor estrogen (ER) dihasilkan dari dua gen yang berbeda dan memiliki pola ekspresi yang sebagian berbeda. Mekanisme kerja kedua reseptor ini secara berbeda dalam modulasinya oleh serangkaian ligan alami dan sintetis. Beberapa dari ligan ini menunjukkan efek agonistik atau antagonis tergantung pada sub tipe ER (Lecomte *et al.*, 2017).

Senyawa bioaktif dari polih herbal bawang putih, temu mangga, dan jeringau memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid yang dapat bertindak sebagai senyawa fitoestrogen (Muchtaromah *et al.*, 2020). Yuwono dkk., (2018) menyebutkan bahwa fitoestrogen mampu memicu steroidogenesis pada ovarium melalui mekanisme umpan balik negatif GnRH, karena fitoestrogen memiliki kemiripan struktur dengan reseptor estrogen 17 β estradiol.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian bersifat eksperimental laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 6 ulangan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai dengan bulan Agustus 2020 di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Hewan Coba Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel-variabel penelitian ini dijelaskan sebagai berikut:

- a. Variabel bebas: dosis nanopartikel kombinasi ekstrak *Alium Sativum*, *Curucuma manga*, dan *Acorus calamus*
- b. Variabel terikat: kadar hormon estrogen dan progesteron mencit betina
- c. Variabel kontrol: jenis hewan coba mencit (*Mus musculus*), jenis kelamin betina, umur 2 – 3 bulan dengan berat 20-25 gram, pemberian makan dan minum *ad libitum*.

3.4 Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jenis kelamin betina, umur 2 – 3 bulan. Sampel dikelompokkan menjadi 5 perlakuan dan 6 ulangan sebagai berikut:

1. Kontrol (K) : mencit diberi aquades
2. Perlakuan 1 (P1): mencit diberi klomifen sitrat dosis 0,9 mg/KgBB
3. Perlakuan 2 (P2) : mencit diberi perlakuan nanopartikel kombinasi ekstrak dosis 25 mg/KgBB
4. Perlakuan 3 (P3) : mencit diberi perlakuan nanopartikel kombinasi ekstrak dosis 50 mg/KgBB
5. Perlakuan 4 (P4) : mencit diberi jamu subur kandungan dosis 75 mg/KgBB

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Penelitian ini menggunakan peralatan meliputi gelas beaker (IWAKI), gelas ukur (IWAKI), kertas saring, timbangan analitik, magnetic stirrer, rotary vacuum evaporator, sonicator (Cole Pamer CV188), homogenizer (IKA T-25 Ultra Turtax), incubator (Memmert Un-55), oven, gavage, kandang hewan coba, alat bedah, spuit, micropipet, tip kuning, ependorf, dan sentrifuge (Thermo Scientific Heraeus Labokuge 200), spektrofotometer.

3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi serbuk simplisia bawang putih, temu manga, dan jeringau yang diperoleh dari UPT Material Medica Batu, etanol 70%, etanol 70%, kitosan, tween 80, Asam Asetat Glisial 0,5%, Na CMC, aquades, mencit (*Mus musculus*), PMSG, hCG, klomifen sitrat (Profertile), pakan BR1, dan Estrogen Elisa Kit (Bio Assay Technology).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Persiapan

3.6.1.1 Pembuatan Ekstrak

Bahan yang digunakan dalam ekstrak adalah serbuk simplisia dari bawang putih (*A.Sativum*), temu mangga (*C. mangga*), dan jeringau (*A. calamus*) yang diperoleh dari UPT Materia Medica, Batu Jawa Timur. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% (Isrianto dan Tania, 2019) dengan perbandingan 3 : 1 pada 36 gram *A. Sativum*, 36 gram *C. mangga*, dan 28 gram *A. calamus* selama 24 jam didalam wadah tertutup. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya disaring dan dilakukan remaserasi sebanyak tiga kali ulangan dengan pelarut yang sama. Ekstrak cair yang terkumpul dipekatkan dari pelarut dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C (Muchtaromah, dkk., 2020).

3.6.1.2 Pembuatan Nanopartikel

Disiapkan 0,5 % (0,5 mL) asam asetat glasial (AAG) dalam 100 mL aquades. Setelah itu ditambahkan 0,5 % (0,5 gram) kitosan dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 0,5 % (0,1 gram) tripolifosfat (TPP) sebanyak 20 mL dan diaduk menggunakan magnetic stirrer. Selanjutnya ditambahkan dengan 0,1 gram kombinasi ekstrak *A. Sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus* dan diaduk kembali menggunakan magnetic stirrer hingga homogen. Campuran yang diperoleh kemudian ditambahkan 1 mL tween 80 dan dihomogenizer pada kecepatan 4000 rpm selama 60 menit. Larutan yang didapatkan selanjutnya disonikasi dengan frkuensi 20kHz dan amplitudo 90% selama 90 menit. Setelah itu larutan disentrifugasi dalam tube 15 mL dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit.

Pellet yang diperoleh kemudian dikeringkan didalam inkubator dengan suhu 40 °C. Selanjutnya pellet digerus dengan nitrogen cair dan disaring untuk memperoleh serbuk nanopartikel (Pakki et al., 2016 dimodifikasi).

3.6.1.3 Aklimatisasi Hewan Coba

Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama 1 minggu sebelum diberikan perlakuan. Selama tahap aklimatisasi berlangsung, hewan coba diberi pakan BR1 dan air minum diberikan secara *ad libitum* (Xi-Dan *et al.*, 2019).

3.6.2 Pelaksanaan Penelitian

3.6.2.1 Penyeragaman Siklus Estrus

Penyeragaman siklus estrus dilakukan dengan injeksi intraperitoneal 5 IU of Pregnant Mare's Serum Gonadotropin (PMSG) dan diikuti 5 IU Human Chorionic Gonadotropin (hCG) 48 jam kemudian (Kim and Yoon, 2020). Pembuatan 5 IU PMSG dilakukan dengan mengencerkan PMSG 500 IU dalam 5 mL aquades (200 IU/mL), kemudian diambil 1 mL dan ditambahkan 3 mL aquades (50 IU). Pembuatan hCG 5 IU diperoleh dengan mengencerkan hCG 1500 IU dalam 5 mL aquades (300 IU/mL), kemudian diambil 1 mL dan diencerkan dalam 5 mL aquades (50 IU/mL). Dosis induksi adalah sebanyak 0,05 mL (5 IU) yang diambil dari 50 IU/mL masing-masing PMSG dan hCG.

3.6.2.2 Konfirmasi Siklus Estrus

Pemeriksaan siklus estrus dilakukan dengan metode apusan vagina. Pembuatan apusan dilakukan menggunakan pipet berisi larutan garam fisiologis NaCl yang dimasukkan kedalam vagina mencit, dengan mengeluarkan dan menghisap kembali larutan NaCl. Larutan hasil apusan kemudian dikeluarkan dan diletakkan pada gelas objek dan dikering anginkan. Selanjutnya dilakukan fiksasi

dengan etanol 10 % selama 3 menit. Setelah itu dilakukan pewarnaan dengan giemsa dan didiamkan selama 5 menit dan dibilas dengan aquades. Preparat apusan vagina kemudian diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali (Oluwasola *et al.*,2019).

3.6.2.3 Pemberian Klomifen Sitrat

Klomifen sitrat diberikan terhadap mencit dengan dosis merujuk pada aturan minum obat ProfertilTM produksi PT Kalbe Farma. Hasil perhitungan adalah sebagai berikut:

Dosis klomifen sitrat untuk manusia adalah 50 mg/60 KgBB.

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk per KgBB} &= 50 : 60 \\ &= 0,83 \text{ mg/KgBB} \\ &= 0,9 \text{ mg (dibulatkan)}\end{aligned}$$

3.6.2.4 Pemberian Dosis Perlakuan

Pemberian dosis nanopartikel mengacu pada Muchtaromah *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa kombinasi 50mg/KgBB ekstrak *A. Sativum*, *C. mangga* dan *A. calamus* yang merujuk pada dosis aturan minum Jamu Subur KandunganTM produksi PJ. Ribkah Maryam Jokotole mampu meningkatkan kadar estrogen dan progesteron. Dosis yang diberikan pada penelitian ini dimodifikasi dan merujuk dari dosis pemberian Jamu Subur KandunganTM sebesar 75 mg/KgBB yang diturunkan dalam interval 25. Sehingga, dosis perlakuan adalah 25mg/KgBB, dan 50mg/KgBB.

3.6.3 Pengambilan Data

3.6.3.1 Pengambilan dan Penyimpanan Sampel

Sampel darah dilakukan pengambilan melalui jantung menggunakan spuit. Darah yang telah diambil kemudian ditampung dalam tabung ependorf dan dinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya darah disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk dipisahkan supernatant (serum) dari pellet (sel darah dan jaringan ikat lainnya) (Suprihatin *et al.*, 2020). Supernatant disimpan didalam freezer dengan suhu -20 °C menunggu dilakukan analisis lanjut (Hasan *et al.*, 2019).

3.6.3.2 Uji Kadar Estrogen dengan ELISA Kit (Bioassay Technology Laboratory)

Kadar estrogen serum darah dianalisis dengan metode enzyme-linked immunoassay (ELISA) mengacu pada prosedur uji ELISA Kit merek Bioassay Technology Laboratory. Disiapkan semua reagen, standard dan sampel pada suhu kamar sebelum digunakan. Pertama, dimasukkan 50µl standard ke dalam well standard. Selanjutnya dimasukkan 40µl sampel ke dalam well sampel dan ditambahkan 10µl antibodi anti-ER ke well sampel. Setelah itu, ditambahkan 50µl streptavidin-HRP kedalam masing-masing well sampel dan standard, di homogenkan, well ditutup dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Setelah inkubasi, tutup well dibuka dan dicuci menggunakan 0,35 mL wash buffer dengan direndam selama 30 hingga 60 detik sebanyak 5 kali ulangan, pada setiap ulangan well dikeringkan dengan kertas tisu. Kemudian ditambahkan 50µl substrate solution A diikuti 50µl substrate solution B pada setiap well, well ditutup dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit terhindar dari cahaya. Selanjutnya ditambahkan 50µl stop solution pada setiap well dan dilakukan

pembacaan nilai optical density (OD) dengan panjang gelombang (λ) 450 nm setelah 10 menit dari penambahan stop solution.

3.6.3.3 Uji Kadar Progesteron dengan ELISA Kit (Bioassay Technology Laboratory)

Kadar progesteron serum darah di analisis dengan metode enzyme-linked immunoassay (ELISA) mengacu pada prosedur uji ELISA Kit merek Bioassay Technology Laboratory. Disiapkan semua reagen, standard dan sampel pada suhu kamar sebelum digunakan. Kemudian dimasukkan 50 μ l standard ke dalam well standard. Selanjutnya dimasukkan 40 μ l sampel ke dalam well sampel dan ditambahkan 10 μ l antibodi anti-PROG ke well sampel. Setelah itu, ditambahkan 50 μ l streptavidin-HRP kedalam masing-masing well sampel dan standard, di homogenkan, well ditutup dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Setelah inkubasi, tutup well dibuka dan dicuci menggunakan 0,35 mL wash buffer dengan direndam selama 30 hingga 60 detik sebanyak 5 kali ulangan, pada setiap ulangan well dikeringkan dengan kertas tisu. Kemudian ditambahkan 50 μ l substrate solution A diikuti 50 μ l substrate solution B pada setiap well, well ditutup dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit terhindar dari cahaya. Selanjutnya ditambahkan 50 μ l stop solution pada setiap well dan dilakukan pembacaan nilai optical density (OD) dengan panjang gelombang (λ) 450 nm setelah 10 menit dari penambahan stop solution.

3.6.4 Analisis Data

Analisis data diawali dengan uji normalitas *Kolmogorov – smirnov*. Jika data terdistribusi normal (Sig. > 5 %) dilanjutkan dengan uji homogenitas *Lavene*

statistic. Selanjutnya apabila data memenuhi persyaratan parametrik (homogen, Sig. > 5 %), maka dilakukan uji statistik Analisis Variansi (ANOVA) dengan batas kepercayaan 95 %. Apabila terdapat perbedaan signifikan ($P < 0.05$) kemudian dilakukan uji lanjut.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* Terhadap Kadar Hormon Estrogen

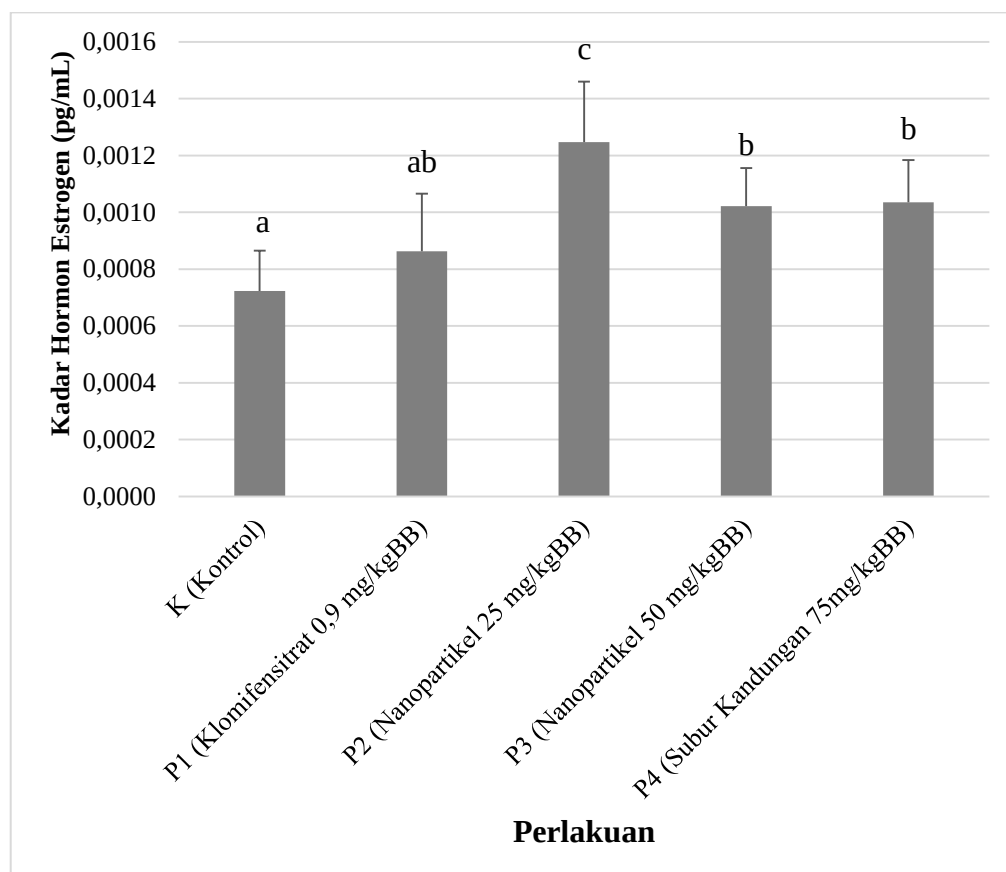
Pemberian perlakuan klomifen sitrat, jamu subur kandungan, dan nanopartikel kombinasi ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* meningkatkan kadar estrogen dibandingkan kontrol. Rerata hasil uji kadar estrogen tersaji dalam tabel 4.1 dimana P2 memiliki kadar estrogen paling tinggi ($1247 \pm 213,34$) diikuti P4 ($1035,33 \pm 148,96$), P3 ($1022,00 \pm 133,94$), P1 ($862,50 \pm 203,41$), dan K ($722,67 \pm 142,77$).

Table 4.1. Rerata hasil pengukuran kadar estrogen mencit dan standar deviasi (pg/mL)

Perlakuan	Rata-rata (pg/mL) $\pm$ SD
K (Kontrol)	$722,67 \pm 142,77$
P1 (Klomifen sitrat 0,9mg/kgBB)	$862,50 \pm 203,41$
P2 (Nanopartikel 25mg/kgBB)	$1247,00 \pm 213,34$
P3 (Nanopartikel 50mg/kgBB)	$1022,00 \pm 133,94$
P4 (Jamu subur kandungan TM 75mg/kgBB)	$1035,33 \pm 148,96$

Analisis statistik terhadap data hasil pengukuran kadar estrogen menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen dengan signifikansi $p > 0.005$ (Lampiran 2). Analisis data dilanjutkan dengan uji ANOVA dan diperoleh nilai signifikansi $p < 0.05$ (Lampiran 2). Hasil ini menunjukkan bahwa H_1 diterima, yang berarti pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A.*

calamus berpengaruh terhadap kadar hormon estrogen. Untuk mengetahui perbedaan pengaruh pada setiap perlakuan, kemudian dilakukan dengan uji lanjut Duncan.



Gambar 4 1 Grafik rerata dan notasi hasil uji Duncan kadar estrogen.

Keterangan: Garis batang menunjukkan rerata $\pm$ standar deviasi kadar estrogen.

Hasil analisis data pada uji lanjut Duncan (Gambar 4.1) menunjukkan bahwa P2 (nanopartikel 25mg/kgBB) dengan rerata kadar estrogen paling tinggi memiliki perbedaan signifikan terhadap kontrol dan perlakuan lainnya. Studi yang dilakukan oleh Muchtaromah *et al.* (2020) terhadap kombinasi ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* dosis 50mg/kgBB dapat meningkatkan kadar estrogen

tikus. Kandungan fitokimia pada polih herbal yang digunakan pada penelitian ini memiliki aktifitas estrogenik yang berperan sebagai fitoestrogen. Hui dan Shaw (2019) menjelaskan bahwa interaksi fitoestrogen dari flavonoid terhadap reseptor estrogen memberikan efek estrogenik meskipun memiliki afinitas berbeda-beda yang dipengaruhi oleh struktur dari ligannya.

Variasi dosis dari pemberian nanopartikel pada P2 dan P3 juga menunjukkan perbedaan signifikan. Namun, pemberian perlakuan P3 (nanopartikel 50mg/kgBB) dan P4 (jamu subur kandunganTM 75mg/kgBB) tidak berbeda signifikan meskipun rerata P3 lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis dalam penelitian yang dilakukan untuk meningkatkan efikasi jamu subur kandungan melalui aplikasi nanopartikel agar dosis yang digunakan lebih sedikit telah terpenuhi.

Mitchell *et al.* (2020) menyatakan bahwa aplikasi nanopartikel sebagai sistem pengiriman obat mampu meningkatkan kemanjuran obat dengan mengatasi hambatan sistemik dan mempermudah penyerapan. Singh (2016) menambahkan bahwa penggunaan kitosan sebagai polimer nanopartikel mampu meningkatkan mukoadhesifitas penyerapan obat secara gastrointestinal sehingga kinerja terapeutik obat lebih baik. Menurut Mohammed *et al.*, (2017) nanopartikel mukoadhesif dapat menempel pada mukus intestinum dan melepaskan obat secara periodik sehingga mengurangi frekuensi pemberian dosis. Raja *et al.* (2021) melaporkan bahwa pemberian nanopartikel cucumin terhadap model tikus dengan polycystic ovary syndrome (PCOS) memiliki potensi yang lebih baik dalam mengelola kadar hormon gonad dibandingkan dengan ekstrak kasar.

Kadar estrogen pada perlakuan P1 (klomifen sitrat 0,9mg/kgBB) paling rendah diantara perlakuan lainnya dan tidak berbeda signifikan dengan dengan kontrol. Penelitian yang dilakukan Atashpour *et al.* (2017) juga menemukan bahwa efikasi ekstrak jahe lebih tinggi dalam meningkatkan kadar estrogen dibandingkan klomifen sitrat pada tikus. Menurut Diergaarde dan Kurta (2014) penggunaan klomifen sitrat untuk meningkatkan fertilitas melalui induksi ovulasi dalam jangka waktu tertentu memiliki efek samping kanker ovarium.

Menurut Fuentes dan Silveyra (2019) fitoestrogen beredar dalam aliran darah berikatan dengan protein ligan atau dalam bentuk bebas. Fitoestrogen bekerja melalui mekanisme genomik dengan berikatan langsung pada DNA didalam nukleus untuk memberikan efek estrogenik (Menazza,dan Murphy, 2017). Selanjutnya, fitoestrogen menembus membran nukleus untuk berikatan secara langsung dengan estrogen reseptor (ER) (Lusiana, 2017). Lecomte *et al.* (2017) menyatakan bahwa pengikatan langsung ER ke kromatin terjadi pada elemen responsif estrogen (ERE), sehingga menginduksi pembentukan protein untuk pembelahan sel. Proses transkripsi gen pada kompleks reseptor fitoestrogen selanjutnya dimodulasi oleh coregulator. Coregulator terdiri dari koaktivator dan korepresor spesifik yang mempengaruhi proses ekspresi gen sehingga dapat menurunkan atau meningkatkan produksi estrogen. Penelitian yang dilakukan Xu *et al* (2020) terhadap mencit yang diberikan ekstrak *Salvia miltiorrhiza* memberikan efek estrogenik dengan merangsang biosintesis estrogen dan meningkatkan ER melalui jalur yang bergantung pada ER-ERE.

Kadar hormon estrogen pada wanita berperan penting terhadap status fertilitasnya. Kadar estrogen berfluktuasi secara sinergis terhadap siklus

reproduksi yang sedang berlangsung. Allah SWT menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukuran dan takaran termasuk didalamnya zat-zat penting yang diperlukan oleh tubuh seperti hormon estrogen. Secara implisit hal ini dijelaskan dalam Al Quran surat Ar Ra'ad ayat 8:

اللَّهُ يَعْلَمُ مَا تَحْمِلُ كُلُّ أُنْثَىٰ وَمَا تَغِيصُ الْأَرْحَامُ وَمَا تَزْدَادُ وَكُلُّ شَيْءٍ عِنْدَهُ بِمِقْدَارٍ ﴿٨﴾

Artinya: “Allah mengetahui apa yang dikandung oleh Setiap perempuan, dan kandungan rahim yang kurang sempurna dan yang bertambah. dan segala sesuatu pada sisi-Nya ada ukurannya” (Q.S Ar Ra'ad [13] : 8).

Menurut Abdurrahman (2006) dalam tafsirnya, Allah memberitahukan bahwa cakupan ilmu, pengetahuan, dan kekuasaan meliputi segala sesuatu, dalam ayat ini Allah mengetahui kandungan rahim wanita yang mengalami perkembangan pada proses besarnya janin maupun kerusakan yang terjadi didalamnya. Shihab (2002) dalam tafsirnya menjelaskan bahwa dalam redaksi “pada sisi-Nya ada ukurannya” membuktikan kekuasaan Allah yang diuraikan sebagai keluasan ilmu-Nya terhadap ciptaan Allah secara teliti, baik dalam kualitas, kuantitas, maupun kadar, waktu dan tempatnya. Makna ayat ini dikaitkan dengan kadar hormon estrogen dalam tubuh yang memiliki kadar tertentu.

Keseimbangan kadar hormon reproduksi didalam tubuh berpengaruh penting dalam kemampuan reproduksi untuk menghasilkan keturunan. Selain itu, hormon estrogen juga berperan penting dalam proses fisiologis lainnya. Menurut Ikeda *et al.* (2019) estrogen juga berbagai peran penting dalam kesehatan tulang, imunitas, kardiovaskular, dan sistem saraf pusat serta metabolisme. Oleh karenanya, salah satu upaya untuk mensyukuri karunia Allah dapat dilakukan dengan senantiasa menjaga kesehatan. Dalam Hadits riwayat Imam Bukhori dari Ibnu Abbas, dia berkata bahwa Nabi Muhammad SAW bersabda:

نِعْمَتَانِ مَعْبُودٌ فِيهِمَا كَثِيرٌ مِنَ النَّاسِ الصَّحَّةُ وَالْفَرَاغُ

Artinya “Dua kenikmatan, kebanyakan manusia tertipu pada keduanya, (yaitu) kesehatan dan waktu luang” (HR Bukhari, No. 5933).

Ibnu Hajar (2000) dalam kitab Syarh al Bukhori menjelaskan bahwa kenikmatan adalah keadaan yang baik untuk dapat melakukan kebaikan. Keadaan tubuh yang sehat memberikan kesempatan yang lebih besar untuk mengerjakan perintah-perintah Allah dan menjauhi larangan-Nya dengan senantiasa selalu bersyukur.

4.2 Pengaruh Nanopartikel Kombinasi Ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* Terhadap Kadar Hormon Progesteron

Pemberian perlakuan nanopartikel kombinasi ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* mampu meningkatkan kadar progesteron dibandingkan kontrol. Sedangkan pemberian kломifen sitrat dan jamu subur kandunganTM justru memiliki kadar progesteron lebih rendah dibandingkan kontrol. Rerata hasil uji kadar estrogen tersaji dalam tabel 4.2 dimana P2 memiliki kadar estrogen paling tinggi ($10,36 \pm 1,19$) diikuti Kontrol ($9,06 \pm 1,44$), P3 ($9,27 \pm 0,96$), P4 ($5,16 \pm 0,82$), dan P1 ($5,16 \pm 0,82$).

Analisis statistik terhadap hasil pengukuran kadar progesteron menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen dengan signifikansi $p > 0.005$ (Lampiran 2). Analisis data dilanjutkan dengan uji ANOVA dan diperoleh nilai signifikansi $p < 0.05$ (Lampiran 2). Hasil ini menunjukkan bahwa H_1 diterima, yang berarti pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* terhadap kadar hormon progesteron. Selanjutnya dilakukan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan pengaruh pada setiap perlakuan.

Table 4.2. Rerata hasil pengukuran kadar progesteron mencit dan standar deviasi (pg/mL)

Perlakuan	Rata-rata $\pm$ Standar Deviasi (ng/mL)
K (Kontrol)	9,06 $\pm$ 1,44
P1 (Klomifen sitrat 0,9mg/kgBB)	5,16 $\pm$ 0,82
P2 (Nanopartikel 25mg/kgBB)	10,36 $\pm$ 1,19
P3 (Nanopartikel 50mg/kgBB)	9,27 $\pm$ 0,96
P4 (Jamu subur kandungan TM 75mg/kgBB)	5,47 $\pm$ 0,83

Hasil uji lanjut Duncan (Gambar 4.2) mengungkapkan bahwa perlakuan nanopartikel (P2 dan P3) tidak memiliki perbedaan signifikan terhadap kontrol tetapi berbeda signifikan dengan P1 dan P4. Namun, pemberian nanopartikel memiliki rerata kadar estrogen lebih tinggi dibandingkan kontrol. Muchtaromah *et al.* (2020) melaporkan bahwa kombinasi ekstark *A. sativum*, *C. mangga*, dan *A. calamus* meningkatkan kadar hormon progesteron tikus. Kandungan flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid dari polih herbal yang digunakan dapat bertindak sebagai senyawa fitoestrogen dan dianggap menyebabkan steroidogenesis di ovarium.

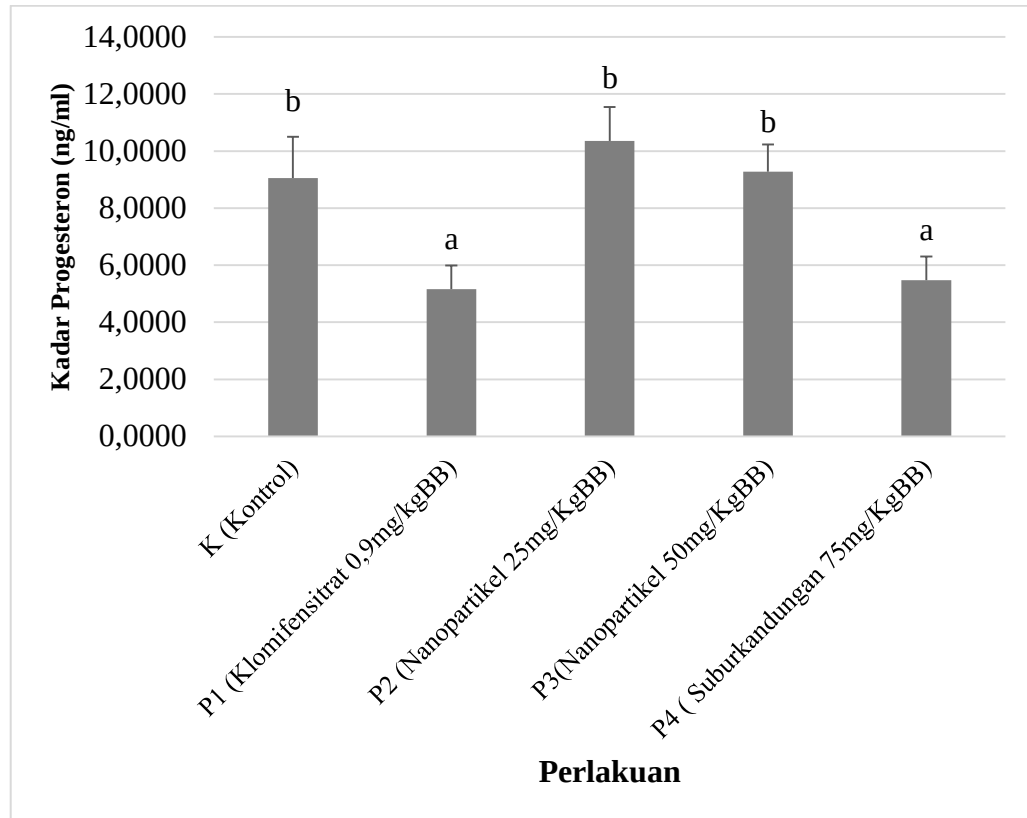
Penggunaan dosis rendah 25 mg/kgBB (P2) dalam studi ini mampu meningkatkan kadar estrogen lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 50 mg/kgBB (P3). Temuan ini menjadi menarik karena penggunaan nanopartikel dalam dosis lebih besar justru menurunkan kadar progesteron. Wang *et al* (2018) menyatakan bahwa perubahan kadar hormon yang lebih tinggi setelah pemberian nanopartikel dipengaruhi ukuran partikel yang mampu menembus barrier biologis.

Mohammed *et al.*, (2017) menjelaskan mekanisme penyerapan obat ke dalam sirkulasi sistemik terjadi melalui pembukaan ikatan di antara tepi sel epitel secara reversibel oleh polimer tertentu, dan kitosan adalah salah satunya. Menurut Ajdary *et al.*, (2018) dosis nanopartikel merupakan faktor penting yang bertanggung jawab atas profil toksisitas sehingga untuk mengurangi efek sampingnya dapat dilakukan dengan modifikasi formulasi dan dosisnya. Yuan *et al.*, (2018) menambahkan profil toksikologi dari nanomedisin juga dipengaruhi oleh akumulasi, distribusi, dan metabolisme dari nanopartikel yang digunakan.

Perlakuan klomifen sitrat 0,9mg/kgBB dan jamu subur kandunganTM 75mg/kgBB tidak berbeda signifikan diantara keduanya. Hal ini menunjukkan bahwa bahan herbal menjadi alternatif potensial untuk mengganti klomifen sitrat. Reddy *et al.* (2016) melaporkan bahwa curcumin dosis 200 mg/kgBB memiliki kadar progesteron yang lebih tinggi dibandingkan klomifen sitrat pada tikus dengan polycystic ovary syndrome.

Senyawa fitoestrogen dapat mempengaruhi kadar progesteron melalui mekanisme umpan balik negatif Gonadotropin Releasing Hormon di hipofisis anterior hipotalamus. Austin *et al.* (2020) menambahkan bahwa fitoestrogen berikatan dengan reseptor progesteron (PR) dalam nukleus dan mempengaruhi transkripsi DNA. Selanjutnya, fitoestrogen mendorong pembentukan faktor transkripsi nukleotida siklik dan proteinkinase, yang pada gilirannya mengontrol ekspresi gen target. Sirotkin dan Harath (2014) menyatakan bahwa fitoestrogen berpotensi mempengaruhi semua proses yang diatur oleh estrogen termasuk globulin pengikat induksi hormon seks dan penghambatan aromatase. Sehingga, sintesis progesterone selanjutnya akan menyebabkan pengurangan jumlah

estrogen (Elsayed *et al.*, 2019). Setelah terjadi lonjakan estrogen saat fase ovulasi, proliferasi sel epitel luminal menurun sehingga sintesis estrogen berkurang.



Gambar 4 2 Grafik rerata dan notasi hasil uji Duncan kadar progesteron.

Keterangan: Garis batang menunjukkan rerata $\pm$ standar deviasi kadar progesteron.

Hormon progesteron dalam tubuh memiliki kadar tertentu untuk mendukung fungsi fisiologis secara optimal. Secara implisit hal ini dijelaskan dalam Al Quran surat Al Furqaan ayat 2:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya: “yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya” (Q.S Al Furqaan [25] : 2).

Abdullah (2006) dalam Tafsir Ibnu Katsir redaksi “*Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya*” dimaknai bahwa segala sesuatu yang berada dibawah kekuasaan-Nya, telah ditetapkan aturan, tatanan dan takdir-Nya. Menurut Shihab (2002) dalam tafsirnya dijelaskan sebagai sifat konstan dan teliti. Dalam hal ini Allah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan tatanan dan hukumnya yang telah diatur agar seimbang untuk kebaikan hidup manusia.

Usaha untuk menjaga keseimbangan hormonal dalam meningkatkan fertilitas dapat dilakukan dengan terapi herbal. Bahan herbal memberikan banyak manfaat untuk kesehatan seperti untuk modulasi hormonal. Diriwatkan dalam hadits Muslim dari Jabir, Rasulullah SAW bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ

Artinya: “Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, maka akan sembuhlah penyakit itu dengan izin Allah” (HR. Muslim, No.4084).

Dalam Syarh Shahih Muslim (An Nawawi, 2010) Ibnu Qayyim menyampaikan bahwa redaksi “setiap penyakit ada obatnya” mengisyaratkan perintah untuk berobat. Berobat sebagai bentuk ikhtiar untuk memperoleh kesembuhan dan menjaga kesehatan.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh pada pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan jeringau (*A. calamus*) terhadap kadar hormon estrogen mencit betina, dengan kadar tertinggi terdapat pada P2 (nanopartikel 25mg/kgBB) dan berbeda signifikan dengan perlakuan lainnya.
2. Terdapat pengaruh pada pemberian nanopartikel kombinasi ekstrak bawang putih (*A. sativum*), temu mangga (*C. mangga*) dan jeringau (*A. calamus*) terhadap kadar hormon progesteron mencit betina, dengan kadar tertinggi terdapat pada P2 (nanopartikel 25mg/kgBB) yang tidak berbeda signifikan dengan P3 (nanopartikel 50 mg/kgBB) dan Kontrol.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah perlunya studi lanjutan terkait toksisitas nanopartikel polih herbal terhadap profil reproduksi mencit sehingga dapat digunakan dalam pengobatan secara aman.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Bin Muhammad. 2008. Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'i.
- Abdullah, Bin Muhammad. 2008. Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'i.
- Abdurrahman, asy Syaikh bin Nashir as-Sa'di, 2006. Taisir al-Karimir Rahman Fi Tafsiri Kalamil Mannan Vol.5. Beirut: Mu'asasah ar-Risalah.
- Ahmad, Mujahidin. 2015. Skrining Aktivitas Antioksidan Jamu Subur Kandungan Komersial. *El-Hayah*. Vol. 5. No.2 : 89 – 95.
- Ajdary M, Moosavi M A, Rahmati M, Falahati M, Mahboubi M, Mandegary A, Jangjoo S, Mohammadinejad R, dan Varma R. 2018. Health Concerns of Various Nanoparticles: A Review of Their in Vitro and in Vivo Toxicity. *Nanomaterials*.
- Akbar, Shahid. 2020. *Handbook of 200 Medicinal Plants: A Comprehensive Review of Their Traditional Medical Uses and Scientific Justifications*. Switzerland: Springer Nature.
- Al Asqolani, Ibnu Hajar. 2000. *Fath al Bari bi Syarh Sahih al Bukhari* juz 8. Qohiroh: Dar at Taqwa,
- Alam M K, Hoq M O, dan Uddi M S. 2016. Medicinal plant Allium sativum : A Review. *Journal of Medicinal Plants Studies*. Vol. 4 No.6 : 72-79.
- Alamgir, A N M. 2018. *Therapeutic Use of Medicinal Plants and their Extracts Volume 1: Medicinal, Non-medicinal, Biopesticides, Color- and Dye-Yielding Plants; Secondary Metabolites and Drug Principles; Significance of Medicinal Plants; Use of Medicinal Plants in the Systems of Traditional and Complementary and Alternative Medicines (CAMs)*. Springer : 61-44.
- Al-Bukhari, Muhammad bin Ismail. 1992. *Shahih al-Bukhari*. Dar al-Kutub al-Ilmiyah.
- Albuquerquea B R, Prieto M A, Barreirod M F, Rodriguese A, Curranf T P, Barrosa L, dan Ferreira I C F R. 2016. Catechin-Based Extract Optimization Obtained From *Arbutus Unedo* L. Fruits Using Maceration/Microwave/ Ultrasound Extraction Techniques. *Industrial Crops and Products*.
- Ałtyn I, dan Twaruzek M. 2020. Mycotoxin Contamination Concerns of Herbs and Medicinal Plants. *Toxins*. Vol. 12. No. 182 : 1 -12.
- APG III. 2003. An Update Of The Angiospermphylogeny Group Classification For The Orders And Families Of Floweringplants: *Botanical Journal of the Linnean Society*141: 399-436
- Ardila A, Chairani I, Nurdianti N, dan Fitriyah N H. 2017. Fabrikasi Nanopartikel Herbal Dalam Tablet Effervescent Menggunakan Metode Solvent Emulsification Diffusion Kombinasi High Speed Homogenizer. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi UMJ* 2017. Vol. 9.
- Aritonang T R, Rahayu S, Sirait L I, Karo B R , Simanjuntak T P, Natzir R, Sinrang A W, Massi M N, Hatta M, dan Kamelia E. 2017. The Role of FSH, LH, Estradiol and Progesterone Hormone on Estrus Cycle of Female

- Rats. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*. Vol. 35. No. 1 : 92-100.
- Atashpour S, Jahromi H K, Jahromi Z K, dan Maleknasa M. 2017. Comparison Of The Effects Of Ginger Extract With Clomiphene Citrate On Sex Hormones In Rats With Polycystic Ovarian Syndrome. *Int J Reprod BioMed*. Vol. 15. No. 9 : 561-568.
- Austin O A, Busayo O dan Afolayan. 2020. Progesterone Improve Streptozotocin-Induced Prefrontal Nissl Substance Deficit. *J Anat*. Vol. 7. No.1: 1092.
- Chairunnisa S, Wartini N M, dan Suhendra L. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. Vol. 7. No. 4 : 551-560.
- Charu M, Manish G, dan Narayan G L. 2019. Nanotechnology: Emerging Platform for Drug Based Delivery System in Cancer. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. Vol. 9. No. 4 : 744-749.
- Chiu Y, Chavarro J E, dan Souter I. 2018. Diet and Female Fertility: Doctor, What Should I Eat?. *Fertility and Sterility*. Vol. 110. No.4 : 560-569.
- Dave V, Tak K, Sohgaure A, Gupta A, Sadhu V, dan Reddy K R. 2019. Lipid-polymer hybrid nanoparticles: Synthesis Strategies and Biomedical Applications. *Journal of Microbiological Methods*. Vol. 160 : 130–142.
- Diergaarde, B., & Kurta, M. L. 2014. Use of Fertility Drugs and Risk of Ovarian Cancer. *Current Opinion In Obstetrics & Gynecology*. Vol. 26. No.3 : 125–129.
- Elfahmi, Woerdenbag H J, dan Kayser O. 2014. Jamu: Indonesian Traditional Herbal Medicinetowards Rational Phytopharmacological Use. *Journal Herbal Med*. Vol.69.
- Elsayed D H, Abdelrazek H M A, Eltamany D A, Ebaid H M, dan El-Nahla, A. M. 2019. Effect of Soy Isoflavones on Implantation Losses in Wistar Rat: Implication of Progesterone Receptors, Vascular Endothelial Growth Factor and Estradiol Receptors Alpha. *Iranian Journal of Veterinary Research*. Vol. 21, No. 1: 46-51.
- Farahbod S, dan Soureshjani S H. 2018. Medicinal Herbs Affecting Gonadotropin Hormones in Women: An Updated Systematic Review. *International Journal of Life Science and Pharma Research*. Vol. 8. No. 1.
- Fuentes N, dan Silveyra P. 2017. Estrogen Receptor Signaling Mechanisms. *Adv Protein Chem Str*. Vol.116 :135-70.
- Gadalla M A, Huang S, Wang R, Norman R J, Abdullah S A, El Saman A M, Ismail A. M, Wely M V, dan Mol B W J. 2018. Effect of Clomiphene Citrate on Endometrial Thickness, Ovulation, Pregnancy And Live Birth in Anovulatory Women: Systematic Review and Meta-Analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* . Vol. 51 : 64–76.
- Gajbhiye R, Fung J N, dan Montgomery G W. 2018. Complex Genetics of Female Fertility. *Genomic Medicine*. Vol. 3. No. 29 : 1 -12.
- Galloa M, Formato A, Ianniello D, Andolfic A, Contec E, Ciaravoloc M, Varchetta V, dan Naviglio D. 2017. Supercritical Fluid Extraction of Pyrethrins from Pyrethrum Flowers (*Chrysanthemum cinerariifolium*) Compared to Traditional Macerationand Cyclic Pressurization Extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*. Vol. 119 : 104–112.

- Garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*. Vol. 8. No. 246: 1-31.
- Guyton A C, dan Hall J E. *Textbook of Medical Physiology edisi 13*. Philadelphia: Elsevier Inc.
- Hadley ME. 2000. *Endocrinology*. Ed. Ke-5. New Jersey: Prentice-Hall, Inc
- Hansen F A A, dan Pedersen-Bjergaard S. 2019. Emerging Extraction Strategies in Analytical Chemistry. *Analytical Chemistry*.
- Hassan E, Kahilo K, Kamal T, Hassan M, Saleh Elgawish M S. 2019. The Protective Effect of Epigallocatechin-3-Gallate on Testicular Oxidative Stress in Lead-Induced Toxicity Mediated by Cyp19 Gene / Estradiol Level. *Toxicology*. Vol. 422 : 76–83
- Hui dan Shaw. 2019. Food Flavonoid Ligand Structure/Estrogen Receptor-A Affinity Relationships - Toxicity or Food Functionality?. *Food Chem Toxicol*. Vol. 129 : 328-336.
- Husna F, Suyatna F D, Arozal W, dan Purwaningsih E H. 2019. Model Hewan Coba pada Penelitian Diabetes. *Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 6. No.3 : 131 – 141.
- Ikeda K, Horie-Inoue K, dan Inoue S. 2019. Functions of Estrogen and Estrogen Receptor Signaling on Skeletal Muscle. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. Vol.7
- Isrianto P L, and Tania P O A. 2019. Antioxidant Activity In Combination Extract of *Acorus Calamus* L. (Dlingu) and *Allium Sativum* (Garlic). *International Journal of Applied Biology*. Vol. 3 No. 1.
- Jeevanandam J, Barhoum A, Chan Y S, Dufresne A, dan Danquah M K. 2018. Review on Nanoparticles and Nanostructured Materials: History, Sources, Toxicity and Regulations. *Beilstein J. Nanotechnol*. Vol. 9 : 1050–1074.
- Jonak C R, Lainez N M, Boehm U, dan Coss D. 2018. GnRH Receptor Expression and Reproductive Function Depend on JUN in GnRH Receptor-Expressing Cells. *Endocrinology*. Vol. 159. No.3 : 1496 – 1510.
- Joshi S dan Bahsyal S. 2019. Study On the Chemical Constituents and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Acorus Calamus* L. Rhizomes of Rupendehi District (Nepal). *Journal of Institute of Science and Technology*. Vol. 23 : 57-60.
- Kartini K, Jayani N I E, Octavianti N D, Krisnawan A H, dan Avanti C. 2019. Standardization of Some Indonesian Medicinal Plants Used in Scientific Jamu. *Annual Conference on Environmental Science, Society and its Application*. Vol. 39.
- Kashani L, dan Akhondzadeh S. 2017. Female Infertility and Herbal Medicine. *Journal of Medicinal Plants*. Vol. 16. No. 61.
- Khan M S A, dan Ahmad I. 2019. Chapter 1 - Herbal Medicine: Current Trends and Future Prospects. *Herbal Medicine: Current Trends and Future Prospects. New Look to Phytomedicine*.
- Khourdaji I, Lee H, dan Smit H R P. 2018. Frontiers in Hormone Therapy for Male Infertility. *Transl Androl Urol*. Vol. 7. No. 3 : 353- 366.
- Khawairakpama A D, Damayentia Y D, Deka A, Monisha J Roy N K, Padmavathi G, dan Kunnumakkara A B. 2019. *Acorus Calamus*: A Bio-Reserve of Medicinal Values. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. Vol. 2 : 1 - 16

- Kim S-H, dan Yoon J-T. 2020. Morphological Remodeling in Mouse Uteri Caused by Hormone Hypersecretion-Induced Increase in MMP Activity. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. Vol.8. No.6 : 582-589.
- Kuete, V. 2017. Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases. Chapter 15: *Allium sativum*. Springer : 363-377.
- Kurniasari D, dan Atun S. 2017. Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan. *J. Sains Dasar*. Vol. 6. No. 1 : 31 – 35.
- Lajnah Pentashihan Mushaf al-Qur'an, Badan Litbang dan KemenAg RI dengan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). 2012. Penciptaan Manusia dalam Perspektif al-Qur'an dan Sains. Jakarta: KemenAg RI.
- Lajnah Pentashihan Mushaf al-Qur'an. 2012. Tumbuhan dalam Perspektif al-Qur'an dan Sains. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf al-Qur'an.
- Lammari N, Louaer O, Meniai A H, dan Elaissari A. 2018. Encapsulation of Essential Oils via Nanoprecipitation Process: Overview, Progress, Challenges and Prospects. *Pharmaceutics*. Vol. 12. No.431 : 1 – 21.
- Lecomte S, Demay F, Ferrière F, dan Pakdel F. 2020. Phytochemicals Targeting Estrogen Receptors: Beneficial Rather Than Adverse Effects. *Int. J. Mol. Sci*. Vol. 18. No. 1381.
- Lecomte S, Demay F, Ferrière F, Pakdel F. 2017. Phytochemicals Targeting Estrogen Receptors: Beneficial Rather Than Adverse Effects. *Int J Mol Sci*. Vol. 18. No.7 : 1-19.
- Lidiana H, Sulmartiwi L, dan Andriyono S. 2017. The Effect of Maceration Period on Contents and Color Brightness of Phycoerythrin From *Gracilaria* sp. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci*. Vol. 37.
- Lim T K. 2016. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants Vol.12*. Switzerland: Springer International Publishing.
- Lodh S dan Swamy M K. 2019. Phytochemical Aspects of Medicinal Plants of Northeast India to Improve the Gynaecological Disorders: An Update. *Natural Bio-active Compounds*.
- Mbemyaa G T, Vieiraa L A, Canafistulaa F G, Pessoaab O D L, Rodriguesa A P R. 2017. Reports on In Vivo And In Vitro Contribution of Medicinal Plants to Improve the Female Reproductive Function. *Reprodução and Climatério*. Vol. 32. No. 2 : 109–119.
- McIlwraith E K, dan Belsham D D. 2020. Hypothalamic Reproductive Neurons Communicate Through Signal Transduction to Control Reproduction. *Molecular and Cellular Endocrinology*. Vol. 518.
- Menazza S, dan Murphy E. 2016. The Expanding Complexity of Estrogen Receptor Signaling in the Cardiovascular System. *Circulation Research*. Vol. 16.
- Miras-Moreno B, Sabater-Jara A B, Pedreño M A, dan Almagro L. 2016. Bioactivity of Phytosterols and Their Production in Plant in Vitro Cultures. *J. Agric. Food Chem*. Vol. 64. No.38 : 7049–7058.
- Mitchell M J, Billingsley M M , Haley RbM. 2021. Engineering Precision Nanoparticles For Drug Delivery. *Nat Rev Drug Discov*. Vol. 20 : 101–124.

- Mohammed M A, Jaweria T M, Syeda, Wasan M K, dan Wasan E K. 2017. An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its Application in Non-Parenteral Drug Delivery. *Pharmaceutics*. Vol. 9. No. 53.
- Moulia M N, Syarief R, Iriani E S, Kusumaningrum H D dan Suyatma N E. 2018. Antimikroba Ekstrak Bawang Putih. *Pangan*. Vol. 27 No. 1 : 55 – 66.
- Muchtaromah B, Muti'ah R, Yusmalasari D R, Mardiyana P, Sharmin T, Fadholly A. 2020. Efficacy of *Allium sativum*, *Curcuma mangga* and *Acorus calamus* Extract Combination on Rat Fertility. *Pharmacogn J*. Vol.12. No.1 :197-203
- Muchtaromah B, Wahyudi D, Ahmad M, dan Annisa R. 2020. Nanoparticle Characterization of *Allium sativum*, *Curcuma mangga* and *Acorus calamus* as a Basic of Nanotechnology on Jamu Subur Kandungan Madura. *Pharmacogn J*. Vol. 12. No.5 : 1152-1159
- Muchtaromah, B, Ahmad, M., Romaidi, R., Nazilah, L. A., & Naja, N. A. 2018. Antibacterial activity of water and ethanol extract of *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, and *Acorus calamus* combination. *Berkala Penelitian Hayati*, 24(1), 8-15
- Muchtaromah, B., dkk. 2019. Pengembangan Jamu “Subur Kandungan Madura” Berbasis Nanoteknologi (Suatu Upaya Saintifikasi Jamu Traditional Indonesia). *Laporan Penelitian*. LP2M, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Muliani H. 2011. Pertumbuhan Mencit (*Mus Musculus* L.) Setelah Pemberian Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Vol. 19. No. 1.
- Musavi H, Tabnak M, Sheini F A, Bezvan M H, Amidi F, Mojtaba, dan Abbasi. 2018. Effect Of Garlic (*Allium sativum*) on Male Fertility: A Systematic Review. *J Herbmed Pharmacol*. Vol. 7. No.4 : 306-312.
- Muslim, I. 1993. Shahih Muslim. Beirut: Dar al-Fikr
- Nair A, Chattopadhyay D dan Saha B. 2019. *New Look to Phytomedicine Chapter 17: Plant-Derived Immunomodulators*. Elsevier Inc : 458 – 459.
- Nikalje, A P. 2015. Nanotechnology and its Applications in Medicine. *Medicinal Chemistry*. Vol. 5. No. 2 : 81 – 89.
- Ningsih N, Yasni S, dan Yuliani S. 2017. Sintesis nanopartikel Ekstrak Kulit Manggis Merah dan Kajian Sifat Fungsional Produk Enkapsulasinya. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 28. No. 1 : 27 - 35
- Niringiyumukiza J D, Cai H, dan Xiang W. 2018. Prostaglandin E2 Involvement In Mammalian Female Fertility: Ovulation, Fertilization, Embryo Development and Early Implantation. *Reproductive Biology and Endocrinology*. Vol. 16. No.43.
- Nugroho, R A. 2018. *Mengenal Mencit sebagai Hewan Laboratorium*. Samarinda: Mulawarman University Press.
- Oluwasola A, Olayaki L A, Ayinde T O. 2019. Effects of Melatonin on Estrous Cycle Changes Induced by Ethanolic Extract of *Cannabis sativa* in Female Wistar Rats. *Society for Experimental Biology of Nigeria*. Vol. 19. No. 2.
- Pakki E, Sumarheni, Aisyah F, Ismail, Safirahidzni S. 2016. Formulasi Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl)

- Merr) dengan Variasi Konsentrasi Kitosan-Tripolifosfat (TPP). *J. Trop. Pharm. Chem.* Vol. 3. No.4 : 15-19
- Patil R M, Thorat N D, Shetec P B, Bedged P A, Gavde S, Joshid M G, Tofail S A M, dan Bohara R A. 2018. Comprehensive Cytotoxicity Studies of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Author Links Open Overlay Panel. *Biochemistry and Biophysics Reports*. Vol. 13 : 63-72.
- Perlman, R L. 2016. Mouse Models f Human Disease: An Evolutionary Perspective. *Evolution, Medicine, and Public Health*.
- Petropoulos S A, Fernandes A, Ntatsi G, Petrotos K, Barros L, dan Ferreira I C F R. 2018. Nutritional Value, Chemical Characterization and Bulb Morphology of Greek Garlic Landraces. *Molecules*. Vol.23. No. 319 : 1 – 14.
- Poole C, Mester Z, Miró M, Pedersen-Bjergaard S, dan Pawliszyn J. 2016. Glossary of terms used in extraction (IUPAC Recommendations 2016). *Pure Appl. Chem.* Vol. 88. No. 5 : 517–558.
- Raja M A, Maldonado M, Chen J, Zhong Y, dan Gu J. 2018. Development and Evaluation of Curcumin Encapsulated Self-assembled Nanoparticles as Potential Remedial Treatment for PCOS in a Female Rat Model. *International Journal of Nanomedicine*. Vol. 16 : 101-1025.
- Ramsden, Jeremy. 2011. *Nanotechnology: An Introduction*. Oxford: Elsevier Inc.
- Ranjan A, Jain P, Singh B, Singh P, dan Sharma D P. 2016. Acorus Calamus L.: An Insight Review of Botany, Chemistry, Medicinal Uses and Cultural Practice. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*. Vol. 6. No. 3 : 1027-104.
- Rattan S, Zhou C, Chiang C, Mahalingam S, Brehm E, dan Flaws J A. 2017. Exposure to Endocrine Disruptors During Adulthood: Consequences for Female Fertility. *Endocrine Disruptors and Female Fertility*. Vol. 233. No. 3 : 109 – 129.
- Reddy S, Begum N, Mutha S, Baksh V. 2016. Beneficial Effect of Curcumin in Letrozole Induced Polycystic Ovary Syndrome. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. Vol. 5. No 2 : 116-122.
- Ridwan, Endy. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. *J Indon Med Assoc*. Vol. 63. No.3 : 112 – 116.
- Rohman A, Widodo H, Lukitaningsih E, Rafi M, Nurrulhidayah A F, dan Windarsih A. Review on In Vitro Antioxidant Activities of Curcuma Species Commonly Used as Herbal Components in Indonesia. *Food Research*. Vol. 4. No. 2 : 286 – 293.
- Sachan A K, dan Gupta A. 2015. A Review on Nanotized Herbal Drugs. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 6. No.3 : 961-970.
- Saifudin A, Usia T, AbLallo S, Morita H, Tanaka K, dan Tezuka Y. 2016. Potent Water Extracts of Indonesian Medicinal Plants Against PTP1B. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol. 6. No. 1 : 38–43.
- Saikia C, Gogoi P, dan Maji T K. 2015. Chitosan: A Promising Biopolymer in Drug Delivery Applications. *Molecular and Genetic Medicine*.
- Satyral P, Paudel P, Poudel A, Dosoky N S, Moriarity D M, Vogler B, dan Setzer W N. 2013. Chemical Compositions, Phytotoxicity, and Biological

- Activities of Acorus Calamus Essential Oils from Nepal. *Natural Product Communications*. Vol. 8. No. 8 : 1179 – 1181.
- Sèdes L, Thirouard L, Maqdasy S, Garcia M, Caira F, Lobaccaro J A, Beaudoin C, dan Volle D H. 2018. Cholesterol: A Gatekeeper of Male Fertility?. *Frontiers in Endocrinology*. Vol. 9. No. 369 : 1 – 12.
- Seleema D, Ramiro V P, dan Murata M. 2017. Review of flavonoids: A Diverse Group of Natural Compounds with Anti-Candida Albicans Activity In Vitro. *Archives of Oral Biology*. Vol. 76 : 76 -83.
- Shabanian S, Bahmani M, Asadi-Samani M. 2016. The Medicinal Plants Effective on Female Hormones: A Review of the Native Medicinal Plants of Iran Effective on Estrogen, Progesterone, and Prolactin. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 9 No. 3 : 1270 – 1276.
- Shang A, Cao S, 1, Xu X, Gan R Y, Tang G, Corke H, Mavumengwana V, dan Li H. 2019. Bioactive Compounds and Biological Functions of
- Sharma V, Sharma R, Gautam D S, Kuca K, Nepovimova E, dan Martins N. 2020. Role of Vacha (*Acorus calamus* Linn.) in Neurological and Metabolic Disorders: Evidence from Ethnopharmacology, Phytochemistry, Pharmacology, and Clinical Study. *Journal of Clinical Medicine*. Vol. 9. No. 1276 : 1-45
- Shihab M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Jilid 6*. Jakarta: Lentera Hati
- Shihab M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Jilid 9* Jakarta: Lentera Hati
- Shihab M. Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Jilid 3*. Jakarta: Lentera Hati
- Shihab M. Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Jilid 7*. Jakarta: Lentera Hati
- Silvestris E, Lovero D, dan Palmirotto R. 2019. Nutrition and Female Fertility: An Interdependent Correlation. *Front. Endocrinol.*
- Singh, Ashok K. 2016. Nanoparticle Pharmacokinetics and Toxicokinetics. *Engineered Nanoparticles*.
- Sirotkin A V, dan Harrath A H. 2014. Phytoestrogens and Their Effects. *European Journal of Pharmacology*. :230–236
- Stamatiades G A, Carroll R S, dan Kaiser U B. 2019. GnRH: A Key Regulator of FSH. *Endocrinology*. Vol. 160. No.1 : 57–67.
- Sumaiyah, Masfria, Rusdi I Y, Dalimunthe A. 2018. The Preparation and Characterization of Ethanol Extract Nanoparticle from *Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott. Leaves by using Arabic Gum and Dextrin. *J Young Pharm*. Vol. 10. No.2 :84-86.
- Suprihatin T, Widyarti S, Rifa'i M, Rahayu S. 2020. Malondialdehyde (MDA) Ovary and Estradiol Blood Serum Levels of Premenopause White Rat (*Rattus norvegicus*) after Turmeric Powder (*Curcuma longa* L.) Treatment. *Journal Of Tropical Life Science*. Vol. 9. No. 3 : 237 – 242
- Szychowski K A, Rybczynska-Tkaczyk K, Gawel-Beben K, Swieca M, Karas M, Jakuczyk A. , Matysiak M, Binduga U E, dan Gminski J. 2018. Characterization of Active Compounds of Different Garlic (*Allium sativum* L.) Cultivars. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*.

- Taheripannah R, Balash F, Anbiaee R, Mahmoodi M, dan Sene A A. 2018. Breast Cancer and Ovulation Induction Treatments. *Clinical Breast Cancer*.
- Tarkowská, D. 2019. Plants are Capable of Synthesizing Animal Steroid Hormones. *Molecules*. Vol. 24. No. 2585 : 1 – 12.
- Tilaar, M dan Widjaja, B T. 2014. *The Power of Jamu*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Tolistiawaty I, Widjaja J, Pamela F P. Sumolang, dan Octaviani. 2014. Gambaran Kesehatan pada Mencit (*Mus musculus*) di Instalasi Hewan Coba. *Jurnal Vektor Penyakit*. Vol. 8 No. 1 : 27 – 32.
- Triantafyllidou O, Sigalosa G, Gkolesb L, Kastoraa S, Vakasc P, Batsioua E, dan Vlahosc N. 2020. The Addition of Clomiphene Citrate to Ovarian Stimulation Protocols for Poor Responders. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*. Vol.251 : 136–140.
- Uddin MS, Sahena Ferdosh S, Akanda M J H, Ghafoor K, Rukshana A H, Ali M E, Kamaruzzaman B Y, Fauzi M B, Hadijah S, Shaarani S, dan Sarker M Z I. 2018. Techniques For The Extraction Of Phytosterols And Their Benefits In Human Health: A Review. *Separation Science and Technology*.
- Urrutiaa M, Grinspon R P, dan Rey R A. 2019. Comparing the Role of Anti-Müllerian Hormone as A Marker of FSH Action in Male and Female Fertility. *Expert Review of Endocrinology and Metabolism*. Vol. No. : 1-11.
- Valsamakis G, Chrousos G, Mastorakos G. 2019. Stress, Female Reproduction and Pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*. Vol. 100 : 48–57. Vol. 68. No. 1.
- Waman A A, Bohraa P, dan Sounderarajan A. 2018. Propagule Size Affects Yield and Quality of Curcuma Mangga Val. Et Zipp.: An Important Medicinal Spice. *Industrial Crops & Products*. Vol. 124 : 36–43.
- Wang Z,C. Michael McGuirk, Andrea d'Aquino, Jarad A. Mason, dan Chad A. Mirkin. 2018. Metal–Organic Framework Nanoparticles. *Advanced Material*. Vol.30. No.37.
- Xi-Dan Z, Dong-Dong S, dan Zhang-Jin Z. 2019. Ameliorative Effects of *Radix rehmanniae* Extract on the Anxiety and Depression-Like Symptoms in Ovariectomized Mice: A Behavioral and Molecular Study. *Phytomedicine*. Vol. 63.
- Xu Y, Chen T, Li X, Qu Y, An J, Zheng H, Zhang Z, dan Lin N. 2017. Salvia Miltiorrhiza Bunge Increases Estrogen Level Without Side Effects on Reproductive Tissues in Immature/Ovariectomized Mice. *Aging*. Vol. 9, No. 1.
- Yuan D, He H, Wu Y, Fan J, dan Cao Y. 2018. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- Yuwono J, Sugiritama W, Mayun G, dan Sumad W J. 2018. Efek Pemberian Ekstrak Ethanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L) terhadap Ketebalan dan Diferensiasi Sel Epitel Vagina Tikus Betina yang Mengalami Ovariectomi di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Periode Oktober-Desember 2017. *E-Jurnal Medika Udayana*. Vol. 5. No. 5 : 203 – 210.

- Zegers-Hochschild F, Adamson G D, Dyer S, Racowsky C, Mouzon J, Sokol R, Rienzi L, Sunde A, Schmidt L, Cooke I D, Simpson J L, dan Poell S. 2017. The International Glossary on Infertility and Fertility Care 2017. *Fertility and Sterility Elsevier*. Vol. 1. No.1: 1-14.
- Zhang Q, Lin L, dan Ye W. 2018. Techniques For Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. *Chinese Medicine*. Vol. 13. No. 20 : 1 – 26.

LAMPIRAN

Lampiran 1. 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 pada ekstrak dosis 50 mg/kgBB. Penelitian ini menggunakan dosis 50 mg/kgBB dan diturunkan dengan interval 25 (25 mg/kgBB). Pemilihan dosis 25 mg/kgBB mengacu hipotesis penelitian bahwa pemberian nanopartikel lebih efektif dibandingkan ekstrak, sehingga dosis yang lebih rendah diharapkan dapat berpengaruh terhadap parameter.

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

a. Perhitungan Dosis 25 mg/kgBB

Dosis Acuan: 25 mg/kgBB

Berat Badan Mencit 20 gr

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

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

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

b. Perhitungan Dosis 50 mg/kgBB

Dosis Acuan: 50 mg/kgBB

Berat Badan Mencit 20 gr

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

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

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

2. Dosis Perlakuan Pemberian Jamu Subur Kandungan

Penentuan dosis jamu subur kandungan ini mengacu pada aturan mium 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 untuk mencit (Laurence, 1964), sehingga diperoleh perhitungan sebagai berikut:

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

$$4000 \text{ mg/kgBB} \times 0,018 = 72 \text{ mg/kgBB},$$

kemudian dibulatkan dengan menaikkan dosis menjadi 75 mg/kgBB

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

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

3. Dosis Perlakuan Pemberian Obat Sintetik Kломifen Sitrat

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

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

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

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

Lampiran 2. Hasil Uji Statistik (SPSS 16)

1. Hasil Uji Kadar Hormon Estrogen

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Estrogen
N		30
Normal Parameters ^a	Mean	9.7790E2
	Std. Deviation	2.40239E2
Most Extreme Differences	Absolute	.088
	Positive	.070
	Negative	-.088
Kolmogorov-Smirnov Z		.485
Asymp. Sig. (2-tailed)		.973

a. Test distribution is Normal.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Estrogen

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.107	4	25	.375

c. Uji One Way Anova

ANOVA

Estrogen

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	936716.533	4	234179.133	7.944	.000
Within Groups	737010.167	25	29480.407		
Total	1673726.700	29			

d. Uji Lanjut Duncan

Estrogen

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Fertil kontrol negatif	6	7.2267E2		
Fertil klomifen sitrat	6	8.6250E2	8.6250E2	
Fertil nanopartikel 50mg/KgBB	6		1.0220E3	
Fertil jamu subur kandungan 75mg/KgBB	6		1.0353E3	
Fertil nanopartikel 25mg/KgBB	6			1.2470E3
Sig.		.171	.111	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

2. Hasil Uji Kadar Hormon Progesteron

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Progesteron
N		30
Normal Parameters ^a	Mean	7.8645
	Std. Deviation	2.38336
Most Extreme Differences	Absolute	.158
	Positive	.126
	Negative	-.158
Kolmogorov-Smirnov Z		.868
Asymp. Sig. (2-tailed)		.439

a. Test distribution is Normal.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Progesteron

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.804	4	25	.534

c. Uji One Way Anova

ANOVA

Progesteron

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	135.881	4	33.970	29.436	.000
Within Groups	28.851	25	1.154		
Total	164.732	29			

d. Uji Lanjut Duncan

Progesteron

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Klomifen sitrat	6	5.1648	
Jamu subur kandungan 75mg/KgBB	6	5.4695	
Kontrol	6		9.0578
Nanopartikel 50mg/KgBB	6		9.2732
Nanopartikel 25mg/KgBB	6		10.3573
Sig.		.628	.057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

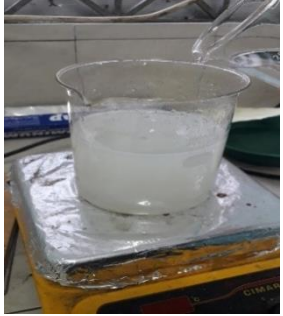
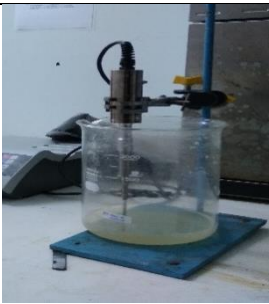
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

1. Tahap ekstraksi

		
Penimbangan simplisia kombinasi <i>A. sativum</i>, <i>C. mangga</i> dan <i>A. calamus</i>	Ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 70%	Penyaringan untuk mendapatkan maserat
		
Pemekatan ekstrak menggunakan Rotary Evaporator	Ekstrak pekat	Penyimpanan ekstrak

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

		
Penimbangan ekstrak	Penimbangan kitosan	Penimbangan STTP

		
Homogenasi larutan kitosan-STPP 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 15 ml</i>
		
Sentrifugasi	Pemisahan pellet dengan supernatan	Hasil pellet nanopartikel
		
Penumbukan pellet	Hasil serbuk nanopartikel	Penyimpanan dalam freezer

3. Proses Perlakuan dan Pengujian Sampel

 Aklimatisasi dan pemeliharaan mencit	 Penimbangan berat badan mencit	 Induksi PMSG HCG
 Pemberian perlakuan melalui sonde oral	 Proses apus vagina mencit	 Dislokasi mencit
 Pembedahan mencit	 Pengambilan darah melalui jantung	 Pemisahan serum dengan sentrifugasi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI 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 : Qoyin Nadhori
NIM : 16620108
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil/ TA 2021
Pembimbing : Prof. DR. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Judul Skripsi : PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Alium sativum*, *Acorus calamus*,
DAN *Curcuma mangga* TERHADAP KADAR HORMON ESTROGEN DAN PROGESTERON
MENCIT

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	3-2-2020	Judul skripsi dan latar belakang	
2	14-3-2020	Latar belakang	
3	4-5-2020	Latar belakang dan metode	
4	7-5-2020	Metode	
5	20-9-2020	Tinjauan pustaka	
6	15-2-2021	BAB 1, 2, 3	
7	12-11-2021	Tinjauan Pustaka	
8	15-11-2021	Analisis data hasil penelitian	
9	26-11-2021	Analisis data hasil penelitian dan Pembahasan	
10	4-12-2021	Pembahasan	
11	6-12-2021	ACC skripsi	

Malang, Desember 2021

Pembimbing Skripsi

Prof. DR. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
NIP. 1971091920 000 3 2 001

Ketua Program Studi



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



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

PROGRAM STUDI 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 : Qoyin Nadhori
NIM : 16620108
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil/ Genap TA 2021
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc.
Judul Skripsi : PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Alium sativum*, *Acorus calamus*,
DAN *Curcuma mangga* TERHADAP KADAR HORMON ESTROGEN DAN PROGESTERON
MENCIT BETINA

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	16-11-2020	Integrasi latar belakang	
2	5-10-2021	Integrasi tinjauan pustaka	
3	16-11-2021	Integrasi tinjauan pustaka	
4	7-12-2021	Integrasi pembahasan	

Malang, Desember 2021

Pembimbing Agama

Mujahidin Ahmad, M.Sc.
NIP. 19860512 201903 1002

Ketua Program Studi

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



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI 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 : Qoyin Nadhori
 NIM : 16620108
 Judul : PENGARUH NANOPARTIKEL KOMBINASI EKSTRAK *Allium sativum*,
Curcuma mangga DAN *Acorus calamus* TERHADAP KADAR ESTROGEN
 DAN PROGESTERON MENCIT BETINA

No	Tim Cek Plagiasi	Tgl Cek	Skor Plagiasi	TTD
1	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc	Desember 2021	22 %	

Mengetahui,
 Ketua Program Studi Biologi,

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